12ª edición

Brock
Biología de los microorganismos

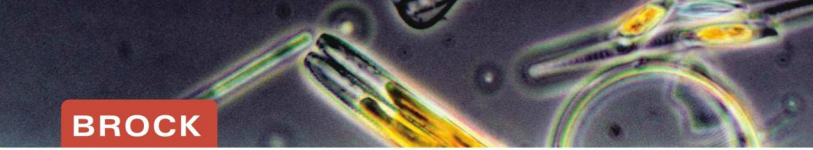
www.librosite.net/madigan

www.medilibros.com

Michael T. Madigan
John M. Martinko
Paul V. Dunlap
David P. Clark

PEARSON
Addison Wesley

www.medilibros.com



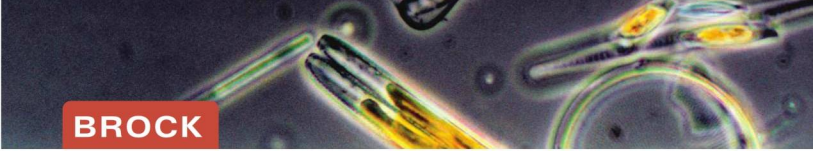
BROCK

Biología de los microorganismos

DUODÉCIMA EDICIÓN

www.medilibros.com

www.medilibros.com



BROCK

Biología de los microorganismos

DUODÉCIMA EDICIÓN

Michael T. Madigan
Southern Illinois University Carbondale

John M. Martinko
Southern Illinois University Carbondale

Paul V. Dunlap
University of Michigan, Ann Arbor

David P. Clark
Southern Illinois University Carbondale

www.medilibros.com

COORDINACIÓN

Ricardo Guerrero
Universidad de Barcelona

TRADUCCIÓN

Coral Barrachina
Traductora científica

Mercedes Berlanga
Universidad de Barcelona

M. Gonzalo Claros Díaz
Universidad de Málaga

Mariano Gacto Fernández
Universidad de Murcia

Cristina García López
Traductora científica

Anna Prats
Filóloga y traductora intérprete

Javier Ruiz Albert
Universidad de Málaga

Alfonso Ruiz-Bravo López
Universidad de Granada

REVISIÓN TÉCNICA

Francisco Ruiz Berraquero
Universidad de Sevilla

PEARSON
Addison Wesley

Madrid • México • Santafé de Bogotá • Buenos Aires • Caracas • Lima
Montevideo • San Juan • San José • Santiago • São Paulo • White Plains

Datos de catalogación bibliográfica

BROCK. BIOLOGÍA DE LOS MICROORGANISMOS
Michael T. Madigan; John M. Martinko;
Paul V. Dunlap; David P. Clark

PEARSON EDUCACIÓN, S.A., 2009
ISBN: 978-84-7829-136-6
Materia: 579, Microbiología

Formato 215 × 270 mm. Páginas: 1296

Todos los derechos reservados.
Cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública o transformación de esta obra sólo puede ser realizada con la autorización de sus titulares, salvo excepción prevista por la ley. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual *(arts. 270 y sgts. Código penal)*.

Diríjase a CEDRO (Centro Español de Derechos Reprográficos: www.cedro.org), si necesita fotocopiar o escanear algún fragmento de esta obra.

© PEARSON EDUCACIÓN, S.A., 2009
Ribera del Loira, 28
28042 Madrid (España)
www.pearsoneducacion.com

ISBN: 978-84-7829-097-0
Depósito Legal:

www.medilibros.com

Authorized translation from the English language edition, entitled BROCK BIOLOGY OF MICROORGANISMS, 12th Edition by MICHAEL MADIGAN; JOHN MARTINKO; PAUL DUNLAP; DAVID CLARK, published by Pearson Education, Inc, publishing as Benjamin Cummings, Copyright © 2009.

All rights reserved. No part of this book may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording or by any information storage retrieval system, without permission from Pearson Education, Inc.

SPANISH language edition published by PEARSON EDUCACION S.A., Copyright © 2009.

Equipo editorial:
Editor: Miguel Martín-Romo
Técnico editorial: Malu Martínez y Esther Martín
Equipo de producción:
Director: José Antonio Clares
Técnico: José Antonio Hernán
Diseño de cubierta: Equipo de diseño de Pearson Educación, S.A.
Composición: COPIBOOK, S.L.
Impreso por:

Nota sobre enlaces a páginas web ajenas: Este libro puede incluir enlaces a sitios web gestionados por terceros y ajenos a PEARSON EDUCACIÓN, S.A. que se incluyen sólo con finalidad informativa. PEARSON EDUCACIÓN, S.A. no asume ningún tipo de responsabilidad por los daños y perjuicios derivados del uso de los datos personales que pueda hacer un tercero encargado del mantenimiento de las páginas web ajenas a PEARSON EDUCACIÓN, S.A.y del funcionamiento, accesibilidad o mantenimiento de los sitios web no gestionados por PEARSON EDUCACIÓN, S.A. Las referencias se proporcionan en el estado en que se encuentran en el momento de publicación sin garantías, expresas o implícitas, sobre la información que se proporcione en ellas.

Impreso en España – *Printed in Spain*

Este libro ha sido impreso con tintas y papel ecológicos

Sobre los autores

Michael T. Madigan se licenció en Biología y educación en 1971 por la Wisconsin State University, en Stevens Point, y obtuvo los grados de máster y doctorado en 1974 y 1976, respectivamente, en el departamento de Bacteriología de la University of Wisconsin, en Madison. Su trabajo de doctorado se centró en el estudio de las bacterias fotótrofas de fuentes termales, bajo la dirección de Thomas D. Brock.

Realizó un posdoctorado de tres años en el departamento de Microbiología de la Indiana University, donde continuó sus trabajos con bacterias fotótrofas con Howard Gest. Posteriormente, se trasladó a la Southern Illinois University, en Carbondale, donde es profesor de Microbiología desde hace 30 años. Ha sido coautor de *Biología de los microorganismos* desde la cuarta edición (1984). Imparte cursos de introducción a la microbiología, diversidad bacteriana y microbiología diagnóstica y aplicada. En 1988 fue seleccionado como docente de excelencia en su universidad, y en 1993 como investigador de excelencia. En 2001 recibió el Premio a la Excelencia Académica de su universidad. En 2003 recibió el Premio Carski a la excelencia en la docencia universitaria, otorgado por la American Society for Microbiology.

Su investigación se ha centrado en las bacterias fotótrofas anoxigénicas, especialmente las que habitan en ambientes extremos. Ha dirigido más de 20 doctorados y másteres. Ha publicado más de 110 artículos de investigación; es coeditor de uno de los principales tratados sobre bacterias fotótrofas; ha sido editor principal de *Archives of Microbiology*, en la actualidad es miembro del consejo editorial de *Environmental Microbiology*.

Entre sus intereses no científicos se incluyen plantar árboles y cuidar a sus perros y caballos. Vive al lado de un lago tranquilo a unos ocho kilómetros del campus con su esposa, Nancy, cuatro perros y tres caballos.

John M. Martinko se licenció en Biología por la Cleveland State University. Como estudiante, participó en un programa especial de educación cooperativa en la que adquirió experiencia investigadora trabajando en varios laboratorios de microbiología e inmunología. Posteriormente, estuvo dos años en la Case Western Reserve University, trabajando en la estructura, serología y epidemiología de *Streptococcus pyogenes*. Realizó su máster y doctorado en microbiología en la State University of New York, en Buffalo (1978), sobre la especificidad e idiotipos de los anticuerpos. Como investigador posdoctoral, estuvo trabajando en el New York Albert Einstein College of Medicine sobre el complejo proteico de histocompatibilidad. Desde 1981, está en el Departamento de Microbiología de la Southern Illinois University Carbondale como profesor y director del programa de grado de biología molecular, microbiología y bioquímica.

Su línea de investigación actual consiste en la modificación de reacciones inmunitarias mediante la inducción de mutaciones en el complejo proteico de histocompatibilidad. Como docente, ha impartido cursos de inmunología a nivel graduado y de licenciatura, y enseña inmunología en cursos de microbiología general y a estudiantes de medicina.

Ha participado activamente en cursos para preuniversitarios y de reciclaje de profesores. En 2007, ganó el Premio a la Excelencia en la Enseñanza otorgado por la Southern Illinois University.

Le entusiasma el golf y el ciclismo. Vive en Carbondale con su mujer, Judy, que es profesora de ciencias de educación secundaria.

Paul V. Dunlap se licenció en Microbiología por la Oregon State University en 1975. Como estudiante, colaboró bajo la dirección de Richard Y. Morita en microbiología marina. Asimismo, fue su ayudante en diversos cursos de microbiología, en los que adquirió experiencia como investigador y como docente. Hasta 1978 fue profesor de inglés en Japón. Al volver a EE. UU., realizó la tesis doctoral (1984) con J.G. Morin en UCLA sobre la ecología y fisiología de la simbiosis de la bioluminiscencia. El postdoctorado lo realizó en Cornell University en Ithaca, Nueva York, bajo la dirección de E.P. Greenberg sobre la regulación genética de la luminiscencia bacteriana.

En 1986 estuvo en la New Mexico State University; en 1989, se trasladó al Departamento de Biología de la Woods Hole Oceanographic Institution, donde trabajó sobre la percepción de quórum y la bioluminiscencia bacteriana. En 1996 estuvo en el Centro de biotecnología marina de la University of Maryland, en Baltimore. En 2001 empezó a trabajar como profesor en el Departamento de Ecología y biología evolutiva de la University of Michigan, en Ann Arbor.

Sus líneas de investigación se han centrado en el estudio de la bioluminiscencia bacteriana, simbiosis, percepción de quórum y evolución microbiana. Como docente, ha impartido clases de microbiología general y diversidad microbiana.

Entre sus aficiones están la investigación en historia familiar y el aikido. Vive en Ann Arbor con su mujer, su hija y su perro.

David P. Clark creció en Croydon, próximo a Londres. Obtuvo una beca para el Christ's College, de Cambridge, donde se licenció en Ciencias naturales, en 1973. En 1977 obtuvo el grado de doctor por la Bristol University. Investigó el efecto de la composición de las envueltas celulares en la entrada de antibióticos en *Escherichia coli*. Como estudiante posdoctoral, estuvo en el laboratorio de John Cronan en la Yale University, y un año después se trasladó junto con todo el grupo a la University of Illinois, en Urbana-Champaign. Durante este tiempo, trabajó en la genética del metabolismo lipídico. En 1981 se trasladó a la Southern Illinois University Carbondale.

Su investigación se ha centrado en el crecimiento bacteriano bajo condiciones anóxicas, haciendo hincapié en las fermentaciones. Ha publicado más de 70 artículos de investigación y ha dirigido 20 tesis doctorales. En 1989, ganó el Premio Extraordinario de Investigación. En 1991, fue profesor visitante invitado por la Royal Society en el Departamento de Biología molecular y biotecnología en la Sheffield University, en Inglaterra. Es autor de dos libros: *Biología molecular: divertida y sencilla* (que está en su tercera edición), y *Biología molecular: entendiendo la revolución genética*.

Es soltero y vive con sus dos gatos.

www.medilibros.com

Dedicatorias

Michael T. Madigan dedica este libro a su mujer, Nancy, su media naranja y el amor de su vida.

John M. Martinko dedica este libro a su mujer, Judy. Cuando se comparte la carga, el peso es más llevadero.

Paul V. Dunlap dedica este libro a R.Y. Morita, en agradecimiento a sus enseñanzas y dirección en la investigación en microbiología marina.

David P. Clark dedica este libro a su padre, Leslie, quien le marcó el camino de leer cuantos más libros, mejor.

Prólogo a la edición en español

Los microorganismos son fuente continua de sorpresas. Su aparente «invisibilidad» contribuye a incrementar nuestro asombro cuando un microorganismo, o su actividad, se hacen patentes por primera vez. Hasta bien avanzado el siglo XVII, la humanidad no sabía cómo ni qué eran, pero, por supuesto, estaba sometida constantemente a las consecuencias de su actividad. Los humanos experimentaban, sin saberlo, tanto los efectos perjudiciales evidentes —las enfermedades infecciosas fueron hasta hace poco la principal causa de mortalidad—, como los beneficiosos inapreciados: fermentación de alimentos, interacciones con la agricultura, degradación. La curiosidad y capacidad de observación de dos personas, Robert Hooke (1635-1703) y Antony van Leeuwenhoek (1632-1723), condujeron hace poco más de 300 años al descubrimiento del universo microbiano.

El siglo XX ha proporcionado a la humanidad gran cantidad de conocimientos, superior al que nuestra especie había acumulado a lo largo de toda su historia. Una de las ciencias que más ha progresado en las últimas décadas ha sido la biología, en general, y la microbiología, en particular. La simple observación de un microorganismo bacteriano al microscopio no es muy reveladora. La mayoría son pequeños bastones o esferas sin ninguna característica distintiva o destacable. Como las células procariotas (bacterias y arqueas) no tienen orgánulos, a diferencia de las células eucariotas, durante años se creyó que el citoplasma procariótico era un simple saco que contenía enzimas, ribosomas y unos pocos tipos de polímeros. Aparte de la gran complejidad intracelular que ahora empezamos a conocer, los procariotas no son organismos pasivos, que simplemente comen lo que tienen alrededor y se multiplican, sino que la célula procariota presenta todas las propiedades que normalmente se identifican con procesos neuronales de los organismos que llamamos «superiores». Los procariotas pueden escoger, discriminar, aprender, adaptarse y comunicarse químicamente con otros individuos de su entorno; a veces, a grandes distancias.

Vivimos en una época de grandes avances en el conocimiento de la genómica y de los procesos vitales de los organismos. En 1995, se secuenció por primera vez el genoma de dos organismos vivos: las bacterias *Haemophilus influenzae* y *Mycoplasma genitalium*. Cuando escribo esto, el número de genomas completos publicados es de 987, de los cuales 58 son de *Archaea*, 825 de *Bacteria* y 104 de *Eukarya*. Además, cada vez que alguien lea este prólogo, el número habrá aumentado considerablemente, ya que el avance en el conocimiento de la estructura génica de los seres vivos es continua e imparable. Por otra parte, también se está investigando cuál será el genoma mínimo que permita a una célula procariota vivir de forma libre y, por tanto, en términos bioquímicos, averiguar cuáles son los requisitos mínimos para la vida. Sin lugar a dudas, en muy pocos años se habrá producido una célula «sintética» en la cual los aproximadamente 300 genes mínimos necesarios hayan sido sintetizados *de novo* triplete a triplete. El estudio de los microorganismos es esencial para entender la vida sobre nuestro planeta. Una lectura atenta del libro *Brock, Biología de los microorganismos*, 12.ª edición, nos prepara para entender el mundo microbiano, qué son y qué hacen.

Este manual tiene cerca de 40 años de historia. En 1970, aún sin acabar la tesis doctoral, traduje la primera edición del libro (entonces prácticamente desconocido) al español. La primera edición en español se publicó en 1972. El español fue la primera lengua a la que se tradujo el original americano. Más tarde, ha sido traducido a multitud de lenguas. Después del éxito de la primera edición, traduje la segunda en 1974. Como homenaje a Thomas D. Brock, el autor original del libro, a partir de la 8.ª edición se incorporó su nombre al título. Los continuos logros de este libro, de referencia para la microbiología en todo el mundo, quedan reflejados en las sucesivas nuevas ediciones cada 3 o 5 años, tanto en inglés como en español, desde hace tiempo bajo la dirección de un brillante continuador de la obra de Brock, Michael T. Madigan.

La (mala) fama de los microorganismos como causantes de enfermedades ha hecho que solamente escuchar su nombre nos asuste. Nadie niega que los microorganismos patógenos han representado y representan una amenaza, tanto para los humanos como para las otras formas de vida. Sin embargo, todos los organismos hemos aprendido a coexistir con los microorganismos, y sabemos que las interacciones más abundantes con los microorganismos no son las patógenas sino las simbióticas. Los microorganismos contribuyen de manera esencial al funcionamiento global del planeta y ayudan al desarrollo sostenible de la biosfera. Nosotros y nuestros congéneres «macrobianos» dependemos de las actividades del mundo invisible microbiano. Su minúsculo tamaño, y su «invisibilidad» a nuestros ojos desnudos, no nos debe hacer olvidar su tremenda importancia en el mantenimiento de la vida. Como profesores, como alumnos, todos los que estudiamos microbiología tenemos la suerte de contemplar los avances de una de las ciencias biológicas más destacadas en el siglo XXI, tal como nos recuerda esta magnífica nueva edición de *Brock, Biología de los microorganismos*, un libro ya clásico que ha contribuido de manera significativa a hacer conocer esos avances.

Ricardo Guerrero
Catedrático de Microbiología, Universidad de Barcelona
Adjunct Professor, University of Massachusetts, Amherst

www.libros.com

Prefacio

Los autores están orgullosos de presentar esta décimosegunda edición de *Biología de los Microorganismos,* un libro que cumple casi 40 años y que nunca ha variado en sus objetivos principales: presentar los principios básicos de la microbiología de un modo claro y apasionante. Esperamos que la duodécima edición de este libro que ya es un clásico, continúe inspirando a nuevas generaciones de microbiólogos para que se dediquen a este campo fascinante.

El estudio de la microbiología actual exige mucho esfuerzo tanto a los estudiantes como a los profesores. Y también presenta dificultades para los autores del libro. El conocimiento más básico es enorme en microbiología, y los autores debemos describir tanto los principios básicos como una cierta cantidad de material explicativo.Por tanto, para mantener la calidad que ha sido característica del libro, y también para no hacerlo inacabablemente extenso, se nos han unido al equipo dos nuevos autores. David Clark, experto en genética bacteriana y biología molecular, autor de dos conocidos libros de texto de biología molecular, ha escrito los capítulos relacionados con esos temas en esta edición. Y Paul Dunlap, experto en sistemática bacteriana y evolución microbiana, es el responsable de los capítulos de evolución y diversidad microbianas. Madigan y Martinko son los autores del resto de capítulos. Junto con nuestro editor, Benjamin Cummings, que sustituyó a Prentice Hall, creemos que hemos producido un libro que tanto estudiantes como profesores encontrarán excitante e interesante.

PRINCIPALES CAMBIOS DE LA 12.ª EDICIÓN

Los docentes que han utilizado este libro se encontrarán cómodos con esta nueva edición. Como es habitual, los capítulos se organizan en módulos numerados, que permiten impartir los cursos de la forma que crean más adecuada. Además, las ayudas al estudiante y las preguntas de repaso son parte integral del texto. Las Minirrevisiones son una herramienta pedagógica que se introduce por primera vez en esta edición. Sirven para refrescar los conocimientos de los estudiantes y comprobar si dominan los principios básicos mientras avanzan por el capítulo. Otra novedad es el Glosario de términos, que resume los conceptos principales de cada capítulo y complementa las preguntas de repaso que integran la parte final de revisión de cada capítulo. Además, como es costumbre, se incluyen un glosario muy completo y un índice analítico.

Todas estas herramientas de aprendizaje se disponen en un diseño nuevo, más espaciado, que permite presentar las figuras y otros materiales de un modo visualmente atractivo. La información escrita se complementa con ilustraciones muy bien diseñadas, tanto en contenido como en calidad de imagen; son muy exactas e instructivas. En esta edición se incluyen cientos de fotografías, muchas de las cuales son nuevas.

La sección Información adicional enriquece el texto con historias divertidas, anecdóticas o curiosidades relacionadas con el tema del capítulo. En esta edición se incluyen nuevos textos, tales como *Crecimiento microbiano en el mundo real: biopelículas* (Capítulo 6); *¿Inventaron los virus el DNA?* (Capítulo 10); *Mimivirus y la evolución de los virus* (Capítulo 19); *La biología sintética y la fotografía bacteriana* (Capítulo 26); *Los probióticos* (Capítulo 28); *SARS como modelo de éxito epidemiológico* (Capítulo 33); *Patógenos especiales y fiebres hemorrágicas víricas* (Capítulo 35); y *Espinacas y* Escherichia coli O157:H7 (Capítulo 37).

Aunque esta edición tiene la misma longitud que la anterior, una cuidadosa redacción por parte de los autores ha permitido añadir algunos capítulos nuevos. El Capítulo 8: Biología molecular de arqueas y eucariotas, describe la biología molecular de las *Archaea* y su relación con las células eucariotas. El Capítulo 12: Ingeniería genética, detalla las herramientas utilizadas en la revolución de la biología molecular. El Capítulo 14: Evolución y sistemática microbiana, ofrece un nuevo enfoque sobre el origen de la vida y la evolución de los microorganismos. El Capítulo 26: Biotecnología, revisa la ciencia básica existente en la revolución biotecnológica y presenta varios ejemplos sorprendentes de los beneficios de la biotecnología en la medicina humana, en la agricultura y en animales. El Capítulo 30: La inmunidad en la defensa del hospedador y en la enfermedad, reúne muchos de los aspectos aplicados de la inmunología y muestra cómo la respuesta inmunitaria nos mantiene sanos. Además de estos nuevos, el resto de capítulos también ha experimentado profundas revisiones y readaptaciones. Los lectores podrán apreciar, en esta nueva edición, el enfoque filogenético en la sistemática tanto de los procariotas como de los eucariotas. Asimismo, se ha ampliado el material de ecología, y se incluyen diversos ejemplos experimentales de simbiois microbianas. El tema de la genómica bacteriana también se ha actualizado intensamente, para reflejar la velocidad y entusiasmo de la investigación en este campo hoy en día.

CAMBIOS EN LOS DISTINTOS CAPÍTULOS

Biología de los microorganismos es un libro de texto de microbiología tanto para el estudiante que comienza como para el investigador experimentado; presenta una mezcla adecuada entre principios básicos y detalles. Los principales temas incluyen los principios generales (estructura/función, metabolismo y crecimiento); biología molecular/genética; evolución y diversidad microbianas;

diversidad metabólica; ecología microbiana; biotecnología y microbiología industrial; control del crecimiento microbiano; inmunología básica y aplicada; y se completa tratando las enfermedades infecciosas organizadas según el modo de transmisión. Además, es el único libro que reconoce la importancia y la biología especial de las *Archaea*.

A continuación, se detallan los principales cambios introducidos en cada capítulo:

Capítulo 1

- Nuevo enfoque sobre la antigüedad y extensión de la vida microbiana y sobre las profesiones en microbiología.
- Mayor información de las contribuciones de Louis Pasteur.

Capítulo 2

- Amplia descripción de los diferentes tipos de microscopios.
- Resumen de la diversidad microbiana.

Capítulo 3

- Principios esenciales de la química celular, haciendo especial hincapié en aquellos aspectos que el alumno debe conocer para entender cómo funciona una célula.

Capítulo 4

- Características distintivas de la estructura celular y función de la célula procariota.

Capítulo 5

- Nueva discusión sobre los elementos químicos de la vida.
- Ampliación de los principios del catabolismo y una visión generalizada de las reacciones anabólicas.
- Introducción de la sección Información adicional: *Los productos de la fermentación por levaduras y el efecto Pasteur*, en la que se unen los conceptos de la fermentación y la respiración.

Capítulo 6

- Extensa cobertura del proceso de división celular, acompañado de nuevos esquemas y fotografías en color.
- Introducción de la sección Información adicional: *Crecimiento microbiano en el mundo real: biopelículas*.

Capítulo 7

- Revisión cuidadosa de los principios esenciales de la biología molecular utilizando como modelo de *Bacteria* a *Escherichia coli*.

Capítulo 8

- Un nuevo capítulo que compara la biología molecular de *Archaea* con la de *Eukarya* y *Bacteria*.
- Nueva sección Información adicional: *Inteínas y empalme de proteínas*.
- El RNA de interferencia (RNAi), a cuya investigación le fue otorgado a Fine y Mello el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 2006.

Capítulo 9

- Actualización de la regulación de la expresión génica, una de las áreas de estudio de gran interés en la microbiología actual.
- Control positivo y negativo; control global; percepción de quórum; regulación génica en *Archaea;* regulación de la esporulación en *Bacillus,* ciclo celular de *Caulobacter*; y regulación basada en el RNA.

Capítulo 10

- Principios generales de la virología y un resumen de la diversidad de los virus.
- Descripción de entidades subvíricas, tales como los priones y viroides.
- Una apasionante sección Información adicional: *¿Inventaron los virus el DNA?*

Capítulo 11

- Capítulo actualizado y mejorado que trata exclusivamente de genética bacteriana: cromosomas y plásmidos, la mutación, e intercambio genético.
- Nuevo estudio del intercambio genético en *Archaea.*

Capítulo 12

- Discusión de los métodos moleculares modernos *in vitro*, clonación molecular, manipulación genética, todo esto reunido en un capítulo previo al que trata de genómica.

Capítulo 13

- Genómica microbiana tal como la conocemos actualmente. Estudio de la función y regulación génica, evolución de los genomas, y el excitante campo de la metagenómica.

Capítulo 14

- Nuevos datos sobre el origen de la vida y la endosimbiosis.
- Información ampliada sobre los aspectos teóricos y analíticos de la evolución molecular y la filogenia microbiana.

www.medilibros.com

Capítulos 15-17

- Diversidad procariota en el contexto filogenético. El Capítulo 15, describe las cinco subdivisiones de proteobacteria; el Capítulo 16, los otros filums de *Bacteria*; el Capítulo 17 es una actualización de la biología de *Archaea*.
- Guía para el lector de la diversidad de *Bacteria* y *Archaea* mediante micrografías y espectaculares fotografías.
- Actualización de todos los nombres según el estándar de nomenclatura.

Capítulo 18

- Actualización de la biología celular y diversidad microbiana en eucariotas.
- Tratamiento filogenético, en vez de taxonómico, de la diversidad microbiana de eucariotas, basado en genes múltiples y análisis de proteínas.

Capítulo 19

- Diversidad vírica desde los bacteriófagos a los virus de plantas y animales, según el mecanismo de replicación.
- Nueva sección Información adicional: *Mimivirus y evolución de los virus*.

Capítulos 20-21

- Estudio de la diversidad metabólica agrupada según el tipo de proceso: Capítulo 20, fototrofia, quimiolitotrofia y biosíntesis; Capítulo 21, catabolismo de los compuestos orgánicos.
- Estudio de nuevos procesos metabólicos, tales como la reducción de protones en la respiración anaeróbica y la oxidación anóxica de hidrocarburos.

Capítulo 22

- Métodos novedosos utilizados en ecología microbiana, en los que se incluyen los filochips, T-RFLP, e isótopos estables.

Capítulo 23

- Principios de la ecología microbiana y descripción de los principales hábitats microbianos.
- Estudio detallado de las biopelículas, en el que se incluyen nuevas fotografías de la formación de biopelículas en *Pseudomonas aeruginosa*.

Capítulo 24

- Ecología microbiana centrada en los ciclos de los nutrientes, biorremediación y simbiosis microbiana con animales y plantas.
- Nuevo ejemplo de simbiosis entre *Aliivibrio* y el calamar.

Capítulo 25

- Fundamento y principales fermentaciones de aplicación comercial.
- Producción de vino.

Capítulo 26

- Biotecnología, haciendo hincapié en los productos en vez de los métodos.
- Plantas y animales transgénicos.
- Nueva sección Información adicional: *Biología artificial y fotografía bacteriana*, en la que se une la investigación básica con la aplicación microbiana.

Capítulo 27

- Una introducción al control del crecimiento microbiano, en particular, los antibióticos y su modo de acción.
- Estudio de la resistencia a los antibióticos y el control de las infecciones.

Capítulo 28

- Actualización de la microbiota humana normal en base a los análisis moleculares de las comunidades microbianas.
- Ampliación de la discusión de los factores de virulencia, usando *Salmonella* como ejemplo; toxinas microbianas y sus mecanismos de actuación.
- Nueva sección Información adicional: *Probióticos*, que responde a la pregunta: ¿los suplementos bacterianos vivos ejercen algún efecto beneficioso?

Capítulos 29-31

- El mundo de la inmunología: Capítulo 29: Principios esenciales de la inmunología, Capítulo 30 (defensas del hospedador y aplicaciones), y Capítulo 31 (mecanismos inmunológicos a nivel molecular). Todos los capítulos son modulares, de manera que el instructor pueda escoger los temas más adecuados para su curso.
- Principales mejoras en las ilustraciones y esquemas en estos capítulos para mejorar la comprensión y que sean más uniformes.

Capítulo 32

- Actualización y mejora de los métodos inmunológicos y moleculares utilizados en el diagnóstico clínico.

Capítulo 33

- Actualización de la pandemia de SIDA y otras enfermedades infecciosas emergentes.
- Una visión rápida del cambio de concepción de la salud pública asociada a la enfermedad y control de las enfermedades.

www.medilibros.com

- Nueva sección Información adicional: *SARS como modelo de éxito epidemiológico*; la vigilancia del SARS sirve de ejemplo para el control de otras enfermedades emergentes de rápida aparición.

Capítulo 34

- Principales enfermedades humanas organizadas por el modo de transmisión.
- Actualización de las enfermedades producidas por estreptococos y estafilococos, y aumento de la resistencia a los antibióticos.
- Más información sobre la gripe y discusión de la posiblidad de una pandemia.
- Se añade una nueva sección sobre la infección humana por el papilomavirus, como ejemplo de enfermedad de transmisión sexual prevenible y que puede conducir a cáncer.

Capítulo 35

- Crónica actualizada de la dispersion del virus del Oeste del Nilo en EE. UU., e implicaciones de la enfermedad de la gripe aviar en la salud humana.
- Una excitante nueva sección Información adicional: *Patógenos especiales y fiebres hemorrágicas víricas*, que presenta el Centro de Control de Enfermedades y Prevención (CDC) donde estudian patógenos sumamente peligrosos.

Capítulo 36

- Información ampliada sobre los métodos de control de la calidad del agua, en el que se incluyen los estándares de la Agencia Estadounidense de Protección Ambiental.

Capítulo 37

- Discusión del procesado aséptico, un nuevo método de conservación de la industria alimentaria.
- Actualización del patógeno de transmisión alimentaria *Salmonella*
- Una nueva sección Información adicional muy oportuna: Espinacas y *Escherichia coli* O157:H7, en el que explica la transmisión de este microorganismo patógeno en los productos alimenticios de origen vegetal y animal.

www.medilibros.com

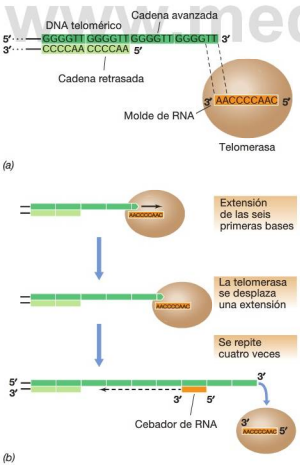
Tres nuevos capítulos en campos que han experimentado un rápido desarrollo

Estos nuevos capítulos se centran en la descripción de la biología molecular de *Archaea* y *Eukarya*, la biotecnología y la ingeniería genética, y la inmunología en la defensa del hospedador y la enfermedad.

CAPÍTULO 8: BIOLOGÍA MOLECULAR DE ARQUEAS Y EUCARIOTAS

La biología molecular ha puesto de manifiesto la clasificación de los seres vivos en tres dominios de la vida (*Bacteria*, *Archaea*, y *Eukarya*) y nos ofrece una visión sin precedentes de la evolución microbiana. Desde el punto de vista molecular, las células de arqueas y las de eucariotas tienen mucho en común. El Capítulo 8 es la primera descripción que se incluye en un libro de texto de microbiología, en el que se compara la biología molecular de estos dos dominios respecto al de *Bacteria* (Capítulo 7). Ambos Capítulos proporcionan al estudiante la información necesaria para entender la microbiología actual y, de este modo, apreciar la ciencia subyacente que se muestra en la figura de los telómeros de los cromosomas eucariotas.

www.medili



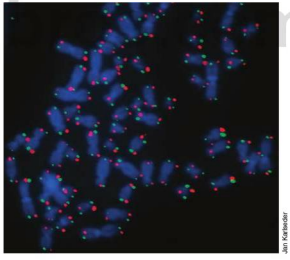
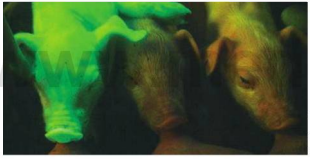


Figura 8.9 **Modelo de la actividad de la telomerasa en un extremo del cromosoma eucariota.** *(a)* Un diagrama de la secuencia terminal del DNA en un telómero, con cuatro secuencias enriquecidas en guaninas y la enzima telomerasa, que contiene una pequeña secuencia molde de RNA. *(b)* Pasos secuenciales de la elongación de la cadena enriquecida en guaninas catalizada por la telomerasa. Cuando la telomerasa acaba, la cadena retrasada puede copiarse con un cebador de RNA mediante la formación del complejo de la cadena retrasada, la DNA polimerasa y la ligasa. *(c)* Una preparación del cromosoma de las células HeLa teñidas con un colorante fluorescente. Los puntos rojos son las cadenas de los telómeros «adelantados» y los puntos verdes son las cadenas de los telómeros retrasados.

CAPÍTULO 26: BIOTECNOLOGÍA

Este nuevo capítulo describe los avances en la biotecnología que han generado una multitud de nuevas herramientas para la biología molecular y la genómica, así como varios productos importantes para la salud humana. La biotecnología ofrece nuevas perspectivas sobre los genes y la expresión génica (*véase* el cerdo fluorescente) y desempeña un papel importante en los alimentos que comemos (*véase* el salmón transgénico).



(a)

(b)

Figura 26.8 **Animales transgénicos.** *(a)* Un cerdito (izquierda) que ha sido modificado genéticamente para que exprese la proteína fluorescente verde, y emite fluorescencia verde al ser expuesto a luz azul. El control de los cerditos se muestra en el centro y derecha. *(b)* Crecimiento rápido del salmón. El *AquAdvantage*™ Salmon (arriba) diseñado por Aqua Bounty Technologies (St. Johns, Newfoundland, Canada). El cerdito y el salmón tienen 18 meses de edad y el peso es de 4,5 kg y 1,2 kg, respectivamente.

CAPÍTULO 30: LA INMUNIDAD EN LA DEFENSA DEL HOSPEDADOR Y EN LA ENFERMEDAD

La inmunología es la principal subdisciplina de la microbiología, pero muchos docentes tienen dificultades para presentar los conceptos clave. Este nuevo capítulo ofrece una visión general de la inmunología, y hace hincapié en los aspectos aplicados que los alumnos deben conocer, tales como las diferentes formas de la respuesta inmunitaria, los principios de la inmunización, y la autoinmunidad. Este capítulo es como unos grandes almacenes, donde el docente podrá encontrar todo aquello que necesita.

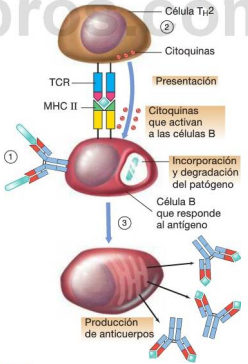


Figura 30.3 **Inmunidad mediada por anticuerpos.** (1) El anticuerpo en las células B, se une al patógeno. La célula B, fagocita, degrada y procesa el patógeno. (2) La célula B presenta el antígeno del patógeno a la célula T_H2, ésta se activa y produce citoquinas que hacen que las células B se transformen en células plasmáticas. (3) Las células plasmáticas producen anticuerpos.

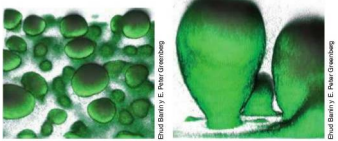
Temas recientes integrados en los capítulos

Estos temas introducen al alumno a los temas más actuales de la microbiología. El número de temas recientes se ha incrementado en esta edición.

La sección Información adicional presenta un material complementario relacionado con el tema central del capítulo.

BIOPELÍCULAS

Las biopelículas se desarrollan cuando las células bacterianas se unen y se desarrollan sobre una superficie. Las biopelículas se han asociado a algunas enfermedades humanas como la fibrosis cística. En los Capítulos 6 y 23 se incluye una extensa información sobre las biopelículas, ilustrada con fotografías espectaculares.

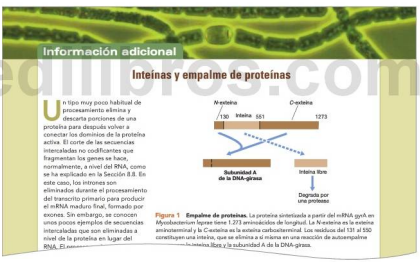


(a) (b)

Figura 23.7 **Biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*.**

INTEÍNAS Y EMPALME DE PROTEÍNAS

El autoempalme de los RNAs (ribozimas) tiene su homólogo en el autoempalme de proteínas (inteínas), las cuales se han encontrado en los tres dominios de la vida. En la sección Información adicional del Capítulo 8, se explican más detalles sobre las inteínas.



Información adicional

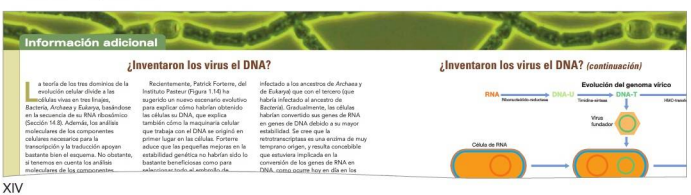
Inteínas y empalme de proteínas

Un tipo muy poco habitual de procesamiento elimina y descarta porciones de una proteína para después volver a conectar los dominios de la proteína activa. El corte de las secuencias intercaladas no codificantes que fragmentan los genes se hace, normalmente, a nivel del RNA, como se ha explicado en la Sección 8.8. En este caso, los intrones son eliminados durante el procesamiento del transcrito primario para producir el mRNA maduro final, formado por exones. Sin embargo, se conocen unos pocos ejemplos de secuencias intercaladas que son eliminadas a nivel de la proteína en lugar del RNA. El extremo

Figura 1 **Empalme de proteínas.** La proteína sintetizada a partir del mRNA gyrA en *Mycobacterium tuberculosis* tiene 1.273 aminoácidos de longitud. La N-extein es la extein aminoterminal y la C-extein es la extein carboxiterminal. Los residuos del 131 al 550 constituyen una inteína, que se elimina a sí misma en una reacción de autoempalme [illegible] y la subunidad A de la DNA-girasa.

¿INVENTARON LOS VIRUS EL DNA?

Las células primitivas podrían haber tenido genomas de RNA. Si es así, ¿qué pasó para que el DNA pasara a ser el material genético de todas las células actuales? Descubra la conexión con los virus en la sección Información adicional del Capítulo 10.



Información adicional

¿Inventaron los virus el DNA?

La teoría de los tres dominios de la evolución celular divide a las células vivas en tres linajes, Bacteria, Archaea y Eukarya, basándose en la secuencia de su RNA ribosómico (Sección 14.8). Además, los análisis moleculares de los componentes celulares necesarios para la transcripción y la traducción apoyan bastante bien el esquema. No obstante, si tenemos en cuenta los análisis moleculares de los componentes

Recientemente, Patrick Forterre, del Instituto Pasteur (Figura 1.14) ha sugerido un nuevo escenario evolutivo para explicar cómo habrían obtenido las células su DNA, que explica también cómo la maquinaria celular que trabaja con el DNA se originó en primer lugar en las células. Forterre aduce que las pequeñas mejoras en la estabilidad genética no habrían sido lo bastante beneficiosas como para seleccionar todo el embrollo de

infectado a los ancestros de Archaea y de Eukarya(el que con el tercero (que habría infectado al ancestro de Bacteria). Gradualmente, las células habrían convertido sus genes de RNA en genes de DNA debido a su mayor estabilidad. Se cree que la retrotranscriptasa es una enzima de muy temprano origen, y resulta concebible que estuviera implicada en la conversión de los genes de RNA en DNA, como ocurre hoy en día en los

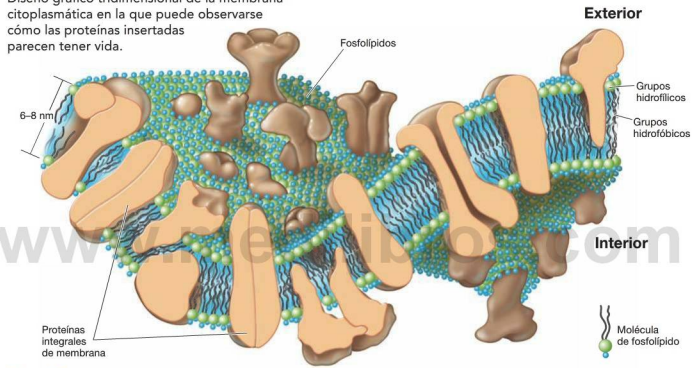
¿Inventaron los virus el DNA? *(continuación)*

Ilustraciones y fotografías excepcionalmente claras

Las ilustraciones y fotografías ofrecen a los estudiantes una visión clara y fascinante del mundo microbiano.

ILUSTRACIONES

Diseño gráfico tridimensional de la membrana citoplasmática en la que puede observarse cómo las proteínas insertadas parecen tener vida.

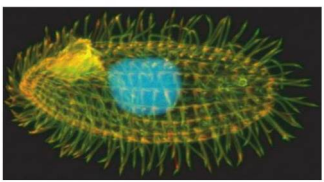


www.elibro.com

Figura 4.5 **Estructura de la membrana citoplasmática.**

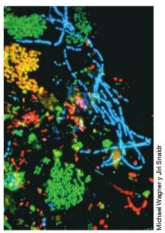
FOTOMICROGRAFÍAS

La mejor fotomicrografía de cualquier texto de microbiología se encuentra en esta edición, ejemplificada por una célula del protista *Tetrahymena* teñida para revelar diferentes estructuras especiales celulares.



Rupal Thatcher y Jacek Gaertig

Figura 18.10 **Tubulina de *Tetrahymena thermophila*.**



Michael Wagner y Jiří Snaidr

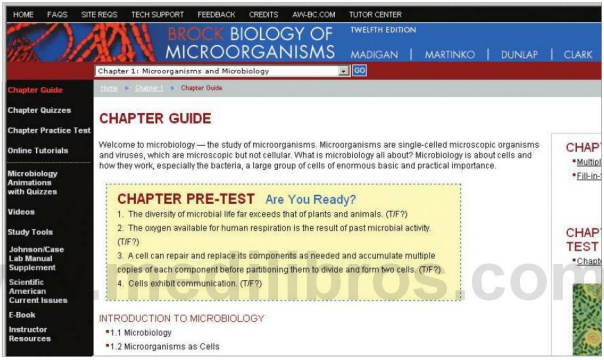
Figura 22.11 **Análisis de aguas residuales por FISH.**

Las tinciones filogéneticas, se han utilizado en este caso para aguas residuales, en las que proporciona al ecólogo microbiano la capacidad de cuantificar los microorganismos en muestras naturales y la de identificarlos filogenéticamente.

La microbiología en la red

La microbiología en la red ofrece al alumno herramientas complementarias para asegurar una mayor comprensión en los contenidos.

www.microbiologyplace.com



- **Guía del capítulo:** organiza todas las actividades y evaluaciones específicas del capítulo.
- **Cuestionarios de capítulo:** incluyen preguntas tipo test y preguntas con huecos para rellenar.
- **Preguntas prácticas de capítulo:** evalúan la comprensión general del capítulo por parte del estudiante.
- **Tutoriales online:** ayudan al estudiante a captar rápidamente los conceptos, procesos y técnicas fundamentales. Se incluyen tutoriales a lo largo de todos los capítulos, basados en treinta y cinco animaciones de Brock en formato Flash™.
- **Animaciones de microbiología con cuestionarios:** contiene ciento quince animaciones breves, en Flash™, que facilitan la comprensión de los conceptos más difíciles. Cada animación viene acompañada de preguntas tipo test que responden a niveles de dificultad.
- **Vídeos en Flash™:** presentan la vida microbiana en acción.
- **Herramientas de estudio:** contienen cuadros ilustrativos y un glosario.
- **Respuestas a las preguntas de artículos publicados en la revista *Current Issues in Microbiology*:** coeditadas con *Scientific American*, ofrecen un apoyo a los estudiantes en sus investigaciones de temas actuales.
- **El E-book:** una versión electrónica del libro completo con apoyos al estudio, como el tablero de notas.
- **Un libro de niveles:** hace un seguimiento de las calificaciones obtenidas por el estudiante y supone una ayuda para mejorar los resultados.

El acceso del estudiante a esta página requiere la compra de un acceso a través de www.microbiologyplace.com.

Complementos

SITIOS WEB Y PROGRAMAS DE GESTIÓN DEL CURSO

The Microbiology Place
Véase la página XVI para obtener más información.
www.microbiologyplace.com

CourseCompass
Este sistema de gestión del curso incluye contenidos, cargados previamente del sitio web The Microbiology Place, así como todas las preguntas del banco de pruebas computerizado. También incluye herramientas de gestión de aula, como foros de debate y correo electrónico.

WebCT
Este sistema de gestión del curso con acceso libre incluye contenidos, cargados previamente, de los cuestionarios tipo test, prácticas por capítulo, tutoriales online, tarjetas de memorización, y un glosario del sitio web The Microbiology Place, así como cuestiones del banco de pruebas computerizado.
www.aw-bc.com/webct

Blackboard
Este sistema de gestión del curso con acceso libre incluye contenidos, cargados previamente, de los cuestionarios tipo test, prácticas por capítulo, tutoriales online, tarjetas de memorización, y un glosario del sitio web The Microbiology Place, así como cuestiones del banco de pruebas computerizado.
www.aw-bc.com/blackboard

www.medilibros.com

www.medilibros.com

Agradecimientos

Este libro refleja el esfuerzo colectivo de muchas personas. Entre ellas, el equipo de Prentice Hall/Benjamin Cummings, en particular los editores ejecutivos Leslie Berriman y Gary Carlson y sus ayudantes, Kelly Reed, Jessica Young, y Lisa Tarabokjia. La sabiduría y el entudiasmo de Leslie y Gary han sido clave para la realización de este proyecto, y así con gratitud hemos intentado que sean reconocidos. Nuestra excelente editora de producción, Karen Gulliver, que cuidadosamente ha dirigido la transformación de los originales en un libro con una estética muy cuidada, y a nuestro coordinador de imágenes, Jean Lake, la calidad de las imágenes se refleja a lo largo de todo el libro mediante la utilización de elaboradas técnicas de estudio de imagen. También a nuestro enlace de imágenes, Jack Haley, que ha realizado un trabajo absolutamente magnífico al convertir simples bosquejos del autor en esquemas de gran calidad artística. Los autores también agradecen profundamente a nuestro equipo de producción y diseño, encabezado por Wendy Earl de Wendy Earl Productions, Jane Loftus por su esfuerzo en la corrección del manuscrito. Gordon Lee de Benjamin Cummings que ha dirigido una campaña publicitaria magnífica. Los autores desean agradecer la colaboración sumamente provechosa a principios de este proyecto de nuestro redactor de desarrollo, Elmarie Hutchinson, y la ayuda experta con las fotografías electrónicas proporcionadas por Deborah O. Jung. Además, estamos francamente agradecidos por la aportación de Elizabeth McPherson que ha inspeccionado meticulosamente la producción de esta edición. Todos los autores también desean agradecer a sus estudiantes de graduado, colegas, y el personal departamental por su ayuda, paciencia, y cooperación durante el tiempo ocupado en la preparación un libro de esta envergadura. Finalmente, Michael T. Madigan desea reconocer a sus coautores, John, Paul, y David, que ha sido un placer y un privilegio haber trabajado juntos en esta edición. Ningún texto de microbiología podría ser publicado sin una cuidadosa revisión de los manuscritos y de la contribución de las fotos proporcionadas por expertos en el campo. Estamos, por tanto, sumamente agradecidos por la ayuda de todas las personas que han participado en las revisiones generales o técnicas o que han suministrado nuevas fotografías. Todas estas personas se citan a continuación. Nuestro especial agradecimiento al Profesor Dr. Michael Wagner, Universidad de Viena, Austria, por la imagen de la portada de esta duodécima edición, y por otras fotografías en color del libro.

Morad Abou-Sabe, *Rutgers University*
Richard Adler, *University of Michigan, Dearborn*
Gladys Alexandre-Jouline, *University of Tennessee*
Stephen Aley, *University of Texas at El Paso*
Thomas Alton, *Western Illinois University*
Linda Amaral Zettler, *The Josephine Bay Paul Center for Comparative Molecular Biology and Evolution*
Rodney Anderson, *Ohio Northern University*
Esther Angert, *Cornell University*
Marie Asao, *Southern Illinois University*
Jennifer Ast, *University of Michigan*
Susan Bagley, *Michigan Technological University*
Tamar Barkay, *Rutgers University*
Dale Barnard, *Utah State University*
Carl Bauer, *Indiana University*
Dennis A. Bazylinski, *University of Nevada, Las Vegas*
Michael Benedik, *Texas A&M University*
Nicholas H. Bergman, *University of Michigan*
Robert Blankenship, *Washington University*
Paul Blum, *University of Nebraska, Lincoln*
Katherine Boettcher, *University of Maine*
Susan Borrstein-Forst, *Marian College*
David Bradley, *Iowa State University*
Derrick Brazill, *Hunter College*
Forrest Brem, *Memphis, Tennessee*
Robert Britton, *Michigan State University*
Mary Burke, *Oregon State University*
Peter D. Burrows, *University of Alabama at Birmingham*
Donald Canfield, *University of Southern Denmark*
Richard Castenholz, *University of Oregon*
Centers for Disease Control and Prevention Public Health Image Library, *Atlanta*, Georgia
Delphi Chatterjee, *Colorado State University*
Aaron Chevalier, *University of Texas*
Sallie Chisholm, *Massachusetts Institute of Technology*
Rhonda Clark, *University of Calgary*
Morris Cooper, *Southern Illinois University School of Medicine*
Diana Cundell, *Philadelphia University*
Philip Cunningham, *Wayne State University*
Mike Dalbey, *University of California, Santa Cruz*
Dennis Dean, *Virginia Polytechnic Institute and State University*
Edward F. DeLong, *Massachusetts Institute of Technology*
David DeRosier, *Brandeis University*
Don Deters, *Bowling Green State*
Thomas DiChristina, *Georgia Institute of Technology*
Ulrich Dobrindt, *Universität Würzburg (Alemania)*
William Ebomoyi, *Chicago State University*
Tassos Economou, *Institute of Molecular Biology and Biotechnology, Heraklion, Creta (Grecia)*
Edward P. Ewing, Jr., *Centers for Disease Control, Atlanta*
Mekomen Fekadu, *Ethiopian Health and Nutrition Institute, Addis Ababa (Etiopía)*
Leanne Field, *University of Texas*

Douglas Fix, *Southern Illinois University*
Alex Formstone, *University of Oxford (Inglaterra)*
Larry Forney, *University of Idaho*
Christopher Francis, *Stanford University*
Chris Frazee, *University of Wisconsin*
S. Marvin Friedman, *Hunter College*
Jed Fuhrman, *University of Southern California*
Clay Fuqua, *Indiana University*
Michelle Furlong, *Clayton State University*
Jacek Gaertig, *University of Georgia*
Daniel Gage, *University of Connecticut*
Bruce Geller, *Oregon State University*
Howard Gest, *Indiana University*
Stephen Giovannoni, *Oregon State University*
Donald Glassman, *Des Moines Area Community College*
Bonnie Glatz, *Iowa State University*
Steven Glenn, *Centers for Disease Control, Atlanta*
Peter Greenberg, *University of nnWashington*
Ricardo Guerrero, *Universidad de Barcelona (España)*
John Haddock, *Southern Illinois University*
Lidija Halda-Alija, *University of Mississippi*
Lydia Halden, *HA Micro Gene Technology International, Inc.*
Robin Harris, *Universität Mainz (Alemania)*
John Hayes, *Woods Hole Oceanographic Institution*
Jim Holden, *University of Massachusetts*
Margaret Hollingsworth, *University of Buffalo*
Jarmo Holopainen, *University of Kuopio (Finlandia)*
Scott M. Holt, *Western Illinois University*
Michael Ibba, *Ohio State University*
Johannes Imhoff, *Universität Kiel (Alemania)*
James Imlay, *University of Illinois*
Nicholas J. Jacobs, *Dartmouth Medical School*
Christine Jacobs-Wagner, *Yale University*
Ken Jarrell, *Queen's University (Canadá)*
John Jones, *Saint Xavier University*
Deborah O. Jung, *Southern Illinois University*
Judith Kandel, *California State University, Fullerton*
Jan Karlseder, *The Salk Institute for Biological Sciences*
Kazem Kashefi, *Michigan State University*
Parjit Kaur, *Georgia State University*
David Kehoe, *Indiana University*
Nemat O. Keyhani, *University of Florida*
Joan Kiely, *SUNY, Stony Brook*
David Kirchman, *University of Delaware*
Gregory Kleinheinz, *University of Wisconsin–Oshkosh*
Allan Konopka, *Pacific Northwest Laboratories*
Susan F. Koval, *University of Western Ontario (Canadá)*
Robert Krasner, *Providence College*
Bassam Lahoud, *Lebanese American University*
John Lammert, *Gustavus Adolphus College*
Jennifer Leavey, *Georgia Institute of Technology*
John E. Lennox, *Pennsylvania State University Altoona*
Matt Levy, *University of Texas*
Karen Lips, *Southern Illinois University*
Carol Litchfield, *George Mason University*
Alexander Loy, *University of Vienna (Austria)*
Jean Lu, *Kennesaw State University*
Bonnie Lustigman, *Montclair State University*
Ann Matthysse, *University of North Carolina*
Edward M. Marcotte, *University of Texas*
William Margolin, *University of Texas Health Sciences Center*
Cortez McBerry, *University of Cincinnati*
Mark McBride, *University of Wisconsin, Milwaukee*
William McCleary, *Brigham Young University*
Colleen McDermott, *University of Wisconsin, Oshkosh*
John McEncroe, *Colorado School of Mines*
Margaret McFall-Ngai, *University of Wisconsin*
Joseph McGonigle, *Aqua Bounty Technologies Waltham, Massachusetts*
Elizabeth McPherson, *University of Tennessee*
Michael McInerney, *University of Oklahoma*
Jay Mellies, *Reed College*
William Metcalf, *University of Illinois*
Eric S. Miller, *North Carolina State University*
Christine Moe, *Emory University*
William W. Mohn, *University Of British Columbia*
Søren Molin, *Danish Technical University (Dinamarca)*
Melanie Moser, *Centers for Disease Control, Atlanta*
Scott Mulrooney, *Michigan State University*
Frederick Murphy, *Centers for Disease Control Atlanta*
Colin Murrell, *University of Warwick (Inglaterra)*
Marc Mussman, *University of Vienna (Austria)*
Moon H. Nahm, *University of Alabama at Birmingham*
Aurora Nedelcu, *University of New Brunswick (Canadá)*
Daniela Nicastro, *Brandeis University*
Daniel Nickrent, *Southern Illinois University*
Andrew Ogram, *University of Florida*
Aharon Oren, *Hebrew University, Jerusalén (Israel)*
Mike Pentella, *University of Iowa*
Mary Perille Collins, *University of Wisconsin, Milwaukee*
David Prangishvili, *Institut Pasteur, París (Francia)*
Vasu Punj, *University of Illinois College of Medicine*
Reinhard Rachel, *Universität Regensburg (Alemania)*
Peter Radstrom, *Lund University (Suecia)*
Didier Raoult, *CNRS, Marseille (Francia)*
Robert Reeves, *Florida State University*
Christopher Rensing, *University of Arizona*
Todd B. Reynolds, *University of Tennessee*
Anna-Louise Reysenbach, *Portland State University*
Charles Rice, *Kansas State University*

www.edilibro.com

Gary P. Roberts, *University of Wisconsin*
Amy Rosenzweig, *Northwestern University*
Frank Rosenzweig, *University of Montana, Missoula*
Silvia Rossbach, *Western Michigan University*
Kathleen Ryan, *University of California, Berkeley*
Frances Sailer, *University of North Dakota*
Mahfuzar R. Sarker, *Oregon State University*
Matt Sattley, *Washington University*
Simon Scheuring, *Institut Curie, París (Francia)*
Bernhard Schink, *Universität Konstanz (Alemania)*
Tom Schmidt, *Michigan State University*
Thomas Sellers, *Centers for Disease Control, Atlanta*
Hua Shen, *Virginia State University*
Jolynn Smith, *Southern Illinois University*
Dieter Soll, *Yale University*
Nancy Spear, *Murphysboro, Illinois*
Charlotte Spencer, *University of Alberta (Canadá)*
James Staley, *University of Washington*
Kenneth Stedman, *Portland State University*
John G. Steiert, *Missouri State University*
John F. Stolz, *Duquesne University*
Michael Sulzinski, *University of Scranton*
Jeff Tabor, *University of California, San Francisco*
Ralph Tanner, *University of Oklahoma*
Louise Teel, *Uniformed Services University of the Health Sciences*
Rupal Thazhath, *University of Georgia*
Beth Traxler, *University of Washington*
Amy Treonis, *University of Richmond*
Henryk Urbanczyk, *University of Michigan*
Ed W. J. van Niel, *Lund University (Suecia)*
Manuel Varela, *Eastern New Mexico University*
Michael Wagner, *University of Vienna (Austria)*
David Ward, *Montana State University*
Thomas Wahlund, *University of California, San Marcos*
James Walker, *University of Texas at Austin*
Valerie Watson, *West Virginia University*
Maribeth Watwood, *Northern Arizona University*
Allen T. Weber, *University of Nebraska at Omaha*
David Wessner, *Davidson College*
Kristi Westover, *Winthrop University*
Elizabeth H. White, *Centers for Disease Control, Atlanta*
William Whitman, *University of Georgia*
Carl Woese, *University of Illinois*
Shinn-Chih Wu, *National Taiwan University*
Vladimir Yurkov, *University of Manitoba (Canadá)*
John Zamora, *Middle Tennessee State University*
Jill Zeilstra-Ryalls, *Oakland University*
Stephen Zinder, *Cornell University*
David A. Zuberer, *Texas A&M University*
Patty Zwollo, *College of William and Mary*

A pesar de los esfuerzos de los autores, ningún texto está libre de errores. Cualquiera de los errores existentes, bien por comisión, bien por omisión, son responsabilidad de los autores. En las ediciones anteriores, los lectores han sido muy amables en ponerse en contacto con nosotros cuando han encontrado algún error. Deben continuar haciéndolo, y ponerse en contacto con los autores para tratar los errores, aportar sugerencias o comentarios, o plantear cualquier pregunta que pueden tener sobre el libro.

Michael T. Madigan (madigan@micro.siu.edu)
John M. Martinko (martinko@micro.siu.edu)
Paul V. Dunlap (pvdunlap@umich.edu)
David P. Clark (clark@micro.siu.edu)

Resumen de contenidos

UNIDAD 1 Principios de microbiología

Capítulo 1 Microorganismos y microbiología 1
Capítulo 2 Un breve viaje por el mundo microbiano 28
Capítulo 3 Química de los componentes celulares 55
Capítulo 4 Estructura y función celular en Bacterias y Arqueas 73
Capítulo 5 Nutrición, cultivo y metabolismo microbiano 117
Capítulo 6 Crecimiento microbiano 154

UNIDAD 2 Biología molecular de los microorganismos

Capítulo 7 Fundamentos de biología molecular 191
Capítulo 8 Biología molecular de arqueas y eucariotas 226
Capítulo 9 Regulación de la expresión génica 245
Capítulo 10 Una visión rápida de los virus y la virología 274
Capítulo 11 Fundamentos de genética bacteriana 304
Capítulo 12 Ingeniería genética 344
Capítulo 13 Genómica microbiana 378

UNIDAD 3 La diversidad microbiana

Capítulo 14 Evolución y sistemática microbiana 405
Capítulo 15 Dominio *Bacteria:* las proteobacterias 440
Capítulo 16 Dominio *Bacteria:* grampositivas y otras bacterias 491
Capítulo 17 Dominio *Archaea* 538
Capítulo 18 Biología celular y microorganismos eucariotas 571
Capítulo 19 Diversidad viral 607

UNIDAD 4 Diversidad metabólica y ecología microbiana

Capítulo 20 Diversidad metabólica: fototrofia, autotrofia, quimiolitotrofia y fijación del nitrógeno 640
Capítulo 21 Diversidad metabólica: catabolismo de los compuestos orgánicos 677
Capítulo 22 Métodos de ecología microbiana 720
Capítulo 23 Ecosistemas microbianos 744
Capítulo 24 Ciclos de los nutrientes, biorremediación y simbiosis 768

UNIDAD 5 Microbiología aplicada

Capítulo 25 Microbiología industrial 811
Capítulo 26 Biotecnología 843

UNIDAD 6 Agentes antimicrobianos y patogenicidad

Capítulo 27 Control del crecimiento microbiano 865
Capítulo 28 Interacciones de los microorganismos con la especie humana 902

UNIDAD 7 Inmunología

Capítulo 29 Principios esenciales de inmunología 935
Capítulo 30 La inmunidad en la defensa del hospedador y en la enfermedad 964
Capítulo 31 Inmunología molecular 982

UNIDAD 8 Diagnóstico y seguimiento de las enfermedades infecciosas

Capítulo 32 Microbiología e inmunología diagnósticas 1003
Capítulo 33 Epidemiología 1041

UNIDAD 9 Enfermedades microbianas

Capítulo 34 Enfermedades microbianas transmitidas de persona a persona 1075
Capítulo 35 Enfermedades transmitidas por vectores y por microorganismos del suelo 1117
Capítulo 36 Tratamiento de aguas residuales, potabilización de aguas y enfermedades microbianas transmitidas por el agua 1142
Capítulo 37 Conservación de los alimentos y enfermedades microbianas transmitidas por los alimentos 1161

www.medilibros.com

Contenido

Prólogo a la edición en español VII

Prefacio VIII

UNIDAD 1 PRINCIPIOS DE MICROBIOLOGÍA

Capítulo 1 Microorganismos y microbiología 1

I INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGÍA 2

1.1 Microbiología **3**

1.2 Los microorganismos como células **3**

1.3 Los microorganismos y sus ambientes naturales **6**

1.4 Antigüedad y amplitud de la vida microbiana **6**

1.5 Impacto de los microorganismos sobre el hombre **8**

II LOS CAMINOS DEL DESCUBRIMIENTO EN MICROBIOLOGÍA 11

1.6 Las raíces históricas de la microbiología: Hooke, van Leeuwenhoek, y Cohn **11**

1.7 Pasteur y la derrota de la generación espontánea **13**

1.8 Koch, la enfermedad infecciosa y la microbiología del cultivo puro **16**

1.9 Diversidad microbiana y el surgimiento de la microbiología general **20**

1.10 La Era Moderna de la microbiología **22**

Información adicional
Medios sólidos, la placa de Petri y los cultivos puros *19*

Capítulo 2 Un breve viaje por el mundo microbiano 28

I LA VISIÓN DE LO MUY PEQUEÑO 29

2.1 Fundamentos de microscopía óptica **29**

2.2 Mejora y ajuste del contraste en microscopía óptica **30**

2.3 Imagen tridimensional de las células **33**

2.4 Microscopía electrónica **35**

II ESTRUCTURA CELULAR E HISTORIA EVOLUTIVA 37

2.5 Elementos estructurales de las células y de los virus **37**

2.6 Organización del DNA en las células microbianas **39**

2.7 El árbol evolutivo de la vida **41**

III DIVERSIDAD MICROBIANA 43

2.8 Diversidad fisiológica de los microorganismos **43**

2.9 *Bacterias* **45**

2.10 *Arqueas* **48**

2.11 Microorganismos eucarióticos **51**

Capítulo 3 Química de los componentes celulares 55

I ENLACES QUÍMICOS, MACROMOLÉCULAS Y AGUA 56

3.1 Enlaces fuertes y débiles **56**

3.2 Las macromoléculas y el agua como disolvente de la vida **58**

II MACROMOLÉCULAS SIN INFORMACIÓN 60

3.3 Polisacáridos **60**

3.4 Lípidos **62**

III MACROMOLÉCULAS CON INFORMACIÓN 63

3.5 Ácidos nucleicos **63**

3.6 Aminoácidos y enlace peptídico **65**

3.7 Proteínas: estructuras primaria y secundaria **67**

3.8 Proteínas: estructuras de orden superior y desnaturalización **68**

Capítulo 4 Estructura y función celular en Bacterias y Arqueas 73

I MORFOLOGÍA Y TAMAÑO CELULAR 74

4.1 Morfología celular **74**

4.2 El tamaño celular y la importancia de ser pequeño **75**

II MEMBRANA CITOPLASMÁTICA Y TRANSPORTE 78

4.3 Membrana citoplasmática en bacterias y arqueas **78**

4.4 Funciones de la membrana citoplasmática **81**

4.5 Transporte y sistemas de transporte **82**

III PAREDES CELULARES DE PROCARIOTAS 86

4.6 La pared celular de bacterias: el peptidoglicano **86**

4.7 La membrana externa de bacterias gramnegativas 90

4.8 Paredes celulares de arqueas **93**

IV OTRAS ESTRUCTURAS SUPERFICIALES E INCLUSIONES CELULARES 94

4.9 Capas superficiales, pelos y fimbrias **94**

www.medilibros.com

4.10 Inclusiones celulares **96**
4.11 Vesículas de gas **98**
4.12 Endosporas **100**

V MOVIMIENTO MICROBIANO 105

4.13 Flagelos y movilidad **105**
4.14 Movilidad por deslizamiento **110**
4.15 El movimiento celular como respuesta sensorial: tactismos microbianos **111**

Información adicional
¿Cuánto tiempo puede sobrevivir una espora? 102

Capítulo 5 Nutrición, cultivo y metabolismo microbiano 117

I NUTRICIÓN Y CULTIVO DE MICROORGANISMOS 118

5.1 Nutrición microbiana **118**
5.2 Medios de cultivo **121**
5.3 Cultivo de microorganismos en el laboratorio **123**

II ENERGÉTICA Y ENZIMAS 124

5.4 Bioenergética **125**
5.5 Catálisis y enzimas **126**

III OXIDACIÓN-REDUCCIÓN Y COMPUESTOS DE ALTA ENERGÍA 129

5.6 Oxidación y reducción: donadores y aceptores de electrones **129**
5.7 El NAD como un transportador redox de electrones **131**
5.8 Compuestos de alta energía y almacenamiento de energía **132**

IV BASES DEL CATABOLISMO 133

5.9 Conservación de la energía **134**
5.10 La glucólisis como ejemplo de fermentación **134**
5.11 La respiración y los sistemas de membrana transportadores de electrones **137**
5.12 Respiración y fuerza motriz de protones **140**
5.13 Flujo del carbono en la respiración: el ciclo del ácido cítrico **142**
5.14 Diversidad catabólica **144**

V BASES DEL ANABOLISMO 146

5.15 Biosíntesis de azúcares y polisacáridos **146**
5.16 Biosínteis de aminoácidos y nucleótidos **147**
5.17 Biosíntesis de ácidos grasos y lípidos **148**
5.18 Regulación de la actividad de enzimas biosintéticas **149**

Información adicional
Los productos de fermentación por levaduras y el efecto Pasteur 136

Capítulo 6 Crecimiento microbiano 154

I DIVISIÓN CELULAR BACTERIANA 155

6.1 Crecimiento celular y fisión binaria **155**
6.2 Proteínas Fts y división celular **156**
6.3 MreB y los determinantes de la morfología celular **157**
6.4 Síntesis de peptidoglicano y división celular **159**

II CRECIMIENTO DE POBLACIONES BACTERIANAS 161

6.5 Terminología y concepto de crecimiento exponencial **161**
6.6 Formulación del crecimiento exponencial **162**
6.7 Ciclo del crecimiento microbiano **163**
6.8 Cultivo continuo: el quimiostato **165**

III MEDIDA DEL CRECIMIENTO MICROBIANO 167

6.9 Determinación del número total de células: recuento microscópico **167**
6.10 Recuento de células viables **168**
6.11 Medida de la masa microbiana: métodos turbidimétricos **170**

IV TEMPERATURA Y CRECIMIENTO MICROBIANO 172

6.12 Efecto de la temperatura sobre el crecimiento microbiano **172**
6.13 Crecimiento microbiano a bajas temperaturas **175**
6.14 Crecimiento microbiano a altas temperaturas **178**

V OTROS FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN AL CRECIMIENTO 180

6.15 Crecimiento microbiano y pH **180**
6.16 Efectos osmóticos sobre el crecimiento microbiano **182**
6.17 Oxígeno y crecimiento microbiano **184**
6.18 Formas tóxicas del oxígeno **186**

Información adicional
Crecimiento microbiano en el mundo real: biopelículas 173

UNIDAD 2 BIOLOGÍA MOLECULAR DE LOS MICROORGANISMOS

Capítulo 7 Fundamentos de biología molecular 191

I GENES Y EXPRESIÓN GÉNICA 192

7.1 Macromoléculas e información genética **192**

II LA ESTRUCTURA DEL DNA 193

7.2 La doble hélice **193**
7.3 Superenrollamiento **196**
7.4 Cromosomas y otros elementos genéticos **198**

III LA REPLICACIÓN DEL DNA 199

7.5 Moldes y enzimas **199**
7.6 La horquilla de replicación **201**
7.7 La replicación bidireccional y el replisoma **203**
7.8 Corrección de errores y terminación **205**

www.elmedilibros.com

IV LA SÍNTESIS DEL RNA: TRANSCRIPCIÓN 206

7.9 Aspectos generales de la transcripción **207**
7.10 Factores sigma y secuencias consenso **208**
7.11 Terminación de la transcripción **210**
7.12 La unidad de transcripción **211**

V LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS 212

7.13 El código genético **212**
7.14 RNA de transferencia **215**
7.15 Traducción: el proceso de la síntesis de proteínas **217**
7.16 La incorporación de aminoácidos no estándar **220**
7.17 Plegamiento y secreción de proteínas **221**

Capítulo 8 Biología molecular de arqueas y eucariotas 226

I BIOLOGÍA MOLECULAR DE LAS ARQUEAS 227

8.1 Cromosomas y replicación del DNA en arqueas **227**
8.2 Transcripción y procesamiento del RNA en arqueas **229**
8.3 Síntesis de proteínas en arqueas **230**
8.4 Características comunes en bacterias y arqueas **231**

II BIOLOGÍA MOLECULAR EUCARIÓTICA 232

8.5 Genes y cromosomas en los eucariotas **232**
8.6 Visión general de la división celular eucariótica **234**
8.7 Replicación del DNA lineal **235**
8.8 Procesamiento del RNA **237**
8.9 Transcripción y traducción en eucariotas **240**
8.10 Interferencia por RNA (RNAi) **242**

Información adicional
Inteínas y empalme de proteínas 238

Capítulo 9 Regulación de la expresión génica 245

I GENERALIDADES DE LA REGULACIÓN 246

9.1 Principales tipos de regulación **246**

II PROTEÍNAS DE UNIÓN AL DNA Y REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN 247

9.2 Proteínas de unión al DNA **247**
9.3 Control negativo de la transcripción: represión e inducción **249**
9.4 Control positivo de la transcripción **251**

III PERCEPCIÓN Y TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL 253

9.5 Sistemas reguladores de dos componentes **253**
9.6 Percepción de quórum **255**
9.7 Regulación de la quimiotaxis **257**
9.8 Control de la transcripción en arqueas **259**

IV MECANISMOS REGULADORES GLOBALES 260

9.9 El control global y el operon *lac* **260**
9.10 La respuesta estricta **261**
9.11 Otras redes de control global **263**

V REGULACIÓN DEL DESARROLLO EN BACTERIAS MODELO 265

9.12 Esporulación en *Bacillus* **265**
9.13 Diferenciación en *Caulobacter* **266**

VI REGULACIÓN BASADA EN EL RNA 267

9.14 Regulación por RNA y RNA antisentido **267**
9.15 Interruptores de RNA **268**
9.16 Atenuación **270**

Capítulo 10 Una visión rápida de los virus y la virología 274

I ESTRUCTURA Y CRECIMIENTO DE LOS VIRUS 275

10.1 Propiedades generales de los virus **275**
10.2 Naturaleza del virión **276**
10.3 El hospedador del virus **280**
10.4 Cuantificación de virus **280**

II REPLICACIÓN VÍRICA 282

10.5 Características generales de la replicación vírica **282**
10.6 Unión y penetración víricas **283**
10.7 Producción de ácidos nucleicos y proteínas víricas **285**

III DIVERSIDAD VÍRICA 287

10.8 Generalidades de los virus bacterianos **287**
10.9 Bacteriófagos virulentos y T4 **290**
10.10 Bacteriófagos atemperados, lambda y P1 **292**
10.11 Generalidades de los virus animales **295**
10.12 Retrovirus **297**

IV ENTIDADES SUBVÍRICAS 299

10.13 Virus defectuosos **299**
10.14 Viroides **299**
10.15 Priones **300**

Información adicional
¿Inventaron los virus el DNA? 288

Capítulo 11 Fundamentos de genética bacteriana 304

I CROMOSOMAS BACTERIANOS Y PLÁSMIDOS 305

11.1 Mapa genético del cromosoma de *Escherichia coli* **305**
11.2 Plásmidos: principios generales **308**
11.3 Tipos de plásmidos y su significado biológico **310**

www.medilibros.com

II MUTACIÓN 312
11.4 Mutaciones y mutantes **312**
11.5 Bases moleculares de la mutación **315**
11.6 Tasas de mutación **317**
11.7 Mutagénesis **318**
11.8 Mutagénesis y carcinogénesis: la prueba de Ames **322**

III INTERCAMBIO GENÉTICO EN PROCARIOTAS 323
11.9 Recombinación genética **324**
11.10 Transformación **325**
11.11 Transducción **328**
11.12 Conjugación: características esenciales **331**
11.13 Formación de las cepas Hfr y movilización cromosómica **333**
11.14 Complementación **336**
11.15 Transferencia génica en arqueas **338**
11.16 DNA móvil: elementos transponibles **339**

Capítulo 12 Ingeniería genética 344

I HERRAMIENTAS Y TÉCNICAS DE INGENIERÍA GENÉTICA 345
12.1 Enzimas de restricción y modificación **345**
12.2 Hibridación de ácidos nucleicos y transferencia Southern **347**
12.3 Fundamentos de la clonación molecular **348**
12.4 Los plásmidos como vectores de clonación **349**

II SECUENCIACIÓN, SÍNTESIS, Y AMPLIFICACIÓN DEL DNA 352
12.5 Secuenciación del DNA **352**
12.6 Secuenciación y registro de genomas completos **354**
12.7 Síntesis de DNA **356**
12.8 Amplificación de DNA: reacción en cadena de la polimerasa **356**

III MANIPULACIÓN DE GENES BACTERIANOS 360
12.9 Métodos moleculares de mutagénesis **360**
12.10 Fusiones génicas y genes testigo **362**

IV TÉCNICAS DE AVANZADAS DE CLONACIÓN 364
12.11 Hospedadores de los vectores de clonación **364**
12.12 A la búsqueda del clon correcto **365**
12.13 Vectores lanzadera y vectores de expresión **368**
12.14 El bacteriófago lambda como vector de clonación **371**
12.15 Vectores para la clonación y la secuenciación genómicas **373**

Información adicional
Identificación genética (huellas dactilares de DNA) 358

Capítulo 13 Genómica microbiana 378

I GENOMAS MICROBIANOS 379
13.1 Breve historia de la genómica **379**
13.2 Genomas procarióticos: tamaños y contenido de ORF **379**
13.3 Genomas procarióticos: análisis bioinformáticos y distribuciones génicas **382**
13.4 El genoma de los orgánulos eucarióticos **385**
13.5 Genomas microbianos eucarióticos **389**

II FUNCIÓN Y REGULACIÓN DEL GENOMA 391
13.5 Micromatrices y transcriptoma **391**
13.6 Proteómica **394**
13.7 Metabolómica **395**

III LA EVOLUCIÓN DEL GENOMA 396
13.9 Familias génicas, duplicaciones y deleciones **396**
13.10 DNA móvil: transposones y secuencias de inserción **397**
13.11 Transferencia génica horizontal y estabilidad del genoma **398**
13.12 Evolución de la virulencia: islas de patogenia **400**

IV GENÓMICA AMBIENTAL 401
13.13 Detección de microorganismos no cultivados **401**
13.14 Genomas víricos en la naturaleza **402**

Información adicional
Edición del RNA 388

UNIDAD 3 LA DIVERSIDAD MICROBIANA

Capítulo 14 Evolución y sistemática microbiana 405

I LA TIERRA PRIMITIVA Y EL ORIGEN Y DIVERSIFICACIÓN DE LA VIDA 406
14.1 Formación e historia primitiva de la Tierra **406**
14.2 Origen de la vida celular **408**
14.3 Diversificación microbiana: consecuencias para la biosfera terrestre **412**
14.4 Origen endosimbiótico de los eucariotas **413**

II EVOLUCIÓN MICROBIANA 416
14.5 El proceso evolutivo **416**
14.6 Análisis evolutivo: aspectos teóricos **417**
14.7 Análisis evolutivo: métodos analíticos **419**
14.8 Filogenia microbiana **421**
14.9 Aplicaciones de los métodos filogenéticos basados en el SSU rRNA **423**

III SISTEMÁTICA MICROBIANA 426
14.10 Análisis fenotípico **426**
14.11 Análisis genotípico **428**

www.medilibros.com

14.12 Análisis filogenético **431**
14.13 El concepto de especie en microbiología **432**
14.14 Clasificación y nomenclatura **435**

Capítulo 15 Dominio *Bacteria:* las proteobacterias 440

I LA FILOGENIA DE LAS BACTERIAS 441
15.1 Visión general de la filogenia de las bacterias **441**

II PROTEOBACTERIAS FOTÓTROFAS, QUIMIOLITÓTROFAS Y METANÓTROFAS 443
15.2 Bacterias fototróficas rojas **443**
15.3 Bacterias nitrificantes **446**
15.4 Bacterias oxidantes del azufre y el hierro **448**
15.5 Bacterias oxidantes del hidrógeno **451**
15.6 Bacterias metanótrofas y metilótrofas **453**

III PROTEOBACTERIAS QUIMIOORGANÓTROFAS AEROBIAS Y ANAEROBIAS FACULTATIVAS 456
15.7 *Pseudomonas* y pseudomonadáceas **456**
15.8 Bacterias del ácido acético **459**
15.9 Bacterias fijadoras de nitrógeno aerobias de vida libre **460**
15.10 *Neisseria, Chromobacterium* y géneros relacionados **462**
15.11 Enterobacterias **463**
15.12 *Vibrio, Aliivibrio,* y *Photobacterium* **467**
15.13 Rickettsias **469**

IV PROTEOBACTERIAS MORFOLÓGICAMENTE INUSUALES 472
15.14 Espirilos **472**
15.15 Proteobacterias con vainas: *Sphaerotilus* y *Leptothrix* **475**
15.16 Bacterias pedunculadas con prostecas y que forman yemas **477**

V DELTA Y EPSILONPROTEOBACTERIAS 481
15.17 Mixobacterias deslizantes **481**
15.18 Proteobacterias reductoras de sulfato y reductoras de azufre **485**
15.19 Las epsilonproteobacterias **488**

Capítulo 16 Dominio *Bacteria:* grampositivas y otras bacterias 491

I VISIÓN GENERAL DE LAS BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y OTRAS BACTERIAS 492

II BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y ACTINOBACTERIAS 942
16.1 Bacterias grampositivas no formadoras de endosporas **492**
16.2 Bacterias grampositivas formadoras de endosporas **496**
16.3 Bacterias grampositivas que carecen de pared: los micoplasmas **501**
16.4 Actinobacterias: corineformes y bacterias del ácido propiónico **503**
16.5 Actinobacteria: *Mycobacterium* **504**
16.6 Actinobacterias filamentosas: *Streptomyces* y organismos relacionados **507**

III CIANOBACTERIAS Y PROCLOROFITAS 511
16.7 Cianobacterias **511**
16.8 Proclorofitas **515**

IV CLAMIDIAS 516
16.9 Clamidias **516**

V *PLANCTOMYCES/PIRELLULA* 519
16.10 *Planctomyces:* una bacteria pendunculada filogenéticamente única **519**

VI LOS VERRUMICROBIOS 520
16.11 *Verrumicrobium* y *Prosthecobacter* **520**

VII LAS FLAVOBACTERIAS 521
16.12 *Bacteroides* y *Flavobacterium* **521**
16.13 Acidobacterias **521**

VIII EL GRUPO *CYTOPHAGA* 522
16.14 *Cytophaga* y organismos relacionados **522**

IX BACTERIAS VERDES DEL AZUFRE 523
16.15 *Chlorobium* y otras bacterias verdes del azufre **523**

X LAS ESPIROQUETAS 526
16.16 Espiroquetas **526**

XI DEINOCOCCOS 529
16.17 *Deinococcus* y *Thermus* **529**

XII BACTERIAS VERDES NO DEL AZUFRE 531
16.18 *Chloroflexus* y organismos relacionados **531**

XIII BACTERIAS HIPERTERMÓFILAS 533
16.19 *Thermotoga* y *Thermodesulfobacterium* **533**
16.20 *Aquifex, Thermocrinis* y organismos relacionados **534**

XIV *NITROSPIRA* Y *DEFERRIBACTER* 535
16.21 *Nitrospira, Deferribacter,* y organismos relacionados **535**

Capítulo 17 Dominio *Archaea* 538

I FILOGENIA Y METABOLISMO GENERAL 539
17.1 Visión general filogenética de las arqueas **539**
17.2 Conservación de la energía y autotrofia en arqueas **540**

II FILUM EURYARCHAEOTA 541
17.3 Arqueas halófilas extremas **541**

www.medilibros.com

17.4 Arqueas productoras de metano: metanógenos **546**
17.5 *Thermoplasmatales* **550**
17.6 *Thermococcales* y *Methanopyrus* **552**
17.7 *Archaeoglobales* **553**
17.8 *Nanoarchaeum* y *Aciduliprofundum* **554**

III FILUM CRENARCHAEOTA 556

17.9 Hábitats y metabolismo energético en las crenarqueotas **556**
17.10 Hipertermófilos de hábitats volcánicos terrestres **558**
17.11 Hipertermófilos de hábitats volcánicos submarinos **560**
17.12 Crenarqueotas no termófilas **563**

IV EVOLUCIÓN Y VIDA A ALTAS TEMPERATURAS 564

17.13 Un límite superior de temperatura para la vida microbiana **564**
17.14 Adaptaciones de la vida a alta temperatura **565**
17.15 Arqueas hipertermófilas, H_2 y evolución microbiana **567**

Capítulo 18 Biología celular y microorganismos eucariotas 571

I ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA CÉLULA EUCARIOTA 572

18.1 Estructura de la célula eucariota y del núcleo **572**
18.2 Orgánulos respiratorios y fermentativos: la mitocondria y el hidrogenosoma **573**
18.3 Orgánulos fotosintéticos: el cloroplasto **575**
18.4 Endosimbiosis: relaciones de mitocondrias y cloroplastos en las bacterias **575**
18.5 Otros orgánulos y estructuras celulares de eucariotas **577**

II DIVERSIDAD MICROBIANA EN EUCARIOTAS 580

18.6 Filogenia del dominio *Eukarya* **580**

III PROTISTAS 582

18.7 Diplomónados y parabasálidos **583**
18.8 Euglenozoos **583**
18.9 Alveolados **585**
18.10 Estramenópilos **587**
18.11 Cercozoos y radiolarios **589**
18.12 Amoebozoos **589**

IV HONGOS 592

18.13 Fisiología y estructura de los hongos; asociaciones con otros organismos **592**
18.14 Reproducción y filogenia de los hongos **595**
18.15 Quitridiomicetos **597**
18.16 Zigomicetos **597**
18.17 Glomeromicetos **598**
18.18 Ascomicetos **598**
18.19 Basidiomicetos **601**

V ALGAS UNICELULARES VERDES Y ROJAS 601

18.20 Algas rojas unicelulares **602**
18.21 Algas verdes unicelulares **603**

Capítulo 19 Diversidad viral 607

I VIRUS DE BACTERIAS 608

19.1 Bacteriófagos de RNA **608**
19.2 Bacteriófagos de DNA de cadena sencilla **610**
19.3 Bacteriófagos de DNA de doble cadena **613**
19.4 Mu: un bacteriófago de DNA de doble cadena transponible **615**

II VIRUS DE ARQUEAS 617

19.5 Virus de arqueas **617**

III VIRUS RNA DE EUCARIOTAS 619

19.6 Virus de RNA de plantas **619**
19.7 Virus animales de RNA de cadena positiva: poliovirus y coronavirus **620**
19.8 Virus animales de RNA de cadena negativa: rabia, gripe y virus relacionados **623**
19.9 Virus de RNA de cadena doble: reovirus **626**

IV VIRUS DE DNA DE EUCARIOTAS 627

19.10 Virus vegetales de DNA **627**
19.11 Replicación de virus animales de DNA de doble cadena **629**
19.12 Virus de DNA de doble cadena: herpesvirus **631**
19.13 Virus de DNA de doble cadena: poxvirus **633**
19.14 Virus de DNA de doble cadena: adenovirus **634**

V VIRUS QUE EMPLEAN TRANSCRIPTASA INVERSA 635

19.15 Retrovirus y hepadnavirus 635

Información adicional
Mimivirus y la evolución de los virus *628*

UNIDAD 4 DIVERSIDAD METABÓLICA Y ECOLOGÍA MICROBIANA

Capítulo 20 Diversidad metabólica: fototrofia, autotrofia, quimiolitotrofia y fijación del nitrógeno 640

I EL SISTEMA DE VIDA FOTÓTROFO 641

20.1 Fotosíntesis **641**
20.2 Clorofilas y bacterioclorofilas **642**
20.3 Carotenoides y ficobilinas **645**
20.4 Fotosíntesis anoxigénica **647**
20.5 Fotosíntesis oxigénica **652**

II AUTOTROFIA 654

20.6 El ciclo de Calvin **654**
20.7 Otras vías autótrofas en los fotótrofos **656**

www.medilibros.com

III QUIMIOLITOTROFIA 658
20.8 Energética de la quimiolitotrofia **658**
20.9 Oxidación del hidrógeno **659**
20.10 Oxidación de compuestos reducidos del azufre **660**
20.11 Oxidación del hierro **663**
20.12 Nitrificación **666**
20.13 Anamox **668**

IV FIJACIÓN DEL NITRÓGENO 669
20.14 Nitrogenasa y la fijación del nitrógeno **669**
20.15 Genética y regulación de la fijación de N_2 **673**

Información adicional
Winogradsky y la quimiolitoautrofia *662*

Capítulo 21 Diversidad metabólica: catabolismo de los compuestos orgánicos 677

I FERMENTACIONES 678
21.1 Fermentaciones: consideraciones energéticas y redox **678**
21.2 Diversidad fermentativa: fermentaciones del ácido láctico y ácido mixta **680**
21.3 Diversidad fermentativa: fermentaciones de los clostridios y del ácido propiónico **683**
21.4 Fermentaciones sin fosforilación a nivel del sustrato **686**
21.5 Sintrofismo **688**

II RESPIRACIÓN ANAEROBIA 690
21.6 Respiración anaerobia: principios generales **690**
21.7 Reducción del nitrato y desnitrificación **691**
21.8 Reducción del sulfato y azufre **693**
21.9 Acetogenesis **696**
21.10 Metanogenesis **698**
21.11 Reducción de protones **702**
21.12 Otros aceptores de electrones **703**
21.13 Oxidación anóxica de hidrocarburos asociada a la respiración anaerobia **706**

III PROCESOS DE QUIMIOORGANOTROFIA AEROBIA 709
21.14 El oxígeno molecular como reactivo en los procesos bioquímicos **709**
21.15 Oxidación aerobia de los hidrocarburos **710**
21.16 Metilotrofia y metanotrofia **711**
21.17 Metabolismo de hexosas, pentosas y polisacáridos **713**
21.18 Metabolismo de los ácidos orgánicos **716**
21.19 Metabolismo de los lípidos **717**

Capítulo 22 Métodos de ecología microbiana 720

I ANÁLISIS DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS BASADOS EN TÉCNICAS DE CULTIVO 721
22.1 Enriquecimiento y aislamiento **721**
22.2 Aislamiento en cultivo axénico **725**

II ANÁLISIS DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS BASADOS EN TÉCNICAS INDEPENDIENTES DE CULTIVO 727
22.3 Métodos generales de tinción **727**
22.4 FISH **730**
22.5 Relacionar genes específicos con organismos específicos mediante PCR **732**
22.6 Genómica medioambiental **735**

III MEDICIÓN DE LAS ACTIVIDADES MICROBIANAS EN LA NATURALEZA 736
22.7 Análisis químicos, métodos radioisotópicos y microelectrodos **736**
22.8 Isótopos estables **739**

Capítulo 23 Ecosistemas microbianos 744

I PRINCIPIOS DE ECOLOGÍA MICROBIANA 745
23.1 Conceptos de ecología **745**
32.2 Ecosistemas microbianos y ciclo biogeoquímico **746**

II EL HÁBITAT MICROBIANO 747
23.3 Ambientes y microambientes **747**
23.4 Biopelículas: crecimiento microbiano sobre las superficies **749**
23.5 Biopelículas: ventajas y control **751**

III ECOSISTEMAS MICROBIANOS DE AGUA DULCE, TERRESTRE Y VEGETAL 752
23.6 Ambientes de agua dulce **752**
23.7 Ambientes terrestres **754**
23.8 Plantas como hábitat para los microorganismos **757**

IV ECOSISTEMAS MICROBIANOS MARINOS 759
23.9 Mar abierto **759**
23.10 Profundidades marinas y barofilia **764**

Información adicional
Vida microbiana en las profundidades de la Tierra *758*

Capítulo 24 Ciclos de los nutrientes, biorremediación y simbiosis 768

I CICLOS DEL CARBONO Y DEL OXÍGENO 769
24.1 El ciclo del carbono **769**
24.2 Sintrofismo y metanogenesis **771**

II CICLOS DEL NITRÓGENO, DEL AZUFRE Y DEL HIERRO 774
24.3 El ciclo del nitrógeno **774**
24.4 El ciclo del azufre **775**
24.5 El ciclo del hierro **777**

III BIORREMEDICIÓN MICROBIANA 780
24.6 Lixiviación microbiana de las menas minerales **781**

www.medilibros.com

24.7 Transformación del mercurio y otros metales pesados **783**
24.8 Biodegradación del petróleo **785**
24.9 Biodegradación de los xenobióticos **786**

IV SIMBIOSIS ENTRE ANIMALES Y MICROORGANISMOS 789

24.10 El rumen y los rumiantes **789**
24.11 Ecosistemas microbianos de las fuentes hidrotermales **793**
24.12 Simbiosis entre el calamar y *Aliivibrio* **796**

V SIMBIOSIS ENTRE PLANTAS Y MICROORGANISMOS 798

24.13 Líquenes y micorrizas **798**
24.14 Tumoración por *Agrobacterium* **801**
24.15 La simbiosis en los nódulos radicales de las leguminosas **803**

UNIDAD 5 MICROBIOLOGÍA APLICADA

Capítulo 25 Microbiología industrial 811

I LOS MICROORGANISMOS INDUSTRIALES Y LA FORMACIÓN DE PRODUCTOS 812

25.1 Los microorganismos industriales y sus productos **812**
25.2 Metabolitos primarios y secundarios **813**
25.3 Características de las fermentaciones a gran escala **814**
25.4 Escalado de las fermentaciones industriales **816**

II PRODUCTOS PARA LA INDUSTRIA SANITARIA 818

25.5 Aislamiento y caracterización de antibióticos **818**
25.6 La producción industrial de penicilinas y tetraciclinas **821**
25.7 Las vitaminas y los aminoácidos **823**
25.8 Los esteroides y otras biotransformaciones **825**
25.9 Las enzimas como productos industriales **826**

III PRODUCTOS PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA 829

25.10 El vino **829**
25.11 Elaboración de cerveza, bebidas destiladas y alcohol genérico **832**
25.12 El vinagre **836**
25.13 El ácido cítrico y otros compuestos orgánicos **837**
25.14 La levadura como agente de fermentación y como suplemento alimenticio **838**
25.15 Las setas como fuente de alimento **839**

Información adicional
Elaboración de cerveza casera 834

Capítulo 26 Biotecnología 843

I PRODUCTOS DE LA INGENIERÍA GENÉTICA 844

26.1 Principios básicos de la biotecnología **844**
26.2 Expresión de genes de mamíferos en bacterias **844**
26.3 Producción de hormonas **848**
26.4 Otros productos y proteínas de mamíferos **849**
26.5 Obtención de vacunas mediante ingeniería genética **850**
26.6 La prospección de genes **853**

II ORGANISMOS TRANSGÉNICOS 854

26.7 Modificación genética de rutas metabólicas en bacterias **854**
26.8 Modificación genética de animales **855**
26.9 Terapia génica en seres humanos **858**
26.10 Plantas transgénicas en la agricultura **860**

Información adicional
La biología sintética y la fotografía bacteriana 856

UNIDAD 6 AGENTES ANTIMICROBIANOS Y PATOGENICIDAD

Capítulo 27 Control del crecimiento microbiano 865

I CONTROL FÍSICO ANTIMICROBIANO 866

27.1 Esterilización por calor **866**
27.2 Esterilización por radiación **869**
27.3 Esterilización por filtración **871**

II CONTROL QUÍMICO ANTIMICROBIANO 873

27.4 Control químico del crecimiento microbiano **873**
27.5 Agentes antimicrobianos químicos para uso externo **875**

III AGENTES ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS *IN VIVO* 878

27.6 Antimicrobianos sintéticos **880**
27.7 Antimicrobianos naturales: los antibióticos **882**
27.8 Antibióticos β-lactámicos: las penicilinas y las cefalosporinas **883**
27.9 Antibióticos producidos por procariotas **885**

IV CONTROL DE VIRUS Y DE PATÓGENOS EUCARIÓTICOS 887

27.10 Los antivíricos **887**
27.11 Los antifúngicos **890**

V RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS Y DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS ANTIMICROBIANOS 891

27.12 Resistencia a los antimicrobianos **892**
27.13 Búsqueda de nuevos antimicrobianos **896**

Información adicional
Cómo prevenir la resistencia a los fármacos antimicrobianos 878

www.medilibros.com

Capítulo 28 Interacciones de los microorganismos con la especie humana 902

I INTERACCIONES BENEFICIOSAS DE MICROORGANISMOS CON SERES HUMANOS 903

28.1 Principios básicos de las interacciones de microorganismos con la especie humana **903**
28.2 Microbiota normal de la piel **905**
28.3 Microbiota normal de la cavidad bucal **906**
28.4 Microbiota normal del tracto gastrotrointestinal **909**
28.5 Microbiota normal de otras regiones del cuerpo **912**

II INTERACCIONES DAÑINAS DE MICROORGANISMOS CON SERES HUMANOS 915

28.6 Entrada del patógeno en el hospedador **915**
28.7 Colonización y crecimiento **918**
28.8 Virulencia **918**

III FACTORES DE VIRULENCIA Y TOXINAS 922

28.9 Factores de virulencia **922**
28.10 Las exotoxinas **922**
28.11 Las enterotoxinas **926**
28.12 Las endotoxinas **928**

IV FACTORES DEL HOSPEDADOR EN LA INFECCIÓN 929

28.13 Factores de riesgo de infección en el hospedador **929**
28.14 Resistencia innata a la infección **931**

Información adicional
Los probióticos 912

UNIDAD 7 INMUNOLOGÍA

Capítulo 29 Principios esenciales de inmunología 935

I GENERALIDADES DE INMUNOLOGÍA 936

29.1 Células y órganos del sistema inmunitario **936**
29.2 Respuesta inmunitaria innata **939**
29.3 Inflamación, fiebre, y choque séptico **943**
29.4 Respuesta inmunitaria adaptativa **944**

II ANTÍGENOS Y PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS 946

29.5 Inmunógenos y antígenos **946**
29.6 Presentación de antígenos a los linfocitos T **948**

III LINFOCITOS T 951

29.7 Células T citotóxicas y células asesinas naturales **951**
29.8 Células T cooperadoras: activavión de la respuesta inmunitaria **952**

IV ANTICUERPOS 953

29.9 Anticuerpos **953**
29.10 Producción de anticuerpos **957**
29.11 Complemento, anticuerpos, y destrucción del patógeno **959**

Capítulo 30 La inmunidad en la defensa del hospedador y en la enfermedad 964

I INMUNIDAD Y DEFENSA DEL HOSPEDADOR 965

30.1 Inmunidad innata **966**
30.2 Inmunidad adaptativa y células T **966**
30.3 Inmunidad adaptativa y anticuerpos **968**

II INMUNIDAD Y PREVENCIÓN DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS 969

30.4 Inmunidad natural **969**
30.5 Inmunidad artificial e inmunización **970**
30.6 Nuevas estrategias de inmunización **973**

III ENFERMEDADES DE LA RESPUESTA INMUNITARIA 974

30.7 Alergia, hipersensibilidad y autoinmunidad **976**
30.8 Superantígenos **979**

Información adicional
La promesa de nuevas vacunas 974

Capítulo 31 Inmunología molecular 982

I RECEPTORES E INMUNIDAD 983

31.1 Inmunidad innata y reconocimiento de estructuras **983**
31.2 Inmunidad adaptativa y la superfamilia de las inmunoglobulinas **986**

II EL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD 987

31.3 Estructura de las proteínas MHC **988**
31.4 Polimorfismos MHC y unión del antígeno **989**

III ANTICUERPOS 990

31.5 Proteínas anticuerpo y unión al antígeno **990**
31.6 Genes de anticuerpos y diversidad **991**

IV RECEPTORES DE CÉLULAS T 993

31.7 Receptores de células T: proteínas, genes, y diversidad **993**

V SEÑALES MOLECULARES EN LA INMUNIDAD 994

31.8 Selección clonal y tolerancia **995**
31.9 Activación de células T y B **997**
31.10 Citocinas y quimiocinas **999**

Información adicional
Receptores Toll de Drosophila: una respuesta antigua a la infección 984

www.medilibros.com

UNIDAD 8 DIAGNÓSTICO Y SEGUIMIENTO DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Capítulo 32 Microbiología e inmunología diagnósticas 1003

I MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DEPENDIENTES DEL CULTIVO 1004

32.1 Aislamiento de patógenos de muestras clínicas **1004**
32.2 Métodos de identificación dependientes de cultivo **1010**
32.3 Pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos **1013**
32.4 Seguridad en el laboratorio de microbiología **1016**

II INMUNOLOGÍA Y MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO 1018

32.5 Inmunoensayos para las enfermedades infecciosas **1018**
32.6 Anticuerpos policlonales y monoclonales **1020**
32.7 Reacciones antígeno-anticuerpo *in vitro:* serología **1021**
32.8 Aglutinación **1024**
32.9 Anticuerpos fluorescentes **1025**
32.10 Ensayo de inmunoadsorbente unido a enzima y radioinmunoensayo **1028**
32.11 Procedimientos de inmunoblot **1033**

III MÉTODOS DIAGNÓSTICOS BASADOS EN ÁCIDOS NUCLEICOS 1035

32.12 Sondas de ácidos nucleicos y PCR **1035**

Capítulo 33 Epidemiología 1041

I PRINCIPIOS DE EPIDEMIOLOGÍA 1042

33.1 La ciencia de la epidemiología **1042**
33.2 Vocabulario de la epidemiología **1043**
33.3 Reservorios de enfermedades y epidemias **1045**
33.4 Transmisión de las enfermedades infecciosas **1048**
33.5 La comunidad de hospedadores **1050**

II EPIDEMIAS ACTUALES 1052

33.6 La pandemia de SIDA **1052**
33.7 Infecciones hospitalarias **1054**

III EPIDEMIOLOGÍA Y SALUD PÚBLICA 1055

33.8 Medidas de salud pública para el control de enfermedades **1055**
33.9 Consideraciones sobre la salud global **1059**
33.10 Enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes **1061**
33.11 Guerra biológica y armas biológicas **1067**
33.12 Carbunco como arma biológica **1070**

Información adicional
SARS como modelo de éxito epidemiológico 1068

UNIDAD 9 ENFERMEDADES MICROBIANAS

Capítulo 34 Enfermedades microbianas transmitidas de persona a persona 1075

I TRANSMISIÓN DE ENFERMEDADES POR EL AIRE 1076

34.1 Patógenos transmitidos por el aire **1076**
34.2 Enfermedades estreptocócicas **1077**
34.3 *Corynebacterium* y difteria **1080**
34.4 *Bordetella* y tosferina **1082**
34.5 *Mycobacterium.* Tuberculosis y enfermedad de Hansen **1083**
34.6 *Neisseria meningitidis,* meningitis y meningococemia **1086**
34.7 Virus e infecciones respiratorias **1087**
34.7 Resfriados **1090**
34.8 Gripe **1091**

II TRANSMISIÓN DE ENFEMEDADES POR CONTACTO DIRECTO 1094

34.10 *Staphylococcus* **1094**
34.11 *Helicobacter pylori* y úlceras gástricas **1096**
34.12 Virus de la hepatitis **1097**

III ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL 1100

34.13 Gonorrea y sífilis **1101**
34.14 *Chlamydia,* herpes, tricomoniasis y virus del papiloma humano **1103**
34.15 Síndrome de la inmunodeficiencia adquirida: SIDA y VIH **1106**

Capítulo 35 Enfermedades transmitidas por vectores y por microorganismos del suelo 1117

I ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ANIMALES 1118

35.1 Rabia **1118**
35.2 Síndromes por Hantavirus **1120**

II ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ARTRÓPODOS 1122

35.3 Enfermedades producidas por rickettsias **1122**
35.4 Enfermedad de Lyme **1126**
35.5 Malaria **1129**
35.6 Virus del Nilo occidental **1132**
35.7 Peste **1134**

III ENFERMEDADES TRANSMITIDAS A PARTIR DEL SUELO 1136

35.8 Enfermedades fúngicas **1136**
35.9 Tétanos **1139**

Información adicional
Patógenos especiales y fiebres hemorrágicas víricas 1122

www.medilibros.com

Capítulo 36 Tratamiento de aguas residuales, potabilización de aguas y enfermedades microbianas transmitidas por el agua 1142

I MICROBIOLOGÍA DE LAS AGUAS RESIDUALES Y POTABILIZACIÓN DEL AGUA 1143

36.1 Salud pública y calidad del agua **1143**
36.2 Tratamiento de aguas residuales y contaminadas **1145**
36.3 Potabilización de agua para consumo humano **1149**

II ENFERMEDADES MICROBIANAS TRANSMITIDAS POR EL AGUA 1151

36.4 Fuentes de infección por el agua **1151**
36.5 Cólera **1152**
36.6 Giardiasis y criptosporidiosis **1154**
36.7 Legionelosis (enfermedad de los legionarios) **1156**
36.8 Fiebres tifoideas y otras enfermedades transmitidas por el agua **1157**

Capítulo 37 Conservación de los alimentos y enfermedades infecciosas transmitidas por los alimentos 1161

I CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS Y CRECIMIENTO MICROBIANO 1162

37.1 Crecimiento microbiano y alteraciones de los alimentos **1162**
37.2 Conservación de los alimentos **1163**
37.3 Alimentos fermentados **1166**

II DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS E INTOXICACIÓN ALIMENTARIA 1168

37.4 Enfermedades transmitidas por los alimentos y detección de microorganismos **1168**
37.5 Intoxicación alimentaria por estafilococos **1170**
37.6 Intoxicación alimenticia por clostridios **1171**

III INFECCIONES ALIMENTARIAS 1173

37.7 Salmonelosis **1173**
37.8 Cepas patógenas de *Escherichia coli* **1175**
37.9 *Campylobacter* **1177**
37.10 Listeriosis **1178**
37.11 Otras enfermedades infecciosas transmitidas por alimentos **1179**

Información adicional
Espinacas y Escherichia coli O157:H7 *1176*

Apéndice 1
Cálculos de energía en bioenergética microbiana 1183

Apéndice 2
Manual de Bergey de bacteriología sistemática, segunda edición 1189

Glosario 1197

Créditos de las fotografías 1217

Índice analítico 1219

www.medilibros.com

www.medilibros.com

1

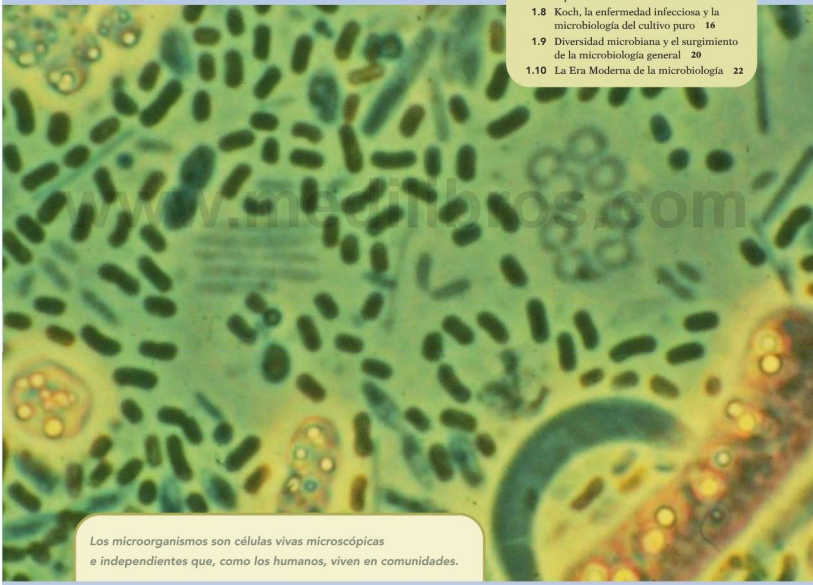
Microorganismos y microbiología

I INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGÍA 2

1.1 Microbiología 3
1.2 Los microorganismos como células 3
1.3 Los microorganismos y sus ambientes naturales 6
1.4 Antigüedad y amplitud de la vida microbiana 6
1.5 Impacto de los microorganismos sobre el hombre 8

II LOS CAMINOS DEL DESCUBRIMIENTO EN MICROBIOLOGÍA 11

1.6 Las raíces históricas de la microbiología: Hooke, van Leeuwenhoek y Cohn 11
1.7 Pasteur y la derrota de la generación espontánea 13
1.8 Koch, la enfermedad infecciosa y la microbiología del cultivo puro 16
1.9 Diversidad microbiana y el surgimiento de la microbiología general 20
1.10 La Era Moderna de la microbiología 22



www.medilibros.com

Los microorganismos son células vivas microscópicas e independientes que, como los humanos, viven en comunidades.

Bienvenidos a la microbiología —el estudio de los microorganismos. El término **microorganismos** incluye organismos microscópicos unicelulares y los virus, que son microscópicos pero sin estructura celular.

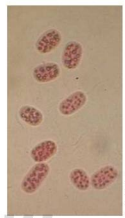
¿Qué estudia la microbiología? La microbiología trata de células y de cómo funcionan, en especial de las bacterias, que constituyen un grupo muy amplio de células con una enorme importancia básica y aplicada (**Figura 1.1**). La microbiología estudia la diversidad y la evolución, el modo en que surgieron los diferentes tipos de microorganismos y el porqué. Analiza lo que los microorganismos hacen en la naturaleza, en los suelos y en las aguas, en el cuerpo humano, en los animales y en las plantas. De un modo u otro, los microorganismos afectan a todas las formas de vida en la Tierra (Figura 1.1*b*) y por tanto podemos considerar que la microbiología es la base de las ciencias biológicas.

Los microorganismos son diferentes de las células de los organismos visibles. Las células de los macroorganismos, como las de los animales o las plantas, son incapaces de vivir aisladas en la naturaleza y existen solamente como partes de los órganos de los animales o de las partes de las plantas. Por el contrario, la mayoría de los microorganismos pueden llevar a cabo sus procesos vitales de crecimiento, generación de energía y reproducción de un modo independiente de otras células.

Este capítulo inicia nuestro viaje por el mundo microbiano. Descubriremos lo que son los microorganismos y su impacto sobre la vida. Construiremos el escenario para analizar la estructura y evolución de los microorganismos que se desarrollará en el capítulo siguiente. Además, situaremos a la microbiología en una perspectiva histórica, como un proceso del descubrimiento científico. Desde las contribuciones pioneras de los primeros microbiólogos hasta los hitos científicos de la actualidad, podremos ver la importancia creciente de la microbiología en la medicina, la agricultura, el medio ambiente, y en otros aspectos de nuestra vida diaria.

I INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGÍA

En las cinco primeras secciones de este capítulo abordamos el objeto de la microbiología, consideramos los microorganismos como células, examinamos dónde y cómo viven en la naturaleza, presentamos la historia evolutiva de la vida microbiana y analizamos el impacto que los micoorganismos han tenido, y continúan teniendo, en los asuntos humanos.

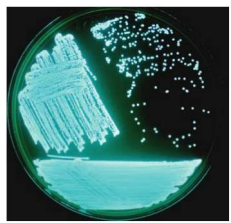

Norbert Pfennig

Thomas D. Brock

(a) (b)

Ricardo Guerrero

(c)


Paul V. Dunlap

(d)

Figura 1.1 Microorganismos. Una célula microbiana aislada puede tener una existencia independiente. Las micrografías muestran microorganismos fotosintéticos llamados bacterias rojas (*a*) y cianobacterias (*b*). Se considera que las bacterias rojas fueron unos de los primeros organismos fotótrofos que aparecieron en la Tierra; las cianobacterias fueron los primeros fotótrofos que produjeron O_2 en nuestro planeta y los responsables de la aparición del oxígeno atmosférico que permitió la evolución de otras formas vivas. En la naturaleza (*c*) o en el laboratorio (*d*) las bacterias pueden crecer en grandes poblaciones. En (*c*) se muestra un abundante crecimiento de bacterias rojas en el pequeño lago Cisó, en España (comparar con las Figuras 1.1a y 1.18). En (*d*) se presenta un cultivo en el laboratorio de células de la bacteria bioluminiscente *Photobacterium leiognathi*, que emite luz. Un mililitro de agua del lago o una colonia de la placa de cultivo contine más de mil millones (10^9) de células.

www.libros.com

1.1 Microbiología

La ciencia microbiológica se centra en dos temas principales: (1) la comprensión de los procesos vitales básicos, y (2) la aplicación de ese conocimiento para beneficio de la humanidad.

Como ciencia biológica básica, la microbiología proporciona y desarrolla herramientas para investigar los procesos fundamentales de la vida. Los científicos han logrado obtener un conocimiento muy sofisticado de las bases químicas y físicas de la vida mediante estudios con microorganismos porque las células microbianas comparten muchas propiedades con las células de los organismos multicelulares; de hecho, *todas* las células tienen mucho en común. Además, las células microbianas pueden crecer en cultivos de laboratorio hasta alcanzar densidades de población muy altas (Figura 1.1*d*), lo que las hace muy adecuadas para estudios bioquímicos y genéticos. Estas características convierten a los microorganismos en modelos excelentes para comprender los procesos celulares en organismos multicelulares, incluido el hombre.

Como ciencia biológica aplicada, la microbiología trata de muchos problemas prácticos importantes en la medicina, la agricultura y la industria. Por ejemplo, la mayoría de las enfermedades de los animales y de las plantas están causadas por microorganismos. Los microorganismos también desempeñan una función destacada como agentes en la fertilidad del suelo y en la producción de animales domésticos. Por otra parte, muchos procesos industriales a gran escala, como la producción de antibióticos y proteínas humanas, se basan en la utilización de microorganismos. En consecuencia, tanto los aspectos perjudiciales como los beneficiosos de los microorganismos inciden en nuestras vidas.

La importancia de los microorganismos

En este libro iremos viendo que los microorganismos desempeñan un papel central tanto en las actividades humanas como en el entramado del conjunto de la vida sobre la Tierra. Aunque son las formas más pequeñas de vida, constituyen en conjunto la biomasa mayor sobre el planeta y realizan muchos procesos químicos que son necesarios para otros organismos. En ausencia de los microorganismos nunca podrían haber surgido otras formas de vida ni podrían mantenerse en la actualidad. Incluso el mismo oxígeno que respiramos es una consecuencia de la actividad microbiana del pasado (Figura 1.1*b*). Además, veremos que el hombre, las plantas y los animales están unidos íntimamente a las actividades microbianas en cuanto al reciclado de los nutrientes esenciales y la degradación de la materia orgánica. Ninguna otra forma de vida tiene una importancia similar a la de los microorganismos para el mantenimiento de la vida sobre la Tierra.

Los microorganismos existieron en la Tierra miles de millones de años antes de la aparición de las plantas y los animales (*véase* Figura 1.6) y, en capítulos posteriores, veremos que la diversidad microbiana supera con mucho a la de plantas y animales. Esta diversidad tan amplia explica algunas de las propiedades más espectaculares de los microorganismos. Por ejemplo, veremos cómo pueden vivir en lugares inadecuados para otros seres vivos y cómo sus variadas capacidades fisiológicas los convierten en los químicos más importantes de la Tierra. Analizaremos la historia evolutiva de los microorganismos y veremos que se pueden distinguir tres grupos fundamentales de células atendiendo a sus relaciones evolutivas. Finalmente, consideraremos cómo han sido capaces de establecer importantes relaciones con otros organismos, unas beneficiosas y otras perjudiciales.

Comenzaremos nuestro estudio considerando la naturaleza celular de los microorganismos.

1.2 Los microorganismos como células

La célula es la unidad fundamental de la vida. Una célula aislada es una entidad aislada de otras por una membrana; muchas células contienen además una pared celular exterior a la membrana. Cada célula contiene una gran variedad de estructuras químicas y componentes subcelulares (**Figura 1.2**). La membrana forma un compartimento que es necesario para mantener una proporción correcta de constituyentes internos de la célula y para protegerlos de fuerzas externas. Pero el hecho de que una célula sea un compartimento no significa que esté cerrada por completo. Por el contrario, la membrana es semipermeable, y por ello, la célula es una es-

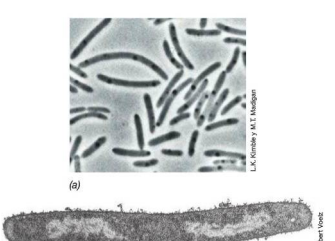


Figura 1.2 (*a*) Micrografía de células bacterianas con forma de bacilo vistas al microscopio óptico; cada célula tiene aproximadamente 1 µm de diámetro. (*b*) Sección longitudinal de una célula en división vista al microscopio electrónico. Las dos áreas más claras representan el nucleoide, región de la célula que contiene el DNA.

tructura abierta y dinámica. Las células tienen comunicación con su medio ambiente e intercambian materiales, realizando cambios continuamente. En los Capítulos 2, 4 y 18 estudiamos la estructura y función de las células con detalle.

Química celular y estructuras esenciales

Las células son estructuras muy organizadas formadas por una mezcla de cuatro componentes químicos: proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y polisacáridos. Estas grandes moléculas se llaman **macromoléculas** y, en conjunto, representan más del 95% del peso seco de una célula (el resto es una mezcla de precursores de las macromoléculas y de iones inorgánicos). La composición química exacta y la disposición de las macromoléculas en los diferentes tipos de células es lo que diferencia a unas de otras. Podemos decir que todas las células tienen mucho en común pero que cada tipo de célula es único desde el punto de vista químico.

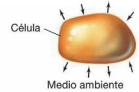
En una célula existen varias estructuras que son clave. La **membrana citoplasmática** (o membrana celular) es la barrera que separa el interior celular del medio externo. Dentro de la membrana celular se encuentran diversas estructuras y sustancias químicas suspendidas o disueltas en un fluido llamado **citoplasma**. La «maquinaria» para el crecimiento y la función celular incluye el núcleo o nucleoide, donde se guarda el **DNA** celular (el **genoma**), y los **ribosomas**, que son estructuras formadas por proteína y **RNA** sobre las que se fabrican nuevas proteínas celulares. La mayoría de las células microbianas contienen además una pared celular. La pared celular es lo que confiere rigidez estructural a la célula y evita su lisis osmótica más bien que la membrana celular.

Características de los sistemas vivos

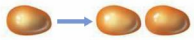
¿Cuáles son las propiedades esenciales de la vida? ¿Qué es lo que diferencia a las células de los objetos inanimados? Nuestro concepto de un organismo vivo está limitado por lo que observamos hoy en la Tierra y por lo que podemos deducir del registro fósil. Pero con el conocimiento actual de la biología podemos identificar varias propiedades que son compartidas por la mayoría de los sistemas vivos. Estas características de los organismos celulares se resumen en la **Figura 1.3**.

Todos los organismos celulares muestran alguna forma de **metabolismo**. Es decir, dentro del entramado del compartimento físico que define a una célula, se toman nutrientes del medio externo y se los transforma químicamente. Durante este proceso se produce energía y se eliminan productos de desecho. Todas las células muestran regeneración y *reproducción*. Es decir, una célula puede reparar y reemplazar sus componentes según lo necesite y además puede acumular muchas copias de cada componente antes de repartirlos en una división que origina dos células. Algunas células experimentan *dife-*

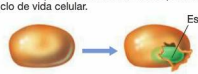
1. Compartimentación y metabolismo
Las células incorporan nutrientes del medio y los transforman, eliminando desechos al medio. La célula es por tanto un sistema *abierto*.



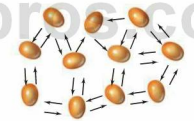
2. Reproducción (crecimiento)
Las sustancias del medio se transforman en nuevas células bajo la dirección genética de células preexistentes.



3. Diferenciación
Algunas células pueden formar una nueva estructura, como la espora, normalmente como parte de un ciclo de vida celular.



4. Comunicación
Las células se *comunican* o *interaccionan* mediante sustancias liberadas o captadas.



5. Movimiento
Algunas células tienen movimiento propio.

6. Evolución
Las células contienen genes y evolucionan adquiriendo nuevas propiedades biológicas. Los árboles filogenéticos muestran las relaciones evolutivas entre las células.

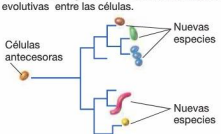


Figura 1.3 Los distintivos de la vida celular.
La diferenciación y la movilidad no son propiedades de todas las células microbianas.

Filibros.com

renciación, que es un proceso por el que se sintetizan nuevas sustancias o estructuras que modifican la célula. Por ejemplo, la diferenciación celular es a menudo parte del ciclo vital de la célula en el que se forman estructuras especiales, como las esporas, relacionadas con la reproducción, la dispersión o la supervivencia.

Las células responden a señales químicas del medio, incluyendo las producidas por otras células. Las células «procesan» estas señales de muchos modos que a veces ponen en marcha actividades nuevas. En consecuencia, las células manifiestan *comunicación*. Muchas son capaces de tener *movimiento* propio; en el mundo bacteriano encontraremos varios mecanismos diferentes de movilidad. Finalmente, a diferencia de las estructuras inertes, las células pueden *evolucionar*; con el tiempo, las células cambian sus características y estos cambios se transmiten a su descendencia.

Las células como máquinas y como sistemas codificados

Las actividades de las células pueden considerarse desde dos aspectos. Por una parte, las células pueden ser como máquinas vivas que realizan transformaciones químicas. Los catalizadores de estas máquinas químicas son las **enzimas**, proteínas que aceleran la velocidad de las reacciones químicas dentro de las células (Figura 1.4). Por otro lado, las células también pueden considerarse como sistemas codificados semejantes a las computadoras. Así como las computadoras guardan y procesan información *digital*, las células guardan y procesan información *genética* (DNA) que pasa finalmente a la descendencia durante la reproducción (Figura 1.4). La duplicación y el procesamiento de esta información genética (transcripción y traducción) se analizará con detalle en el Capítulo 7.

En realidad, las células son tanto máquinas químicas como sistemas codificados, y el enlace entre estos dos atributos es el crecimiento celular. En condiciones adecuadas, una célula viable aumenta de tamaño y al final se divide para formar dos células (Figura 1.4). Durante los procesos que conducen a la división celular, todos los constituyentes de la célula se duplican. Esto implica que la maquinaria química celular debe proporcionar energía y precursores para la síntesis de macromoléculas. Pero cuando una célula se divide, cada una de las dos células resultantes debe contener una copia de la información genética y, por tanto, el DNA debe duplicarse durante la fase de crecimiento (Figura 1.4). En consecuencia, tanto la máquina como el código deben estar funcionando de manera muy coordinada. También, como veremos más adelante, estas dos funciones están sometidas a una regulación que asegura que las sustancias se producen en un orden y a unas concentraciones que son las adecuadas para que la célula se mantenga en sintonía óptima con su medio externo.

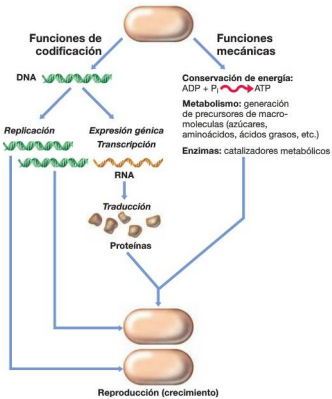


Figura 1.4 La célula tiene funciones mecánicas y de codificación. Para que una célula se reproduzca debe disponer de un suministro adecuado de energía y de precursores para la síntesis de nuevas macromoléculas, el material genético debe duplicarse de modo que cada célula reciba una copia en la división y los genes deben expresarse para formar proteínas y otras macromoléculas.

1.1 y 1.2 Minirrevisión

Los microorganismos incluyen los organismos microscópicos y los virus. La membrana citoplasmática es una barrera que separa el citoplasma del medio externo. Otras estructuras celulares importantes son el núcleo o nucleoide (genoma), el citoplasma, los ribosomas y la pared celular. El metabolismo y la reproducción son características asociadas con el estado vivo, y las células pueden considerarse como máquinas químicas y como sistemas biológicos codificados.

- Cite las cuatro clases de macromoléculas de las celulas.
- Indique seis características de los sistemas vivos. ¿Por qué puede ser importante cada una de esas características para la supervivencia de una célula?
- Compare las funciones de una célula microbiana en cuanto a máquina y sistema de codificación. ¿Por qué ambas son útiles a la célula?

1.3 Los microorganismos y sus ambientes naturales

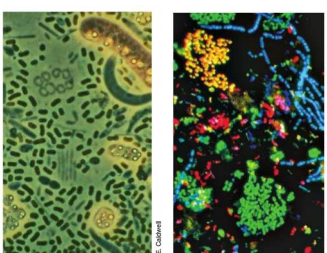
En la naturaleza, las células microbianas viven asociadas a otras en conjuntos llamados poblaciones. Las poblaciones microbianas son grupos de células que derivan de una única célula parental por divisiones celulares sucesivas. El medio en el que se desarrolla una población microbiana se denomina **hábitat**. En los hábitats microbianos, las poblaciones celulares raramente viven aisladas, por lo general se relacionan con otras poblaciones en conjuntos llamados *comunidades microbianas* (**Figura 1.5**). En una comunidad microbiana, la diversidad y abundancia de microorganismos está controlada por los recursos (alimentos) y por las condiciones (temperatura, pH, concentración de oxígeno, etc.) que existen en el medio. El estudio de los microorganismos en sus ambientes naturales constituye la **ecología microbiana**, que es un tema importante en este libro.

Interacciones microbianas

Las poblaciones microbianas interaccionan y cooperan de varios modos, y estas relaciones pueden ser beneficiosas o perjudiciales. Por ejemplo, los productos de desecho de las actividades metabólicas de algunos microorganismos pueden servir de nutrientes para otros. Los microorganismos también interaccionan con su ambiente físico y químico. Las características de los hábitats son notablemente diferentes: un factor que favorece el crecimiento de un microorganismo concreto puede ser dañino para otro. En conjunto, denominamos **ecosistema** a todos los organismos vivos y a las condiciones físicas y químicas de su entorno. Existen importantes ecosistemas en los medios acuáticos (océanos, estanques, lagos, corrientes, hielo, fuentes termales) y en los medios terrestres (suelo, profundidades bajo la superficie), así como en otros organismos (plantas y animales).

Un ecosistema está influenciado —e incluso controlado— por las actividades microbianas. Los procesos metabólicos llevados a cabo por los microorganismos requieren la obtención de nutrientes del ecosistema y su uso para construir nuevas células. Al mismo tiempo, eliminan productos de desecho al medio ambiente. Así, con el tiempo, los ecosistemas microbianos se extienden y contraen en función de los recursos y las condiciones disponibles, de modo que las actividades metabólicas de los microorganismos modifican gradualmente los ecosistemas, tanto desde el punto de vista químico como físico. El hábitat puede cambiar así de modo significativo. Por ejemplo, el oxígeno molecular (O_2) es un nutriente vital para algunos microorganismos pero resulta venenoso para otros. Si los microorganismos que consumen oxígeno (aerobios) agotan el oxígeno de un hábitat convirtiéndolo en anóxico (carente de O_2), las nuevas condiciones pueden favorecer el crecimiento de microorganismos anaerobios previamente presentes en el hábitat pero que eran incapaces de crecer. Por ello, a medida que cambian los recursos y las condiciones en los hábitats microbianos, las poblaciones celulares aumentan o descienden, cambiando de nuevo el hábitat.

En capítulos posteriores, tras aprender detalles sobre la estructura y función de los microorganismos, su genética, evolución y diversidad, volveremos a plantearnos el modo en que los microorganismos afectan a los animales, a las plantas, y al ecosistema global en su conjunto.



(a) (b)

Figura 1.5 Comunidades microbianas. (*a*) Micrografía de una comunidad bacteriana que se desarrolla en las profundidades de un pequeño lago (Lago Wintergreen, Michigan) formada por distintas células bacterianas. (*b*) Comunidad bacteriana de una muestra de sedimentos de aguas residuales. La muestra se tiñó con una serie de colorantes, cada uno de los cuales tiñe un grupo bacteriano diferente. Tomado de R. Amann, J. Snaidr, M. Wagner, W. Ludwig y K.H. Schleifer, 1996. Journal of Bacteriology 178: 3496-3500, Fig. 2b. ©1996 American Society for Microbiology.

1.3 Minirrevisión

Los microorganismos se presentan en la naturaleza como poblaciones que interaccionan con otras poblaciones para formar comunidades microbianas. Las actividades de los microorganismos en estas comunidades pueden afectar de modo importante al hábitat y cambiar rápidamente sus propiedades físicas y químicas.

- ¿Qué es un hábitat microbiano? ¿En qué se diferencia una comunidad microbiana de una población microbiana?
- ¿Cómo cambian los microorganismos las características de sus hábitats?

1.4 Antigüedad y amplitud de la vida microbiana

Los microorganismos fueron las primeras formas vivas que aparecieron sobre la Tierra con las características básicas de los sistemas vivos (Figura 1.3). Ya hemos consi-

derado que las cianobacterias, produciendo oxígeno en la atmósfera terrestre, facilitaron el camino para la evolución de otras formas de vida (Figura 1.1*b*). Pero mucho antes de que aparecieran las cianobacterias, el planeta rebosaba vida y diversas comunidades de microorganismos se habían extendido sobre la Tierra.

Las primeras células

¿De donde procedían las primeras células? ¿Fueron células como las que hoy conocemos las primeras estructuras auto-replicativas de la Tierra? Como todas las células están constituidas de un modo similar, es probable que todas ellas desciendan de una célula antecesora común, el *ancestro universal* de todas las formas de vida. Sin embargo, como veremos más adelante en este libro, es también posible que las primeras entidades auto-replicativas no hayan sido células sino pequeñas moléculas de RNA. No obstante, la evolución seleccionó finalmente la célula como la mejor solución estructural para mantener las características fundamentales de la vida. Una vez que aparecieron las células a partir de materiales inertes, a lo largo de un proceso que duró centenares de millones de años, su crecimiento y su división posterior originó poblaciones celulares que comenzaron a interaccionar como comunidades microbianas. A continuación, la evolución pudo seleccionar mejoras y la diversificación de estas células primitivas dio luego origen a las complejas y variadas células que hoy vemos. Tendremos una muestra de esa complejidad y diversidad en el Capítulo 2 y más tarde consideraremos con detalle este tema en los Capítulos 4 y 15-18. El tema del origen de la vida se tratará en el Capítulo 14.

La vida sobre la Tierra a través del tiempo

La edad de la Tierra es de unos 4,6 miles de millones de años. Los científicos tienen evidencias de que la vida apareció en nuestro planeta hace 3,8-3,9 miles de millones de años y de que estos primeros organismos eran exclusivamente microbianos. De hecho, los microorganismos han sido la única forma de vida en la Tierra durante la mayor parte de su historia (**Figura 1.6**). Poco a poco, y a lo largo de enormes períodos de tiempo, aparecieron los organismos superiores (en este libro nos referiremos a las formas vivas que evolucionaron después de los microorganismos como organismos «superiores»). ¿Cuáles fueron algunos de los hitos más importantes de este camino?.

Durante los 2 primeros miles de millones de años de su existencia, la atmósfera de la Tierra fue anóxica; no había oxígeno, y estaban presentes el nitrógeno (N_2), el dióxido de carbono (CO_2) y otros cuantos gases. En estas condiciones solamente podían vivir microorganismos con metabolismos anaerobios, aunque éstos estaban representados por muchos tipos celulares, entre los que se incluían los llamados *metanógenos*, productores de metano. La aparición de los microorganismos *fotótrofos* —organismos que obtienen energía de la luz solar— ocurrió en los primeros mil millones de años de la historia terrestre. Los primeros fotótrofos fueron relativamente sencillos, como las bacterias rojas y otras bacterias relacionadas con ellas, que en la actualidad aún estan muy distribuidas en hábitats anóxicos (Figura 1.1*a,c*). Casi mil millones de años después, las cianobacterias evolucionaron a partir de estos fotótrofos primitivos y comenzaron el largo y lento proceso de oxigenar la atmósfera (Figura 1.6). A continuación, inducidas por el aumento de oxígeno en la atmósfera, las formas multicelulares evolucionaron hasta culminar más tarde con las plantas y los animales que hoy conocemos (Figura 1.6).

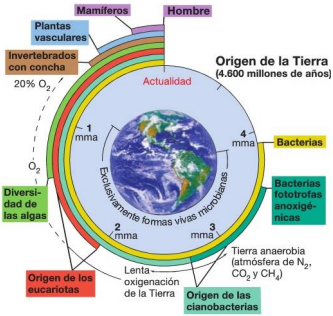


Figura 1.6 Resumen del desarrollo temporal de la vida en la Tierra. La vida celular apareció en nuestro planeta hace aproximadamente 3,8 miles de millones de años (mma). Las cianobacterias comenzaron la lenta oxigenación de nuestro planeta hace unos 3 mil millones de años, pero los niveles actuales de oxígeno en la atmósfera no se alcanzaron hasta hace unos 500-800 millones de años. Las eucariotas son células con núcleo y se presentan tanto en organismos microbianos como pluricelulares.

¿Los pasos evolutivos de la vida ocurrieron de hecho como indica la Figura 1.6?. Es probable que nunca estemos totalmente seguros sobre la respuesta adecuada, pero los microbiólogos han identificado en los organismos actuales componentes químicos esenciales que son biomarcadores de grupos particulares, y restos de muchos de ellos se pueden detectar en rocas antiguas. La línea temporal de la Figura 1.6 permite encajar lo que conocemos sobre fósiles moleculares en rocas de edades específicas. Con el tiempo, los microorganismos se diversificaron y llegaron a colonizar cada hábitat terrestre capaz de mantener vida, ocupando incluso aquellos inadecuados para otras formas de vida. Esto nos lleva a considerar algunos aspectos sobre la distribución actual de la vida microbiana en la Tierra.

Distribución de la vida microbiana

Estamos rodeados de vida microbiana. Un examen de materiales tan naturales como el suelo o el agua siempre revela la presencia de células microbianas, e incluso también pululan los microorganismos en hábitats tan poco comunes como los manantiales de aguas termales o los hielos de los glaciares. Aunque estas células tan diminutas están muy extendidas por toda la Tierra, parecen no tener importancia por su tamaño. Pero si las contásemos veríamos que alcanzan un número sorprendente.

Los cálculos sobre el número de células microbianas existentes en la Tierra señalan que el total es el del orden de 5×10^{30} células. La cantidad total de carbono presente en este número tan enorme de células pequeñas iguala al carbono de todas las plantas de la Tierra (y hay que tener en cuenta que el carbono vegetal supera al carbono de los animales). Pero además, el contenido global de nitrógeno y de fósforo en las células microbianas supera en más de 10 veces el que corresponde a toda la biomasa vegetal.

Por tanto, las células microbianas, por pequeñas que sean, constituyen la mayor porción de biomasa sobre la Tierra y son reservas importantes de nutrientes esenciales para la vida. Resulta igualmente llamativo el hecho de que la mayoría de las células microbianas no se encuentran en la superficie terrestre sino en capas profundas de los océanos y de la corteza terrestre. Como ejemplo, las profundidades de hasta 10 km bajo la superficie aún parecen habitadas por la vida microbiana. Más adelante veremos que tales hábitats mantienen diversas poblaciones de células microbianas que logran vivir mediante estrategias poco comunes y que crecen de manera extremadamente lenta. Sin embargo, debido a que las capas bajo la superficie de la Tierra representan una frontera casi inexplorada, todavía queda mucho por descubrir a fin de conocer y comprender las formas de vida que dominan la biología en nuestro planeta.

1.4 Minirrevisión

Miles de milllones de años antes de que aparecieran los organismos superiores, diversas poblaciones microbianas ya tenían una amplia distribución en la Tierra, y en la actualidad la masa microbiana total en la Tierra supera a la de los organismos superiores. En particular, las cianobacterias fueron importantes porque oxigenaron la atmósfera.

- ¿Fueron celulares las primeras formas de vida? ¿Por qué es la vida celular la única forma de vida que vemos actualmente en la Tierra?
- ¿Cuál es la antigüedad de la Tierra y cuándo aparecieron por primera vez las formas celulares de vida? ¿Cómo puede la ciencia reconstruir la secuencia de los organismos que aparecieron en la Tierra?
- ¿Dónde se localiza la mayoría de células microbianas en la Tierra?

1.5 Impacto de los microorganismos sobre el hombre

Los microbiólogos han tenido mucho éxito al comprender cómo funcionan los microorganismos, así como en diseñar procedimientos para aumentar sus efectos beneficiosos y reducir sus efectos perjudiciales. Por ello la microbiología ha permitido avances importantes en la salud humana y el bienestar. La **Figura 1.7** muestra una visión global del impacto de los microorganismos sobre las actividades humanas.

Los microorganismos como agentes etiológicos de enfermedades

Las cifras de la **Figura 1.8** muestran el éxito de los microbiólogos en el control de los microorganismos. Estos

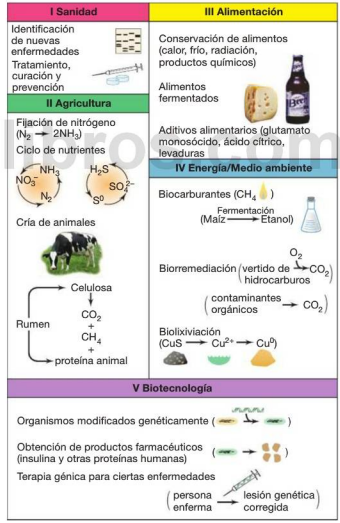


Figura 1.7 Influencia de los microrganismos en la actividad humana. Aunque muchos sólo consideran a los microorganismos en el contexto de las enfermedades infecciosas, en realidad solamente unos cuantos causan enfermedades. Los microorganismos afectan, en cambio, a muchos aspectos de nuestras vidas, como se indica aquí.

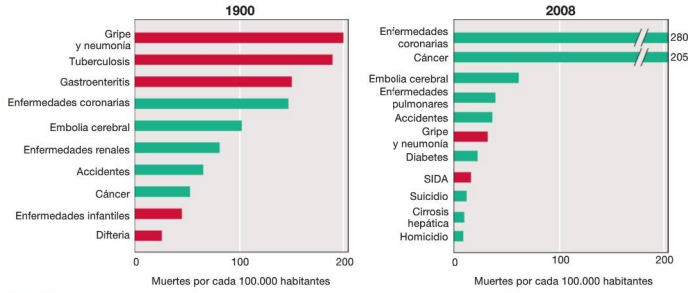


Figura 1.8 Frecuencia de las principales causas de muerte en Estados Unidos en el año 1900 y en el 2008. Las enfermedades infecciosas representaban la principal causa de muerte en 1900, pero hoy son mucho menos importantes. Las enfermedades causadas por microorganismos se muestran en rojo y las de otros orígenes en verde.

datos comparan las causas actuales de muerte en los Estados Unidos con las de hace 100 años. A comienzos del siglo XX, las causas principales de muerte eran las enfermedades infecciosas, que son causadas por los denominados microorganismos **patógenos**. En particular, los niños y los ancianos sucumbían frecuentemente por estas enfermedades. En la actualidad, sin embargo, las enfermedades infecciosas son mucho menos letales, al menos en los países desarrollados. El control de las enfermedades infecciosas se ha logrado por el conocimiento de los procesos de las enfermedades, por las mejoras sanitarias en las prácticas de la salud pública, y por el uso de agentes antimicrobianos. Como trataremos más adelante en este capítulo, la ciencia microbiológica tuvo sus principios en el estudio de las enfermedades infecciosas.

Aunque ahora se pueden controlar muchas enfermedades infecciosas, los microorganismos continúan siendo una amenaza importante para la supervivencia, incluso en países desarrollados. Consideremos, por ejemplo, los individuos que mueren lentamente de una infección microbiana como consecuencia del síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) o aquellos infectados por un patógeno con resistencia múltiple. En muchos países en vías de desarrollo las enfermedades microbianas son aún la principal causa de muerte. Aunque la erradicación de la viruela en el mundo fue un impresionante triunfo de la ciencia médica, todavía mueren millones de personas por enfermedades infecciosas como la malaria, la tuberculosis, el cólera, la enfermedad africana del sueño, el sarampión, la neumonía y otras enfermedades respiratorias, y por síndromes diarreicos severos. Además, la humanidad está amenzada por enfermedades emergentes que pueden surgir de pronto como la gripe aviar, una enfermedad vírica de aves que tiene la capacidad de infectar a hospedadores alternativos y extenderse rápidamente por una población. Otras enfermedades raras y exóticas, como la fiebre hemorrágica por virus ébola, también podrían extenderse muy rápidamente por los países desarrollados debido a que los viajes internacionales son actualmente muy frecuentes. Por si esto fuera poco, cabe considerar la amenaza que suponen quienes pueden emplear agentes microbianos en acciones de bioterrorismo. Parece por tanto evidente que los microorganismos continúan siendo una amenaza para el hombre.

Aunque debemos tener en cuenta esta poderosa amenaza que suponen algunos microorganismos, en realidad la mayoría no son peligrosos para los seres humanos. De hecho, la mayor parte no causa ningún daño a los organismos superiores y son beneficiosos —y en muchos casos incluso esenciales— para el bienestar humano y el buen funcionamiento del planeta. Consideraremos ahora estos aspectos favorables de los microorganismos.

Los microorganismos y la agricultura

Muchos aspectos importantes de nuestro sistema de agricultura intensiva dependen por completo de las actividades microbianas en (Figura 1.7). Por ejemplo, muchas cosechas se deben al cultivo de plantas llamadas *leguminosas*, que viven en estrecha asociación con bacterias específicas que forman estructuras en sus raíces llamadas *nódulos*. En estos nódulos radiculares las bacterias convierten el nitrógeno atmosférico (N_2) en nitrógeno fijado (NH_3) que las plantas utilizan para crecer. Gracias a las actividades de estas bacterias fijadoras de nitrógeno las plantas reducen la necesidad de costosos fertilizantes nitrogenados que pueden ser además agentes contaminantes.

También tienen gran importancia agrícola los microorganismos que ayudan al proceso digestivo en los animales rumiantes, como las vacas y las ovejas. Estos animales domésticos tienen un órgano digestivo especial denominado el *rumen*, donde una densa población de microorganismos realiza la digestión de la celulosa, que es el componente mayoritario de las paredes celulares vegetales. Sin estos microorganismos, las vacas y las ovejas no podrían digerir este nutriente ni alimentarse por tanto de materiales tan pobres como la hierba y el heno.

Los microorganismos también desempeñan papeles importantes en el reciclado de elementos que son esenciales en la nutrición vegetal, en particular del carbono, nitrógeno y azufre. En el suelo y en el agua, las actividades microbianas convierten estos elementos a formas que son fácilmente asimilables por las plantas. Sin embargo, además de beneficiosos, los microorganismos también pueden acarrear perjuicios a la industria agrícola, pues las enfermedades de plantas y animales causan pérdidas económicas notables. Por ejemplo, enfermedades como el síndrome de las vacas locas pueden tener efectos dramáticos sobre la comercialización de la carne, así como las enfermedades sobre las cosechas puede reducir la cantidad de granos y otros productos valiosos de origen vegetal.

Los microorganismos y los alimentos

Una vez obtenidas para el consumo las cosechas, los productos agrícolas o los animales, éstos deben llegar de forma adecuada a los consumidores. De ahí que los microorganismos tengan funciones relevantes en la industria alimentaria (Figura 1.7), pues el deterioro de los alimentos ocasiona enormes pérdidas anuales. Las industrias de enlatado, de alimentos congelados o de alimentos desecados se han desarrollado para la conservación de alimentos que de otro modo sufrirían deterioro por microorganismos. Las enfermedades transmitidas por alimentos también son dignas de consideración. Como el alimento adecuado para el consumo humano puede servir también para sustentar el crecimiento de muchos microorganismos, incluso patógenos, los alimentos deben prepararse adecuadamente y estar bajo control sanitario para evitar la transmisión de microorganismos causantes de enfermedades.

Sin embargo, no todos los microorganismos presentes en los alimentos tienen efectos indeseables sobre los productos alimenticios o sobre los consumidores. Por ejemplo, muchos productos lácteos dependen de transformaciones microbianas, como las fermentaciones que originan quesos, el yogurt o la mantequilla. De modo similar, la col ácida, los pepinillos y algunas variedades de salchichas deben también sus propiedades a fermentaciones microbianas. Además, los alimentos de panadería y las bebidas alcohólicas se originan por las actividades fermentativas de las levaduras, que forman como ingredientes importantes dióxido de carbono (CO_2) para levantar la masa y alcohol, respectivamente. Muchas de estas fermentaciones se analizan en los Capítulos 21, 25 y 37.

Microorganismos, energía y medio ambiente

Los microorganismos son importantes en la producción de energía (Figura 1.7). El gas natural (metano) es un resultado de la actividad microbiana, pues se origina en el metabolismo de las bacterias metanogénicas. Los microorganismos fotótrofos pueden utilizar la energía de la luz para la producción de biomasa, que es energía acumulada en forma de organismos vivos. La biomasa microbiana y los materiales de desecho, como la basura doméstica, los excedentes de cosechas y los residuos animales, se pueden convertir en biocombustibles, como el metano y el etanol, por las actividades degradativas de los microorganismos. En algunos países, como Brasil, el etanol que se produce durante la fermentación microbiana de la glucosa de la caña de azúcar o del almidón del maiz constituye el principal combustible, y este producto es un componente cada vez más importante entre los combustibles de los Estados Unidos.

Los microoganismos también se pueden usar para eliminar la contaminación creada por las actividades humanas mediante la *biorremediación microbiana* (Figura 1.7). Los microorganismos se emplean en la eliminación de vertidos de petróleo, disolventes, pesticidas y otros productos tóxicos que contaminan el medio ambiente. Si cesara la producción de contaminantes, las áreas contaminadas podrían limpiarse a lo largo del tiempo sin la intervención humana, gracias a las actividades de microorganismos que existen en la naturaleza. La biorremediación lo que hace es acelerar este proceso de limpieza natural mediante la introducción de microorganismos que consumen los agentes contaminantes o mediante la adición de nutrientes que ayudan a estos microorganismos degradativos. En la enorme diversidad de microorganismos presentes en la Tierra existen recursos genéticos muy amplios. Los investigadores están actualmente estudiando estos genes para desarrollar nuevas soluciones a los desafíos que plantean los problemas de la contaminación.

Los microorganismos y sus recursos genéticos

Además de limpiar el ambiente, se puede poner en funcionamiento la riqueza genética del mundo microbiano para obtener productos de interés comercial. Durante siglos, los microorganismos se han empleado para obtener productos derivados de la leche, bebidas alcohólicas y procesos similares. Más recientemente, se han cultivado a gran escala para producir antibióticos, enzimas específicas y otros compuestos muy diversos. Actualmente vivimos en el mundo de la biotecnología, que

www.medi

utiliza con frecuencia microorganismos modificados genéticamenre para sintetizar productos de muy elevado valor comercial (Capítulo 26). La Biotecnología usa los instrumentos de la ingeniería genética, es decir, la manipulación artificial de los genes y de sus productos (Figura 1.7). Es posible modificar genes de cualquier origen empleando como herramientas moleculares a los microorganismos y sus enzimas. Por ejemplo, la insulina humana, que es una hormona producida a muy bajo nivel en pacientes con diabetes, se obtiene en la actualidad de bacterias modificadas que llevan insertado el gen de la insulina humana. Con el empleo de la **genómica**, la secuenciación y el análisis de genomas (Capítulo 13), es posible buscar la presencia de genes que codifiquen proteínas de interés comercial entre la dotación genética de cualquier organismo. Hoy es una operación rutinaria clonar en un hospedador adecuado un gen determinado y producir luego la correspondiente proteína a una escala que satisfaga las demandas comerciales.

La microbiología como profesión

El campo de la microbiología está lleno de oportunidades para quienes buscan una profesión científica atractiva y gratificante. Por ejemplo, los microbiólogos ocupan puestos de vanguardia en la medicina clínica, desarrollando y aplicando métodos de diagnóstico para las enfermedades infecciosas y para su tratamiento. Frecuentemente, la base de estos logros es la investigación innovadora llevada a cabo en las compañías farmacéuticas, químicas, bioquímicas y biotecnológicas, donde los microbiólogos desarrollan sus actividades científicas. Además, los microbiólogos son importantes en la industria alimentaria, en instituciones sanitarias, en laboratorios de investigación pública y privada, en la realización de análisis medioambientales, y en la enseñanza de las ciencias biológicas. Además de poder manejar los principios de una de las disciplinas más fascinantes de las ciencias biológicas, los estudiantes de microbiología tienen ahora mucha s opciones para dirigir su interés por la biología hacia una profesión emocionante y gratificante.

A estas alturas de nuestro capítulo inicial, debemos tener clara la enorme influencia de los microorganismos en muchos aspectos de la sociedad humana. Tenemos muchas razones para ser conscientes de que las actividades de los microorganismos pueden acarrear beneficios o perjuicios potenciales para el hombre. En palabras de uno de los fundadores de la microbiología moderna, el eminente científico francés Louis Pasteur, «En la naturaleza, el papel de lo infinitamente pequeño es infinitamente grande». Continuaremos nuestro viaje por el mundo microbiano considerando, a modo de panorámica histórica, las principales contribuciones de Pasteur y otros microbiólogos pioneros a la ciencia de la microbiología tal como hoy la conocemos.

1.5 Minirrevisión

Los microorganismos pueden ser tanto beneficiosos como perjudiciales para el hombre. Aunque tendemos a resaltar los aspectos perjudiciales (agentes de enfermedades infecciosas), en la naturaleza hay muchos más microorganismos beneficiosos que perjudiciales.

- ¿De qué modo son importantes los microorganismos en la industria alimentaria y en la agricultura?
- Indique dos combustibles de origen microbiano.
- ¿Qué es la biotecnología y como puede mejorar la vida del hombre?

II LOS CAMINOS DEL DESCUBRIMIENTO EN MICROBIOLOGÍA

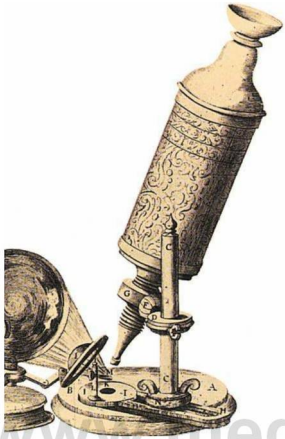
Como cualquier ciencia, la microbiología debe mucho a su pasado. Aunque se pueden encontrar raíces más profundas, la ciencia de la microbiología no se desarrolló realmente hasta el siglo XIX. Desde entonces se ha extendido hasta originar nuevos campos de conocimiento relacionados entre sí. Ahora consideraremos algunos de los hitos que llevaron a importantes descubrimientos.

1.6 Las raíces históricas de la microbiología: Hooke, van Leeuwenhoek y Cohn

Aunque durante mucho tiempo se sospechó la existencia de criaturas demasiado pequeñas para ser percibidas a simple vista, su descubrimiento estuvo relacionado con la invención del microscopio. Robert Hooke (1635-1703), un matemático y naturalista inglés, fue tambien un excelente microscopista. En su famosos libro *Micrographia* (1665), que fue el primero dedicado a observaciones microscópicas, Hooke describió, entre otras cosas, los cuerpos fructificantes de los mohos (**Figura 1.9**), lo que representa la primera descripción conocida de los microorganismos. La primera persona que vió bacterias fue le comerciante holandés Antoni van Leeuwenhoek (1632-1723), que también era un aficionado a construir microscopios. En 1684, van Leeuwenhoek, que ya conocia el trabajo de Hooke, empleó microscopios muy simples de construcción propia (**Figura 1.10**) para examinar el contenido microbiano de varias sustancias naturales.

Comparados con los actuales, los microscopios de van Leeuwenhoek eran muy primitivos, pero mediante una cuidadosa manipulación y un buen enfoque fue capaz de ver bacterias, que son mucho más pequeñas que los mohos. En 1676 observó bacterias mientras analizaba infusiones de pimienta y describió sus observaciones en una serie de cartas dirigidas a la Royal Society de Londres,

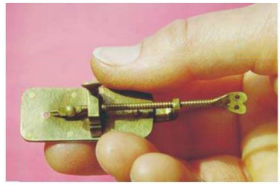
www.elibros.com



(a)

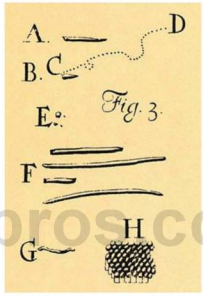
(b)

Figura 1.9 Robert Hooke y los orígenes de la microscopía. (*a*) Dibujo del microscopio utilizado por Robert Hooke en 1664. La lente objetivo se encajaba al final de un fuelle ajustable (G) y la iluminación se concentraba en la muestra por una lente sencilla (1). (*b*) Dibujo de Robert Hooke en su *Micrographia*, publicada en 1655, que representa la primera decripción de un microorganismo: se trata de un moho azulado creciendo en la superficie de un trozo de cuero; las estructuras redondeadas son esporangios que contienen las esporas del moho.

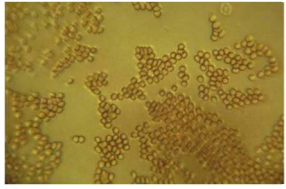


T. D. Brock

(a)



(b)



Brian J. Ford

(c)

Figura 1.10 El microscopio de van Leeuwenhoek. (*a*) Fotografía de una copia del microscopio de van Leeuwenhoek. La lente se montaba sobre una placa de latón cerca del extremo del tornillo ajustable de enfoque. (*b*) Dibujos de van Leeuwenhoek de bacterias, publicados en 1684. En estos sencillos dibujos podemos reconocer varios tipos morfológicos de bacterias frecuentes. A, C, F y G, formas bacilares; E, formas esféricas o cocos; H, grupos de cocos. (c) Micrografía de una extensión de sangre humana vista a través de un microscopio de van Leeuwenhoek. Se aprecian claramente los góbulos rojos, que tienen aproximadamente 6 μm de diámetro.

www.medilibros.com

que las publicó en 1684 traducidas al inglés. En la Figura 1.10*b* se muestran dibujos de lo que denominó «pequeños animálculos».

Pasados los años, sus observaciones fueron confirmadas por otros, pero durante casi 150 años los avances en el conocimiento de la naturaleza e importancia de estos pequeños organismos fueron muy lentos. En el siglo XIX, cuando los microscopios fueron mejorados y se generalizó su uso, el alcance y la naturaleza de las formas microbianas de vida se convirtió en algo más evidente.

Desde mediados del siglo XIX hasta finales del mismo se registraron importantes descubrimientos en la ciencia microbiológica, fundamentalmente porque se dedicó atención a dos cuestiones inquietantes que dominaban la biología y la medicina de aquel tiempo: (1) la cuestión de la generación espontánea y (2) la naturaleza de las enfermedades infecciosas. Las respuestas a estas incógnitas surgieron sobre todo del trabajo de dos gigantes en el campo de la microbiología, el químico francés Louis Pasteur y el médico alemán Robert Koch. Pero antes de analizar sus aportaciones, debemos considerar la importante contribución del botánico alemán Ferdinand Cohn, contemporáneo de Pasteur y de Koch, que fue el fundador de lo que ahora llamamos *bacteriología*.

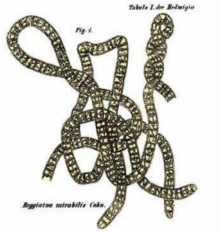


Figura 1.11 **Dibujo realizado por Ferdinand Cohn en 1866 de la bacteria filamentosa oxidante de azufre *Beggiatoa mirabilis*.** Los pequeños gránulos intracelulares son de azufre elemental producido por la oxidación de sulfhídrico (H_2S). Cohn fue el primero en identificar estos gránulos como azufre. Una célula de *B. mirabilis* tiene aproximadamente 15 μm de diametro.

Ferdinand Cohn y la ciencia de la bacteriología

Ferdinand Cohn (1828-1898) nació en Breslau (en la actual Polonia). Se formó inicialmente como botánico y llegó a ser un excelente microscopista. Su interés por la microscopía le llevó primero al estudio de plantas unicelulares —algas— y más tarde a las bacterias fotosintéticas. Cohn pensaba que todas las bacterias, incluso las que carecen de pigmentos fotosintéticos, eran miembros del reino vegetal, y sus estudios de microscopía sobre plantas y algas le condujeron gradualmente al estudio de diversas bacterias, como la bacteria oxidante de azufre *Beggiatoa* (**Figura 1.11**).

En particular, Cohn se interesó por la resistencia de las bacterias al calor, lo que le llevó a descubrir el importante grupo de las bacterias que forman endosporas. Ahora sabemos que las endosporas bacterianas son muy resistentes a la temperatura. Cohn describió el ciclo de vida completo de *Bacillus*, que es una bacteria formadora de endosporas (células vegetativas → endosporas → células vegetativas), y observó que las células vegetativas de *Bacillus* morían por ebullición, pero no las endosporas. El hallazgo de Cohn sobre las endosporas ayudó a explicar por qué sus contemporáneos, como el científico irlandés John Tyndall, habían encontrado que la ebullición era generalmente un método apropiado para evitar que las infusiones líquidas permitieran el crecimiento microbiano, aunque no siempre era así.

Cohn continuó trabajando con bacterias hasta su jubilación, contribuyendo de muchas maneras al desarrollo de la bacteriología, aportando las bases experimentales para un esquema de clasificación de las bacterias y fundando una importante revista científica sobre biología vegetal y microbiana. En su época, Cohn fue un entusiasta defensor de las técnicas y las investigaciones desarrolladas por el fundador de la microbiología médica Robert Koch. También se debe a Cohn haber ideado métodos simples y efectivos para evitar la contaminación de medios de cultivo estériles, como el uso de algodón para tapar los tubos y los matraces. Estos métodos fueron usados posteriormente por Koch y permitieron grandes avances como el aislamiento y la caracterización de bacterias causantes de enfermedades (Sección 1.8).

1.6 Minirrevisión

Robert Hooke fue el primero en describir microorganismos y Antoni van Leeuwenhoek el primero en describir bacterias. Ferdinand Cohn fundó la bacteriología y descubrió las endosporas bacterianas.

- ¿Qué frenaba el desarrollo de la microbiología antes de Antoni van Leeuwenhoek?
- ¿Qué descubrió Cohn estudiando la resistencia al calor de los microorganismos?

1.7 Pasteur y la derrota de la generación espontánea

La segunda parte del siglo XIX supuso un gran desarrollo para la microbiología. El concepto de la generación espontánea fue abandonado y apareció la ciencia del cultivo puro. En esta época destacan grandes figuras científicas, y el primero de ellos es el francés Louis Pasteur (1822-1895), que fue contemporáneo de Cohn.

Isómeros ópticos y fermentaciones

Pasteur se formó como químico y fue unos de los primeros científicos que reconoció la importancia de los isómeros ópticos (*véase* Sección 3.6). Una molécula es ópticamente activa si difracta la luz en una sola dirección cuando está en solución o en forma cristalizada. Pasteur estudió cristales de ácido tartárico que había separado a mano según desviaran un haz de luz polarizada hacia la derecha o hacia la izquierda (**Figura 1.12**). Eligió el tartrato porque era un producto de desecho en el proceso de vinificación, abundante en Francia, y también por su facilidad para cristalizar. Pasteur descubrió que el hongo *Aspergillus* sólo metabolizaba D-tartrato y no su isómero óptico, el L-tartrato. El hecho de que un organismo vivo fuera capaz de distinguir entre los isómeros ópticos tuvo una profunda significación para Pasteur, que consideró que los procesos vitales eran fundamentalmente asimétricos a diferencia de los procesos químicos inanimados. Según él, sólo los seres vivos mostraban selectividad para producir o consumir isómeros ópticos.

Los trabajos de Pasteur sobre la asimetría le llevaron al análisis de las fermentaciones y, en último término, a la cuestión de la generación espontánea. Los industriales locales tenían problemas para la obtención de alcohol por fermentación del azúcar de remolacha e invitaron a Pasteur a realizar un estudio detallado de la fermentación alcohólica, que por entonces se consideraba que era un proceso estrictamente químico. Se interpretaba que las células de levadura que aparecían en los caldos de fermentación eran sustancias químicas complejas y se originaban como resultado de la fermentación, en vez de actuar como catalizadores del proceso. Uno de los productos laterales de la fermentación es el alcohol amílico, que Pasteur detectó en el liquido de fermentación encontrando que era ópticamente activo. Las observaciones microscópicas de Pasteur, junto a sus experimentos simples pero rigurosos, demostraron que la fermentación alcohólica estaba catalizada por las levaduras. En sus propias palabras «…la fermentación está asociada a la vida y a la integridad estructural de las células y no a su muerte o desaparición». Sobre estas bases, Pasteur inició una serie de experimentos clásicos sobre la generación espontánea que han ligado para siempre su nombre con la microbiología.

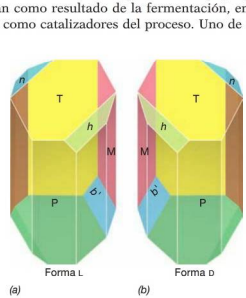


Figura 1.12 Dibujos de Louis Pasteur sobre la cristalización del ácido tartárico ($C_4H_6O_6$) que ilustran su famoso trabajo sobre la actividad óptica. (*a*) Cristal levógiro (forma L). (*b*) Cristal dextrógiro (forma D). Los dos cristales son imágenes especulares (*véase* Sección 3.6). Pasteur marcó con letras las caras de los cristales para destacar que los cristales son imágenes especulares. Se ha añadido color para facilitar esta observación.

La generación espontánea

El concepto de **generación espontánea** existía desde los tiempos bíblicos. La idea básica de esta teoría puede comprenderse fácilmente. El alimento se pudre si permanece durante cierto tiempo a la intemperie. Cuando este material putrefacto se examina al microscopio se encuentra que está repleto de bacterias y tal vez de otros organismos superiores, como gusanos. ¿De dónde provienen estas bacterias que no se ven en el alimento fresco? Algunos pensaban que provenían de semillas o gérmenes que llegaban al alimento a través del aire, mientras otros opinaban que se originaban a partir del material inerte por generación espontánea. Para aclarar esta controversia se necesitaba un enfoque inteligente, y este tipo de problema fue el que atrajo la atención de Luois Pasteur.

Pasteur fue un ferviente adversario de la generación espontánea. Tras sus descubrimientos sobre la fermentación, demostró que en el aire había estructuras que se parecían mucho a los microorganismos encontrados en el material putrefacto y concluyó que aquellos presentes en dicho material derivaban de los que había en el aire y en la superficie de los recipientes que los contenían. Además, postuló que dichas células en suspensión se depositan constantemente sobre todos los objetos y que crecen cuando las condiciones son favorables. Pasteur pensó que, si sus suposiciones eran correctas, entonces no debería estropearse un alimento tratado de tal modo que todos los organismos que lo contaminaran fueran destruidos, es decir, que los alimentos **estériles** resultarían protegidos.

Pasteur empleó calor para eliminar los contaminantes, pues otros investigadores habían demostrado que si una solución de nutrientes se introducía en un matraz de vidrio, se sellaba y se calentaba luego hasta ebullición no se descomponía (por supuesto, si no contenía endosporas; véase la aportación de Cohn). La eliminación de todas las bacterias y otros organismos de un objeto es el proceso llamado *esterilización*. Los defensores de la generación espontánea criticaban tales experimentos argumentando que se necesitaba aire fresco para la generación espontánea y que el calentamiento del aire dentro del matraz cerrado no era capaz de permitir el proceso. En 1864 Pasteur superó esta objeción de modo

simple y brillante construyendo un matraz con forma de cuello de cisne, que ahora se designa como *matraz Pasteur* (**Figura 1.13**). En tales recipientes las soluciones nutritivas se podían calentar hasta ebullición esterilizándose y, después, cuando el matraz se enfriaba, el aire podía entrar de nuevo, pero la curvatura del cuello del matraz evitaba que el material particulado conteniendo microorganimos alcanzase el interior del matraz e iniciara la putrefacción.

El material esterilizado en un matraz Pasteur no se descomponía y no aparecían microorganismos mientras el cuello del matraz no contactara con el líquido estéril. Sin embargo, bastaba con que el matraz se inclinara lo suficiente como para permitir que el líquido estéril contactara con el cuello, para que ocurriera la putrefacción y el líquido se llenara de microorganismos. Este sencillo experimento fue clave para aclarar definitivamente la controversia sobre la generación espontánea y para que la ciencia de la microbiología avanzara sobre bases firmes. El trabajo de Pasteur también supuso el desarrollo de métodos eficaces de esterilización que favorecieron tanto la investigación básica como la aplicada. La ciencia de los alimentos también tiene una deuda con Pasteur, pues sus principios son los que se utilizan en el envasado y conservación de la leche y otros alimentos (pasteurización). **www.microbiologyplace.com Tutorial online 1.1: El experimento de Pasteur.**

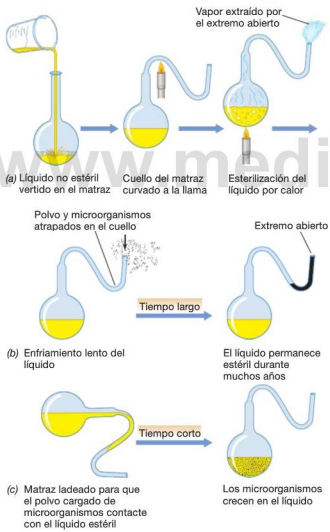


Figura 1.13 La derrota de la generación espontánea: experimento de Pasteur con matraces de cuello de cisne. (*a*) Esterilización del contenido del matraz. (*b*) Si el matraz se mantiene en posición vertical no hay crecimiento microbiano. (*c*) Si los microorganismos atrapados en el cuello alcanzan el líquido estéril, crecen rápidamente.

Otros éxitos de Pasteur

Pasteur consiguió otros muchos éxitos en microbiología y medicina. Entre los principales destaca el desarrollo de vacunas contra enfermedades como el carbunco, el cólera aviar y la rabia durante el perído de 1880-1890. Su famoso trabajo sobre la rabia culminó en julio de 1885 con la primera administración de la vacuna de la rabia al hombre, en la persona de un joven francés llamado Joseph Meister que había sido mordido por un perro rabioso. Entonces, la mordedura por un perro rabioso significaba la muerte. La noticia del éxito de la vacunación de Meister y la del joven pastor Jean Baptiste Jupille (**Figura 1.14*a***), administrada poco después, se extendió rápidamente y en tan solo un año cerca de 2.500 personas viajaron a París para ser vacunados.

La fama de Pasteur se convirtió en leyenda y condujo a la construcción en 1888 del Instituto Pasteur por el gobierno francés. Inicialmente fue un centro clínico para el tratamiento de la rabia y otras enfermedades infecciosas, y hoy constituye un importante centro de investigación biomédica especializado en la producción de antisueros y vacunas (Figura 1.14*b*). Los avances médicos y veterinarios de Pasteur no sólo tuvieron importancia por sí mismos, sino que permitieron que arraigara el concepto de la teoría microbiana de las enfermedades infecciosas, cuyos principios estaban siendo desarrollados por entonces por otro gran científico contemporáneo, Robert Koch.

1.7 Minirrevisión

Louis Pasteur es recordado sobre todo por sus ingeniosos experimentos que demostraron que los organismos vivos no se generan espontáneamente de la materia inerte. Su trabajo en este área permitió desarrollar muchas técnicas básicas que son esenciales en microbiología, como el concepto y la práctica de la esterilización.

- Defina el término estéril.
- ¿Cómo demostró Pasteur mediante su experimento con matraces de cuello de cisne que no existe la generación espontánea?

www.modilibros.com

(a)

(b)

Figura 1.14 **Símbolos de las contribuciones de Pasteur a la microbiología.** (*a*) Un billete de 5 francos franceses que presenta un retrato de Pasteur y referencias a sus muchos logros científicos. Se muestra al joven pastor Jean Baptiste Jupille separando a un perro rabioso que había atacado a un grupo de niños. La vacuna de Pasteur contra la rabia salvó la vida de Jupille. En Francia, el franco precedió como moneda al euro. (*b*) El Instituto Pasteur de París, Francia. La foto corresponde a la estructura original construida por el gobierno francés para Pasteur, que fue terminada en 1888. El actual Instituto Pasteur ocupa un área con varios edificios. En el edificio inicial se encuentra la tumba de Pasteur y un museo que muestra sus matraces originales de cuello de cisne y otros instrumentos científicos.

1.8 Koch, la enfermedad infecciosa y la microbiología del cultivo puro

La prueba de que los microorganismos podían causar enfermedades aportó un gran ímpetu al desarrollo de la ciencia de la microbiología. En realidad, ya en el siglo XVI se pensaba que se podía transmitir «algo» de una persona enferma a otra sana y producir en ésta la enfermedad de la primera. Tras el descubrimiento de los microorganismos, se sospechaba que éstos pudieran ser responsables de enfermedades, pero faltaban las pruebas definitivas. Las mejoras sanitarias preconizadas por Ignaz Semmelweis y Joseph Lister suministraron pruebas indirectas sobre la importancia de los microorganismos como causa de enfermedades en el hombre, pero para que ese concepto de la enfermedad infecciosa fuera experimentalmente probado hubo que esperar hasta los trabajos del médico alemán Robert Koch (1843-1910).

La teoría microbiana de las enfermedades infecciosas y los postulados de Koch

En su trabajo inicial Koch estudió el carbunco, una enfermedad del ganado que en ocasiones afecta al hombre, y que está causada por una bacteria formadora de endosporas llamada *Bacillus anthracis*. Mediante cuidadosos estudios de microscopía y el uso de colorantes especiales, Koch puso de manifiesto que la bacteria estaba siempre presente en la sangre de los animales infectados. Sin embargo, la mera asociación de la bacteria con la enfermedad, no demostraba que la bacteria fuera la causa de la enfermedad; por el contrario, podía ser un efecto de la misma. ¿Cómo podría diferenciarse la causa y el efecto? Koch percibió que esta enfermedad ofrecía la oportunidad de abordar esta cuestión experimentalmente; sus resultados establecieron pautas que todavía se siguen en la actualidad para el estudio de las enfermedades infecciosas.

Koch empleó ratones como animales experimentales. Usando los controles apropiados, demostró que cuando una pequeña cantidad de sangre de un ratón enfermo se inyectaba en uno sano se provocaba rápidamente en éste la aparición de carbunco. Tomando sangre de este segundo animal e inyectándola en otro, obtenía de nuevo los síntomas de la enfermedad. Koch llevó este experimento aún más lejos. También demostró que la bacteria podía ser cultivada en caldos nutritivos fuera del animal y que, incluso después de muchas resiembras o transferencias de cultivo, la bacteria podía causar la enfermedad cuando se reinoculaba a un animal sano.

Mediante experimentos de este tipo y otros relacionados, llevados a cabo en sus trabajos sobre el agente causante de la tuberculosis, Koch formuló una serie de criterios rigurosos, conocidos en la actualidad como **postulados de Koch**, para demostrar que un tipo concreto de microorganismo es el agente etiológico de una enfermedad específica:

1. El organismo causante de la enfermedad debe estar siempre presente en los animales que sufran la enfermedad y no en individuos sanos.
2. El organismo debe cultivarse en cultivo axénico o puro fuera del cuerpo del animal.
3. Cuando dicho cultivo se inocula a un animal susceptible, debe iniciar en él los síntomas característicos de la enfermedad.
4. El organismo debe aislarse nuevamente de estos animales experimentales y cultivarse de nuevo en el laboratorio, tras lo cual debe mostrar las mismas propiedades que el organismo original.

www.medilibros.com

Los postulados de Koch se resumen en la **Figura 1.15**. Estos postulados dieron un enorme impulso al estudio de las enfermedades infecciosas, pues no sólo permitieron establecer la relación entre causa y efecto en este tipo de enfermedades sino que pusieron de manifiesto la importancia de cultivar en el laboratorio a los agentes específicos. Usando estos postulados como guía, Koch, sus discípulos y otros investigadores posteriores lograron descubrir los agentes causales de la mayoría de las enfermedades infecciosas importantes que afectan al hombre y a los animales. A su vez, estos descubrimientos condujeron al establecimiento de tratamientos adecuados para la prevención y cura de muchas enfermedades infecciosas, ampliándose de este modo las bases científicas de la medicina clínica y del bienestar humano.

Koch y los cultivos puros

Para relacionar un microorganismo específico con una enfermedad determinada, el microorganismo debe ser aislado primero de otros microorganismos en un cultivo de laboratorio; en microbiología ese cultivo de denomina *puro*. Este concepto fue recogido por Koch en la formulación de sus famosos postulados (Figura 1.15) y desarrolló varios métodos ingeniosos para obtener cultivos puros (*véase* Información adicional sobre «Medios sólidos, las placas de Petri y los cultivos puros»).

Koch empezó estos estudios de forma rudimentaria, usando nutrientes sólidos para cultivar bacterias, como la superficie de una rebanada de patata, pero pronto diseñó métodos más fiables, muchos de los cuales aún se usan en la actualidad. Koch observó que cuando se exponía al aire la superficie de un nutriente sólido se desarrollaban

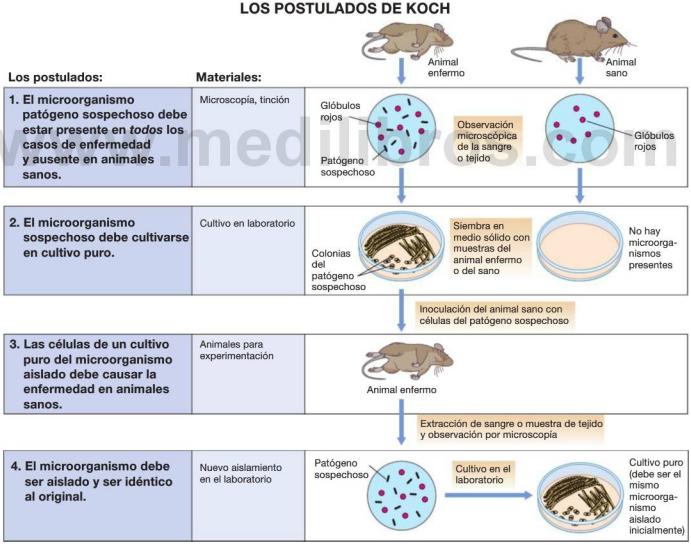


Figura 1.15 **Los postulados de Koch para demostrar que un determinado microorganismo causa una enfermedad específica.** Es esencial que, tras el aislamiento del microorganismo patógeno sospechoso en cultivo puro, un cultivo de dicho micoorganismo en el laboratorio sea capaz de producir la enfermedad y pueda ser recuperado del animal enfermo. Resulta necesario determinar las condiciones apropiadas para que el microorganismo sea capaz de crecer, pues de otro modo no podrá ser aislado.

colonias bacterianas que tenían formas y colores característicos. Dedujo que cada colonia se originaba a partir de una sola célula bacteriana que había caído sobre la superficie y en presencia de los nutrientes adecuados se había multiplicado. Cada colonia era por lo tanto una población de células idénticas, es decir, cada colonia representaba un **cultivo axénico o puro**. Koch se dio cuenta de que este descubrimiento suponía un sencillo procedimiento para obtener cultivos puros. Como muchos organismos no crecen en rebanadas de patatas, Koch ideó caldos nutritivos más uniformes y reproducibles solidificados con gelatina y, más tarde, con agar (*véase* el apartado de Información adicional).

Una prueba para los postulados de Koch: la tuberculosis

El mayor logro de Koch en la bacteriología médica está relacionado con la tuberculosis. Cuando Koch comenzó estos estudios (1881), una de cada siete muertes en humanos era debida a la tuberculosis. Aunque en aquel tiempo se sospechaba que la tuberculosis era una enfermedad contagiosa, el organismo responsable no se había visto en los tejidos de enfermos ni en cultivo. Koch se propuso detectar el agente causante de la enfermedad y para ello empleó todos los métodos que había desarrollado cuidadosamente en los estudios previos sobre el carbunco: microscopía, tinción de tejidos, aislamiento en cultivo puro e inoculación en animales (Figura 1.15).

Como sabemos ahora, el bacilo de la tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, es muy difícil de teñir debido a que posee grandes cantidades de lípidos en su pared celular. Pero Koch diseñó un procedimiento para teñir *M. tuberculosis* en muestras de tejidos usando azul de metileno alcalino y un segundo colorante (marrón Bismark) que teñía sólo los tejidos. Por este método Koch observó las células bacilares de *M. tuberculosis* teñidas de azul en tejidos tuberculosos, mientras éstos últimos quedaban teñidos de marrón claro (**Figura 1.16**). Sin embargo, por su trabajo anterior sobre el carbunco, Koch era consciente de que *identificar* a un microorganismo asociado con la tuberculosis no era suficiente y que debía cultivar el microorganismo para demostrar que era la causa específica de la tuberculosis.

La obtención de cultivos de *M. tuberculosis* no fue tarea fácil, pero finalmente Koch tuvo éxito al obtener colonias de este organismo sobre suero de sangre coagulada. Posteriormente usó agar, que acababa de ser introducido como agente solidificante (*véase* el apartado de Información adicional). En condiciones óptimas *M. tuberculosis* crece muy lentamente en cultivo, pero la persistencia y paciencia de Koch hicieron posible la obtención de cultivos puros de este organismo a partir de diversas fuentes de origen humano y animal.

Con estos precedentes, más tarde fue relativamente sencillo para Koch usar sus postulados (Figura 1.15) para obtener la prueba definitiva de que el organismo

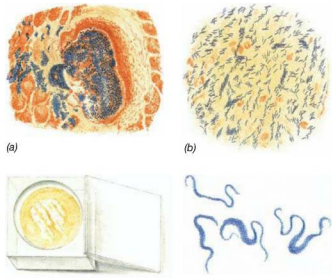


Figura 1.16 Dibujos de Robert Koch de *Mycobacterium tuberculosis*. Robert Koch fue el primero que aisló *M. tuberculosis* y que demostró que causaba la tuberculosis. (*a*) Sección transversal de un tubérculo en tejido pulmonar. Las células de *M. tuberculosis* se tiñen de azul mientras que el tejido pulmonar se tiñe de marrón. (*b*) Células de *M. tuberculosis* en un esputo de un paciente tuberculoso. (*c*) Crecimiento de *M. tuberculosis* en una placa de vidrio con suero sanguíneo coagulado dentro de una caja de cristal (tapadera abierta). (*d*) Se tomó una colonia de células de *M. tuberculosis* de la placa y se observó al microscopio a 700 aumentos; las células aparecen formando largas «cuerdas». Los dibujos originales aparecieron en Koch, R. 1884 «Die Aetiologie der Tuberkulose» *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte* 2:1-88.

aislado era la causa de la tuberculosis. Los cobayas pueden ser infectados fácilmente con *M. tuberculosis* y posteriormente mueren de tuberculosis sistémica. Koch demostró que los cobayas enfermos contenían masas celulares de *M. tuberculosis* en sus tejidos y que los cultivos puros obtenidos de dichos animales transmitían la enfermedad a animales sanos. Asi, Koch cumplió los cuatro criterios de sus postulados y estableció la causa de la tuberculosis (Figura 1.15). Koch anunció este descubrimiento en 1882 y publicó un extenso artículo sobre el tema en 1884. Por esta importante contribución, Robert Koch recibió en 1905 el premio Nobel de fisiología y medicina.

Los postulados de Koch en la actualidad

En el caso de enfermedades que se pueden reproducir en modelos animales resulta relativamente fácil demostrar los postulados de Koch. Sin embargo, esto no siempre es sencillo en la medicina clínica moderna. Incluso para Koch el tema resultó difícil en algunos casos, como en el cólera. Hoy existe un sistema animal adecuado para estudiar el cólera, pero en los tiempos de Koch no se conocía. Como sólo una parte de los voluntarios humanos que

Medios sólidos, la placa de Petri y los cultivos puros

Robert Koch fue el primero que cultivó bacterias en medios de cultivo sólidos. El uso inicial de las rebanadas de patata presentaba muchos problemas. Además de que constituía un medio selectivo para las bacterias que podían crecer en su superficie, las rebanadas se cubrían frecuentemente de mohos. Koch necesitaba un método mas fiable y reproducible para cultivar las bacterias en medios sólidos y encontró la solución en el empleo del agar.

Al principio Koch utilizó la gelatina como agente solidificante de los caldos nutritivos que empleaba para cultivar las bacterias y desarrolló un método para preparar láminas horizontales de un medio sólido que mantenía libre de contaminantes cubriéndolas con una campana o tapadera de cristal (*véase* Figura 1.16*c*). Los caldos nutritivos con gelatina constituían un buen medio de cultivo para el aislamiento y estudio de varias bacterias, pero presentaba algunos inconvenientes, y el más importante era que la gelatina no se mantenía sólida a la temperatura del cuerpo humano (37 °C), que es la óptima para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos que son patógenos para el hombre. Por tanto, se necesitaba un agente solidificante diferente.

El agar es un polisacárido derivado de las algas rojas. En el siglo XIX se utilizaba mucho como un agente gelificante. El primer uso del agar como agente solidificante para medios de cultivo bacteriológicos se debe a Walter Hesse, un colaborador de Koch (**Figura 1**). La idea real de que el agar podía ser usado en vez de la gelatina fue sugerida por la mujer de Hesse, Fannie, quien había usado el agar para la preparación de mermeladas de fruta. Cuando se ensayó como agente solidificante en medios de cultivo, se apreció que superaba a la gelatina en muchos aspectos. Hesse escribió a Koch acerca de este descubrimiento y Koch adoptó rápidamente esta técnica en sus propios trabajos, como los estudios clásicos sobre el aislamiento de la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, que es el agente etiológico de la tuberculosis (*véanse* el texto y la Figura 1.16).

El agar presenta otras muchas propiedades que lo hacen adecuado como agente solidificante de los medios de cultivo para microorganismos. En particular, permanece sólido a 37 °C (la temperatura del cuerpo humano) y, después de fundirse durante el proceso de esterilización, permanece líquido hasta los 45 °C, pudiendo así verterse en recipientes estériles. Además, a diferencia de la gelatina, que muchos microorganismos pueden degradar volviendo líquido el medio, la mayoría de las bacterias no degradan el agar. El agar también permite que muchos medios sólidos sean transparentes, lo que facilita diferenciar las colonias bacterianas de las partículas inanimadas del material que contiene el medio. Por todo ello, el agar ocupó desde el principio un puesto importante en los anales de la microbiología y aún se emplea en la actualidad para aislar y mantener cultivos puros de bacterias.

En 1887 el bacteriólogo alemán Richard Petri publicó un corto artículo describiendo una modificación de las láminas horizontales de Koch (Figura 1.16*c*). La mejora de Petri, que resultó ser enormemente útil, consistía en el uso de las cajas o placas dobles circulares que llevan su nombre (**Figura 2**). Las ventajas de las placas de Petri eran evidentes: podían ser fácilmente almacenadas y esterilizadas independientemente del medio y, después de añadir el medio líquido fundido a la más pequeña de las dos tapaderas circulares, la de tamaño mayor podía utilizarse como tapadera para evitar contaminaciones. Las

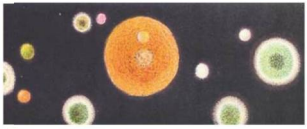
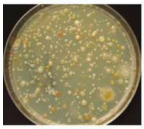


Figura 1. *Fotografía coloreada a mano de colonias formadas sobre agar realizada por Walter Hesse, un colaborador de Robert Koch. Las colonias corresponden a hongos (mohos) y bacterias que se obtuvieron en estudios iniciados por Hesse sobre el contenido microbiológico del aire de Berlín, Alemania, en 1882.*

Tomado de Hesse, W. 1884 «*Ueber quentitative Bestimmung der in der Luft enthaltenen Mikroorganismen*», en Struck (ed.), *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte*. August Hirschwald.



Paul V. Dunlap

Figura 2. *Fotografía de una placa de Petri con colonias de bacterias marinas. Cada colonia contiene millones de células que se originan de una sola célula inicial.*

Información adicional

Medios sólidos, la placa de Petri y los cultivos puros *(continuación)*

colonias que se formaban en la superficie del agar contenido en la placa de Petri quedaban en contacto con el aire y podían ser fácilmente manipuladas para su estudio. La idea original de Petri no ha sido superada hasta la fecha, y las placas de Petri, bien sean de vidrio reutilizable y esterilizadas por calor seco, o de plástico desechable y esterilizadas por óxido de etileno (un gas esterilizante), constituyen el principal apoyo del laboratorio microbiológico.

Koch fue consciente de las implicaciones de sus métodos de obtención de cultivos puros en relación con el estudio de la sistemática bacteriana. Observó que sobre el medio sólido expuesto a un objeto contaminante se desarrollaban colonias con formas diferentes (diferían en color, forma, tamaño y otros caracteres, *véase* Figura 2) y que tales colonias se podían perpetuar y diferenciar entre sí por sus características particulares. Las células de diferentes colonias diferían microscópicamente y a menudo también en sus temperaturas óptimas de crecimiento o en sus requerimientos nutricionales. Koch se dio cuenta de que todas estas diferencias entre microorganismos equival ían a los criterios que los taxonomistas habían establecido para la clasificación de los organismos superiores como animales y plantas. En palabras de Koch (traducidas del alemán) «Toda bacteria que mantenga las características que la diferencian de otras, cuando se cultivan en el mismo medio y bajo las mismas condiciones, debería ser designada como especie, variedad, forma o cualquier otra designación adecu ada». Koch también dedujo de sus estudios sobre cultivos puros que se podía demostrar que determinados microorganismos tenían efectos específicos, no solo para causar enfermedades sino también en lo que respecta a otras capacidades. Tales ideas fueron muy importantes para la rápida aceptación de la microbiología como una ciencia biológica independiente a principios del siglo XX.

El descubrimiento por Koch del medio de cultivo sólido y su importancia en la obtención de cultivos puros tuvo influencia más allá del ámbito de la bacteriología médica. Sus aportaciones constituyeron los instrumentos necesarios para el desarrollo de campos como el de la taxonomía bacteriana, la genética y otras disciplinas relacionada. En conjunto, toda la microbiología tiene una enorme deuda de gratitud con Koch y sus colaboradores por su intuición al darse cuenta de la gran importancia de los cultivos puros y por desarrollar algunos de los métodos fundamentales en microbiología.

www.elsolucionario.net

se infectan con la bacteria productora del cólera, *Vibrio cholera* contraen la enfermedad, resultó difícil entonces probar su origen.

Incluso en la actualidad, a veces resulta imposible poder cumplir los postulados de Koch. Por ejemplo, los agentes causantes de varias enfermedades del hombre no originan enfermedad en ningún animal conocido. Tal es el caso de muchas enfermedades que se asocian con bacterias intracelulares, como las rickettsias y las clamidias, y de enfermedades producidas por algunos virus y protozoos parásitos. Como no sería ético utilizar a voluntarios humanos para comprobar los postulados de Koch en estas enfermedades, es posible que nunca se establezca de modo inequívoco la causa y el efecto en estos casos. Sin embargo, en muchas de estas enfermedades, las evidencias clínicas y epidemiológicas proporcionan algunas pruebas sobre la causa específica. Por tanto, aunque los postulados de Koch constituyen «el estándar de oro» en microbiología clínica, hasta ahora resulta imposible satisfacer todos sus criterios en algunas enfermedades infecciosas.

1.8 Minirrevisión

Robert Koch estableció criterios para el estudio de microorganismos infecciosos y desarrolló los primeros métodos para hacer crecer y obtener cultivos puros de microorganismos.

- ¿Cómo diferencian los postulados de Koch entre causa y efecto en una enfermedad?
- ¿Qué ventajas ofrecen los medios sólidos para el cultivo de microorganismos?
- ¿Qué es un cultivo puro?

1.9 Diversidad microbiana y el surgimiento de la microbiología general

A medida que la microbiología progresó del siglo XIX al XX, el enfoque inicial de esta ciencia sobre aspectos médicos se amplió hasta incluir estudios sobre la diversidad

microbiana en el suelo y en las aguas y abarcar los procesos metabólicos que los microorganismos llevan a cabo en estos hábitats. Esto supuso el comienzo de la *microbiología general*, que es un término que incluye principalmente los aspectos no médicos de la microbiología. En esta época destacan dos figuras importantes, el holandés Martinus Beijerinck y el ruso Sergei Winogradski.

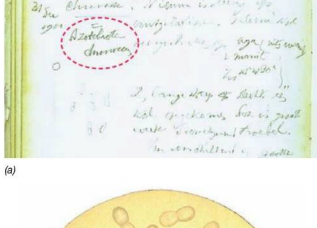
Martinus Beijerink y la técnica de los cultivos de enriquecimiento

Martinus Beijerinck (1851-1931) fue un profesor de la Escuela Politécnica de Delft, Holanda. En sus inicios tuvo una formación botánica y llegó a la microbiología a través del estudio de la microbiología de las plantas. La aportación más importante de Beijerinck al campo de la microbiología fue la formulación de la **técnica del cultivo de enriquecimiento**. Por esta técnica los microorganismos se aislan de muestras naturales de un modo muy selectivo mediante la manipulación de las condiciones nutricionales y de incubación. El éxito de la técnica propuesta por Beijerink se demostró cuando Winogradsky, después de descubrir el proceso de fijación de nitrógeno, fue capaz de aislar por enriquecimiento la bacteria aerobia fijadora de nitrógeno *Azotobacter* (**Figura 1.17** y Figura 22.1).

Utilizando la técnica de cultivos de enriquecimiento, Beijerinck aisló los primeros cultivos puros de muchos microorganismos del suelo y del agua, como las bacterias sulfatoreductoras y las oxidantes de azufre, las bacterias fijadoras de nitrógeno de los nódulos radiculares, diversas especies de *Lactobacillus*, algas verdes, varias bacterias anaerobias, y muchas otras. En sus estudios sobre la enfermedad del mosaico del tabaco, Beijerinck puso de manifiesto, mediante el uso de técnicas de filtración selectiva, que el agente infeccioso (un virus) no era una bacteria sino algo más pequeño que se incorporaba en las células vivas de las plantas. Con este destacado trabajo, Beijerinck no sólo describió el primer virus sino que también estableció los principios básicos de la virología, que estudiaremos en el Capítulo 10.

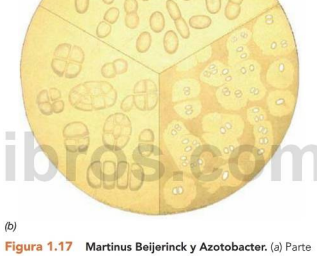
Sergei Winogradsky y el concepto de quimiolitotrofía

Sergei Winogradsky (1856-1953) mostró interés por temas científicos similares a los de Beijerinck y también logró aislar o al menos enriquecer con éxito varias bacterias importantes presentes en muestras naturales. En particular, Winogradsky se interesó por las bacterias del suelo implicadas en los ciclos del nitrógeno y del azufre, como las bacterias nitrificantes y las bacterias rojas sulfúreas (**Figura 1.18**). Demostró que existían determinadas bacterias relacionadas con transformaciones biogeoquímicas específicas. Por ejemplo, las bacterias que intervienen en el cilco del *nitrógeno* no intervienen en el ciclo del *azufre* y viceversa. Además, los estudios de Winogradsky sobre la biología de estos microorganismos reveló la significación



Leslie Robertson y the Royner Laboratory Museum, Delft University of Technology

(a)



Leslie Robertson y the Royner Laboratory Museum, Delft University of Technology

(b)

Figura 1.17 **Martinus Beijerinck y Azotobacter.** (*a*) Parte de una página del cuaderno de notas de laboratorio de M. Beijerinck fechada el 31 de diciembre de 1900 en la que describe sus observaciones sobre la bacteria aerobia fijadora de nitrógeno *Azotobacter chroococcum* (rodeada en rojo). En esta página Beijerinck usa el nombre de esta bacteria por vez primera, tal como se la designa actualmente. Compare el dibujo de Beijerinck de pares de células de *A. chroococcum* con la micrografía de células de *Azotobacter* que se presenta en la Figura 15.18*a*. (b) Dibujo realizado por la hermana de Beijerinck, Henriette Beijerinck, mostrando células de *Azotobacter chroococcum*. Beijerinck utilizó estos dibujos para ilustrar sus clases.

metabólica de las transformaciones biogeoquímicas que llevaban a cabo. En este contexto, a lo largo de sus estudios sobre las bacterias oxidantes del azufre propuso el concepto de **quimiolitotrofía**, es decir, la oxidación de compuestos inorgánicos acoplada a la obtención de energía utilizable (**Figura 1.19*a***). Además, estudiando el proceso de nitrificación (oxidación del amoníaco a nitrato) llegó a la conclusión de que las bacterias nitrificantes responsables de este hecho obtenían su carbono del CO_2 del aire, es decir que, como las bacterias fotótrofas, eran autótrofas (Figura 1.19*a*).

www.elibros.com

From Microbiologie du Sol, used with permission

Figura 1.18 **Dibujos coloreados a mano de células de bacterias fotosintéticas rojas del azufre.** Los dibujos originales fueron realizados por Sergei Winogradsky hacia 1887 y luego copiados y coloreados a mano por su esposa Hèlène. Las células marcadas como Figuras 3 y 4 representan células del género *Chromatium*, como C. *okenii*. Compare estos dibujos con la micrografía de células de *C. okenii* que aparece en la Figura 15.4a.

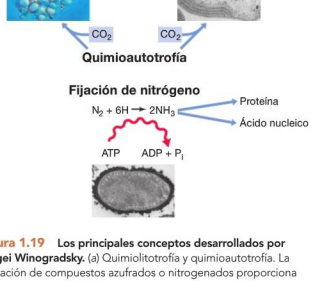


Figura 1.19 **Los principales conceptos desarrollados por Sergei Winogradsky.** (*a*) Quimiolitotrofía y quimioautotrofía. La oxidación de compuestos azufrados o nitrogenados proporciona energía (ATP) y las células obtienen carbono del CO_2. La fotografía de la izquierda representa la bacteria del azufre *Acromatium* y la de la derecha a *Nitrobacter*, una bacteria que realiza el primer paso ($NH_3 \rightarrow NO_2^-$) de la nitrificación. (*b*) Fijación de nitrógeno. Este proceso consume ATP pero permite a la célula utilizar como fuente de nitrógeno el nitrógeno atmosférico (N_2) para sus necesidades de nitrógeno. La fotografía muestra a *Azotobacter*, una bacteria aerobia fijadora de nitrógeno (*véase también* la Figura 1.17).

Usando un método de enriquecimiento, Winogradsky también aisló la primera bacteria fijadora de nitrógeno, la bacteria anaerobia *Clostridium pasteurianum*, y desarrolló la noción de fijación de nitrógeno (Figura 1.19*b*). Años más tarde, Beijerinck hizo uso de este descubrimiento para lograr el aislamiento de bacterias fijadoras de nitrógeno pero aerobias (Figura 1.17). Winogradsky llegó a ser casi centenario y publicó numerosos trabajos junto con la importante monografía *Microbiologie du Sol* (Microbiología del suelo). Esta obra, que es un verdadero hito en la historia de la microbiología, contiene dibujos originales de muchos de los microorganismos que había logrado aislar a lo largo de su carrera (Figura 1.18).

1.9 Minirrevisión

Beijerinck y Winogradsky estudiaron las bacterias del suelo y del agua y desarrollaron la técnica del cultivo de enriquecimiento para el aislamiento de varios microorganismos. Durante este período aparecieron nuevos e importantes conceptos, como los cultivos de enriquecimiento, la quimiolitotrofía, la quimioautotrofía, y la fijación de nitrógeno.

- ¿Qué es la técnica del cultivo de enriquecimiento.
- ¿Qué información de la Figura 1.19 indica que la oxidación del azufre y la nitrificación son procesos quimiolitotróficos (productores de energía) y que la fijación de nitrógeno no lo es?

www.medilibros.com

1.10 La Era Moderna de la microbiología

Durante el siglo xx la microbiología experimentó un rápido desarrollo en dos direcciones distintas pero complementarias, una *básica* y otra *aplicada*. En dicho período aparecieron nuevos instrumentos de estudio y la ciencia microbiológica experimentó una madurez que dió origen a nuevas subdisciplinas. Algunas de éstas fueron puramente básicas y otras puramente aplicadas, pero la mayoría tenían tanto aspectos novedosos de descubrimiento (básicas) como orientaciones a la solución de problemas (aplicadas). La **Tabla 1.1** resume algunos de los más importantes logros de la microbiología en sus primeros 300 años de existencia. La **Figura 1.20** muestra la secuencia temporal de los principales descubrimientos desde 1985 hasta nuestros días.

Origen de las principales ramas de la microbiología aplicada

Los progresos de Robert Koch en el conocimiento de la naturaleza de las enfermedades infecciosas y en el cultivo de microorganismos patógenos en el laboratorio actuaron como catalizadores que condujeron a la expansión de la *microbiología médica* y la *inmunología*, que son ramas

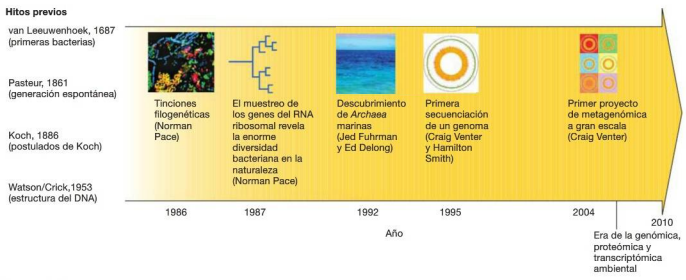


Figura 1.20 **Algunos acontecimientos importantes en microbiología desde 1985.** Las ilustraciones representan los avances realizados. No se enumeran todos los autores que han contribuido a cada descubrimiento específico.

de la microbiología actual. Los estudios en estas áreas dieron como resultado el descubrimiento de muchas nuevas bacterias patógenas para el hombre y otros animales, así como el establecimiento de los mecanismos por los que estos patógenos infectan el cuerpo o son controlados por las defensas del mismo. Otros progresos aplicados en el campo de la *microbiología agrícola* fueron impulsados por los descubrimientos de Beijerinck y Winogradsky y favorecieron la comprensión de los procesos microbianos que ocurren en el suelo, como la fijación de nitrógeno, y que son beneficiosos para el crecimiento de las plantas (Figura 1.19*b*). Posteriormente, los estudios sobre microbiología del suelo aportaron descubrimientos como los antibióticos y otros compuestos importantes. Este hallazgo abrió el campo de la *microbiología industrial*, es decir, el crecimiento de microorganismos a gran escala para la producción de productos comerciales.

Los avances registrados en la microbiología del suelo también constituyeron una base sólida para el estudio de los procesos microbianos que ocurren en lagos, ríos y océanos, que se agrupan en el área de la *microbiología acuática* y la *microbiología marina*. Una rama de la microbiología acuática se centra en los procesos de tratamiento de aguas residuales y en el suminstro de agua potable para consumo humano. La microbiología marina goza en la actualidad de una gran popularidad porque encierra muchas posibilidades para el estudio de la biodiversidad y de las actividades de los microorganismos marinos, y sobre todo por el reconocimiento de que tales microorganismos marinos probablemente controlan muchos parámetros globales críticos, como el clima y la composición de la atmósfera. A medida que fue creciendo el interés por la biodiversidad y las actividades microbianas fue surgiendo la *ecología microbiana* en los años 1960-70, que en la actualidad está experimentando una segunda «edad de oro» facilitada por la introducción de nuevas técnicas moleculares, particularmente las derivadas de la genómica. Estas poderosas técnicas permiten a los ecólogos microbianos definir la biodiversidad y las actividades de comunidades microbianas muy complejas.

Ramas científicas básicas de la microbiología

El siglo xx ha sido testigo del desarrollo de muchas subdisciplinas a partir de la microbiología como ciencia básica. Desde mediados de siglo se han cultivado muchos microorganismos nuevos, originando un refinamiento considerable de la *sistemática microbiana*, que es la ciencia que agrupa y clasifica a los microorganismos. Este desarrollo ha culminado con la construcción de árboles filogenéticos de los seres vivos, como comentaremos en el siguiente capítulo. La ecología microbiana ha permitido estos progresos revelando, en muchos casos sin cultivar realmente los organismos, que existe un ampio mundo inexplorado de diversidad microbiana en prácticamente cada hábitat que se examina. El estudio de los nutrientes que requieren los microorganismos y los productos que originan dieron lugar al área de la *fisiología microbiana*. Por otra parte, los avances registrados en el conocimiento de la estructura física y química de la célula (*citología*) y las enzimas microbianas junto a las reacciones que llevan a cabo (*bioquímica microbiana*) han influido profundamente en la microbiología actual.

Un área de investigación básica que se desarrolló rápidamente desde mediados del siglo xx, fue la *genética bacteriana*, disciplina que se ocupa de la herencia y la variación en bacterias. Aunque a principios de siglo se tenían algunas ideas sobre la variación bacteriana, hubo que esperar hasta el descubrimento del intercambio genético en bacterias, alrededor de 1950, para que la genética bacteriana llegara a constituir realmente un intenso campo de estudio. La genética, la bioquímica y la fisio-

www.elibros.com

Tabla 1.1 Trescientos años de microbiología: algunos trabajos clave en microbiología, 1684-2000[a]

Año	Investigador(es)	Descubrimiento
1684	Antonie van Leeuwenhoek	Descubrimiento de las bacterias
1798	Edward Jenner	Vacunación contra la viruela
1857	Louis Pasteur	Microbiología de la fermentación láctica
1860	Louis Pasteur	Función de las levaduras en la fermentación alcohólica
1864	Louis Pasteur	Fin de la controversia sobre la generación espontánea
1867	Robert Lister	Principios antisépticos en cirugía
1876	Ferdinand Cohn	Descubrimiento de las endosporas
1881	Robert Koch	Métodos de estudio de bacterias en cultivo axénico
1882	Robert Koch*	Etiología de la tuberculosis
1882	Élie Metchnikoff*	Fagocitosis
1884	Robert Koch	Etiología del cólera; postulados de Koch
1884	Christian Gram	Método de la tinción de Gram
1885	Louis Pasteur	Vacuna contra la rabia
1889	Sergei Winogradsky	Concepto de quimiolitotrofía
1889	Martinus Beijerinck	Concepto de virus
1890	Emil von Behring* y Shibasaburo Kitasato	Antitoxina diftérica
1890	Sergei Winogradsky	Autotrofía en los quimiolitótrofos
1901	Marinus Beijerinck	Método de cultivo de enriquecimiento
1901	Karl Landsteiner*	Grupos sanguíneos humanos
1908	Paul Ehrlich*	Agentes quimioterapéuticos
1911	Francis Rous*	Primer virus oncogénico
1915/17	Frederick Twort y Felix d'Herelle	Virus bacterianos (bacteriófagos)
1928	Frederick Griffith	Transformación en neumococos
1929	Alexander Fleming*	Descubrimiento de la penicilina
1931	Cornelius van Niel	H_2S (sulfuro) como donador de electrones en la fotosíntesis anoxigénica
1935	Gerhard Domagk*	Sulfamidas
1935	Wendall Stanley	Cristalización del virus del mosaico del tabaco
1941	George Beadle* y Edward Tatum*	Hipótesis un gen-una enzima
1943	Max Delbruck* y Salvador Luria*	Herencia de caracteres genéticos en bacterias
1944	Oswald Avery, Colin Macleod y Maclyn McCarthy	El DNA es el material genético
1944	Selman Waksman* y Albert Schatz	Descubrimiento de la estreptomicina
1946	Edward Tatum y Joshua Lederberg*	Conjugación bacteriana

www.medilibros.com

logía bacteriana se desarrollaron fundamentalmente hacia mediados de siglo compartiendo raíces comunes, e, incluso hoy día, en muchos casos, dedican su atención a las mismas cuestiones científicas. Desde principios de los años sesenta estos campos han permitido un conocimiento avanzado del DNA, el RNA y la síntesis proteica. La aparición de la *biología molecular* se debe en gran medida a los estudios de la genética bacteriana (Figura 1.20)

El estudio de los virus, que constituye la *virología*, también apareció en el siglo xx. Aunque Beijerinck descubrió el primer virus hace más de 100 años, la verdadera naturaleza de los virus no se conoció hasta mediados del siglo xx. Una gran parte de este trabajo comprende el estudio de los virus que infectan bacterias, los llamados *bacteriófagos*. El descubrimiento de que la infección vírica era análoga a una transferencia génica fue un hallazgo importante que permitió establecer las relaciones entre virus y células a partir de investigaciones realizadas con bacteriófagos. En la actualidad, los virus animales y vegetales ocupan una posición central dentro de la virología debido al creciente número de virus patógenos y al reconocimiento de la enorme diversidad genética entre los virus.

La Era de la biología molecular

Hacia 1970, el avance de los conocimientos sobre la fisiología, la bioquímica y la genética molecular hizo posible la manipulación experimental del material genético de las células hasta el punto de poder «trasplantar» a una bacteria DNA de otro organismo y recoger las proteínas codificadas por ese DNA exógeno. Esto llevó a la aparición de la *biotecnología*. Casi al mismo tiempo se desarrollaron técnicas de secuenciación de ácidos nucleicos, y los efectos de la aplicación de esta nueva tecnología se notaron en todas las áreas de la biología. En microbiolo-

Tabla 1.1 ***(continuación)***

Año	Investigador(es)	Descubrimiento
1951	Barbara McClintock*	Descubrimiento de los transposones
1952	Joshua Lederberg y Norton Zinder	Transducción bacteriana
1953	James Watson*, Francis Crick*, Rosalind Franklin y Maurice Wilkins*	Estructura del DNA
1959	Arthur Pardee, François Jacob*, Jacques Monod*, André Lwoff*	Regulación génica por proteínas represoras
1959	Rodney Porter*	Estructura de las inmunoglobulinas
1959	F. Macfarlane Burnet	Teoría de la selección clonal
1960	François Jacob, David Perrin, Carmon Sanchez, Jacques Monod	Concepto de operón
1960	Rosalyn Yalow* y Salomon Bernson	Desarrollo del radioinmunoensayo (RIA)
1961	Sydney Brenner*, François Jacob* Matthew Meselson	mRNA y ribosomas en la síntesis proteica
1966	Marshall Nirenberg* y H. Gobind Khorana*	Descubrimiento del código genético
1967	Thomas Brock	Bacterias capaces de crecer en agua en ebullición
1969	Howard Temin*, David Baltimore* y Renato Dulbecco*	Descubrimiento de retrovirus y transcriptasa inversa
1969	Thomas Brock y Hudson Freeze	*Thermus aquaticus*, fuente de la DNA polimerasa *Taq*
1970	Hamilton Smith* y David Nathans*	Enzimas de restricción
1973	Stanley Cohen, Annie Chang, Robert Helling, Herbert Boyer y Paul Berg*	Técnicas de DNA recombinante
1975	Georges Kohler* y Cesar Milstein*	Anticuerpos monoclonales
1976	Susumu Tonegawa*	Reordenación en genes de inmunoglobulinas
1977	Carl Woese** y Geoge Fox	Descubrimiento de *Archaea*
1977	Fred Sanger*, Steven Niklen y Alan Coulson	Métodos de secuenciación del DNA
1981	Stanley Prusiner*	Caracterización de los priones
1982	Karl Stetter	Primeros cultivos de hipertermófilos
1982	Barry Marshall* y Robin Warren*	*Helicobacter pylori* como causa de úlceras gástricas
1983	Luc Montagnier	Descubrimiento del VIH como causa del SIDA
1985	Kary Mullis*	Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

* Las principales fuentes de referencia incluyen Brock T.D. (1961), *Milestones in Microbiology*, Prentice Hall. Englewood Cliffs, NJ; Brock T.D. (1990), *The emergence of Bacterial Genetics*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY. En cada caso se indica el año en que se publicó el descubrimiento.
* Galardonado con Premio Nobel. Los primeros premios Nobel se concedieron en 1901 y Robert Koch recibió el de Medicina y Fisiología.
** Premio Crafoord de Biociencias en 2003.

www.medilibros.com

gía, la secuenciación de DNA reveló las relaciones genéticas (evolutivas) entre las bacterias, introduciendo conceptos revolucionarios en la clasificación de los microorganismos. La secuenciación también condujo hacia los años 1990 a la aparición de la *genómica*. La gran cantidad de información disponible en la actualidad sobre genes y genomas ha impulsado importantes avances en medicina, agricultura, biotecnología y muchas otras áreas. El dinámico campo de la genómica ha dado origen, a su vez, a otras disciplinas como la *proteómica* y la *metabolómica*, que estudian respectivamente los modelos de expresión proteica y metabólica de las células. Los conceptos de genómica, proteómica y metabolómica se presentan con más detalle en el Capítulo 13.

Nuevas fronteras

Durante los 325 años transcurridos desde las observaciones de van Leeuwenhoek, la microbiología no sólo ha aportado un profundo y brillante conocimiento de la biología de los microorganismos, sino que ha abordado nuevos retos científicos. Por un lado, la aparición de nuevas enfermedades emergentes sin previo aviso, como el SARS (síndrome respiratorio agudo grave) y la gripe aviar, parecen desafiar nuestro sofisticado conocimiento de las enfermedades infecciosas. Por otro, los nuevos avances de la microbiología, como la genómica, nos proporcionan un conocimiento sin precedentes sobre el funcionamiento de las células al nivel más fundamental. La investigación microbiológica está a punto de definir el genoma minimalista, es decir, el complemento mínimo de genes necesarios para una célula viva. Cuando este objetivo se logre, seremos capaces de definir exactamente todos los prerrequisitos para la vida, al menos en términos bioquímicos, y tal vez estemos entonces cerca de poder crear células vivas en el laboratorio.

Como expresó el biólogo evolutivo Stephen Jay Gould, vivimos en la «Edad de las Bacterias». Nos espera un tiempo prometedor y muchas cosas que aprender de la microbiología. Hay que continuar en contacto con esta ciencia porque guarda muchas cosas para el futuro.

1.10 Minirrevisión

En la segunda parte del siglo xx, la microbiología básica y la aplicada se desarrollaron en paralelo hasta entrar en la era actual de la microbiología molecular.

- Indique en cada caso la rama o subdisciplina de la microbiología que trata sobre: metabolismo, enzimología, síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, ambientes microbianos naturales, clasificación microbiana, y estructura celular de los microorganismos.

Glosario de términos

Célula: unidad fundamental de la materia viva.

Citoplasma: porción fluida de una célula limitada por la membrana celular exceptuando el núcleo (si existe).

Cultivo de enriquecimiento: método para aislar microorganismos usando medios de cultivo y condiciones de incubación especiales.

Cultivo puro o axénico: cultivo que contiene una única clase de microorganismos.

DNA: ácido desoxirribonucleico, material hereditario de las células y de algunos virus.

Ecología microbiana: estudio de los microorganismos en sus ambientes naturales.

Ecosistema: conjunto formado por los organismos más su medio externo.

Enzima: proteína catalítica que funciona acelerando las reacciones químicas celulares.

Estéril: ausencia de cualquier organismo vivo y de virus.

Generación espontánea: hipótesis que supone que los organismos vivos se pueden originar de materia inerte.

Genoma: conjunto completo de los genes de un organismo.

Genómica: identificación y análisis de genomas.

Hábitat: lugar de residencia de una población microbiana en un medio.

Macromoléculas: proteínas, ácidos nucleicos, lípidos y polisacáridos de una célula.

Membrana citoplasmática: barrera semipermeable que separa el interior de la célula (citoplasma) del medio externo.

Metabolismo: conjunto de reacciones bioquímicas de una célula.

Microorganismo: organismo microscópico constituido por una sola célula o varias, incluyendo los virus.

Patógeno: microorganismo que causa enfermedad.

Postulados de Koch: conjunto de criterios que demuestran que un microorganismo determinado causa una enfermedad específica.

Quimiolitotrofía: forma de metabolismo que usa compuestos inorgánicos como fuente de energía.

Ribosomas: estructuras compuestas por RNA y proteínas donde se fabrican nuevas proteínas.

RNA: ácido ribonucleico, implicado en la síntesis de proteínas como RNA mensajero, RNA de transferencia y RNA ribosómico.

Preguntas de repaso

1. Indique seis propiedades importantes asociadas al estado vivo. ¿Cuál de estas propiedades se presenta en todas las células? ¿Cuál de estas propiedades se presenta solamente en algunos tipos de células (Secciones 1.1 y 1.2)?
2. Las células se pueden considerar como máquinas químicas y como sistemas de codificación. Explique las diferencias entre estos dos atributos de una célula (Sección 1.2).
3. ¿Qué se requiere para que ocurra la traducción en una célula? ¿Cuál es el producto del proceso de traducción (Sección 1.2)?
4. ¿Qué es un ecosistema? ¿Viven los microorganismos en cultivo puro en un ecosistema? ¿Qué efectos pueden tener los microorganismos sobre sus ecosistemas (Sección 1.3)?
5. ¿Por qué la evolución de las cianobacterias cambió la Tierra de modo permanente (Sección 1.4)?
6. ¿Cómo convencería a un amigo de que los microorganismos son mucho más que meros agentes causantes de enfermedades (Sección 1.5)?
7. ¿Cuáles fueron las contribuciones más importantes de Hooke y de van Leeuwenhoek a la microbiología? ¿Cómo contribuyó Ferdinand Cohn a la bacteriología (Sección 1.6)?

www.mcgraw-hill.com

8. Explique el fundamento del tipo de matraz que utilizó Pasteur en los estudios sobre generación espontánea (Sección 1.7).
9. ¿Qué es un cultivo puro y cómo puede obtenerse? ¿Por qué el conocimiento de la obtención de cultivos puros fue tan importante para el desarrollo de la microbiología (Sección 1.8)?
10. ¿Cuáles son los postulados de Koch y cuál fue su influencia en el desarrollo de la microbiología? ¿Son todavía válidos en la actualidad (Sección 1.8)?
11. Describa una contribución importante a la microbiología del científico pionero Martinus Beijerinck (Sección 1.9).
12. ¿Qué conceptos microbiológicos importantes se deben a Sergei Winogradsky (Sección 1.9)?
13. ¿Qué avances fundamentales han ocurrido en la microbiología durante los últimos 60 años (Sección 1.10)?

Ejercicios prácticos

1. Los experimentos de Pasteur sobre la generación espontánea tuvieron una enorme importancia en el avance de la microbiología a través de su impacto en la metodología, las ideas sobre el origen de la vida y las técnicas de conservación de alimentos, entre otros aspectos. Comente brevemente la influencia de sus experimentos en cada uno de los temas señalados.
2. Describa las diferentes pruebas que Robert Koch usó para asociar de modo definitivo la bacteria *Mycobacterium tuberculosis* con la enfermedad de la tuberculosis. Sin la disponibilidad de alguno de los procedimientos que él desarrolló, ¿habría sido posible establecer estas pruebas para la tuberculosis?
3. Imagine que por algún motivo los microorganismos desaparecieran repentinamente de la Tierra. Considerando lo tratado en este capítulo, ¿por qué piensa que los animales también desaparecerían?, ¿qué ocurriría con las plantas? Por el contrario, si desaparecieran todos los organismos superiores, ¿qué datos de la Figura 1.6 indican que los microorganismos no seguirían un destino similar?

www.medilibros.com

2

Un breve viaje por el mundo microbiano

I LA VISIÓN DE LO MUY PEQUEÑO 29

2.1 Fundamentos de microscopía óptica **29**

2.2 Mejora y ajuste del contraste en microscopía óptica **30**

2.3 Imagen tridimensional de las células **33**

2.4 Microscopía electrónica **35**

II ESTRUCTURA CELULAR E HISTORIA EVOLUTIVA 37

2.5 Elementos estructurales de las células y de los virus **37**

2.6 Organización del DNA en las células microbianas **39**

2.7 El árbol evolutivo de la vida **41**

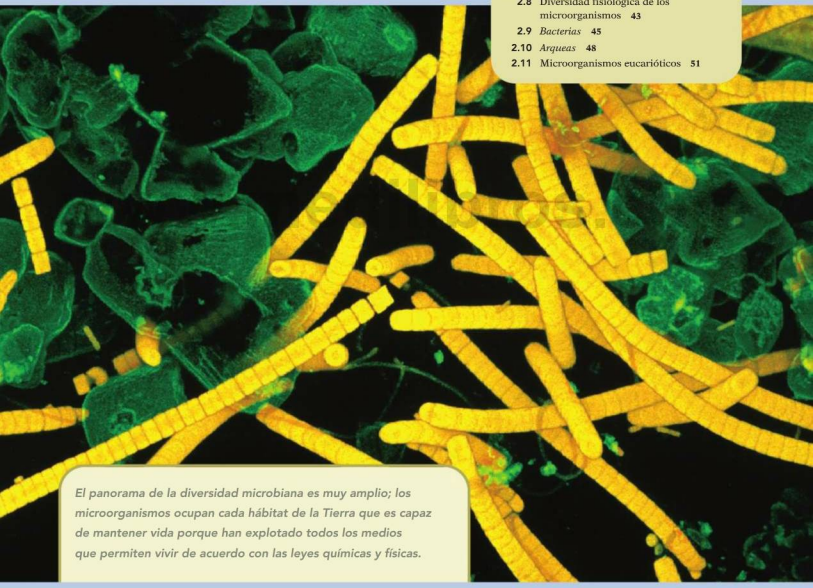
III DIVERSIDAD MICROBIANA 43

2.8 Diversidad fisiológica de los microorganismos **43**

2.9 *Bacterias* **45**

2.10 *Arqueas* **48**

2.11 Microorganismos eucarióticos **51**



El panorama de la diversidad microbiana es muy amplio; los microorganismos ocupan cada hábitat de la Tierra que es capaz de mantener vida porque han explotado todos los medios que permiten vivir de acuerdo con las leyes químicas y físicas.

I LA VISIÓN DE LO MUY PEQUEÑO

Desde el punto de vista histórico, la ciencia de la microbiología floreció cuando fue posible ver a los microorganismos. En otras palabras, el desarrollo de la microbiología fue paralelo al de la microscopía. Esto es particularmente apropiado en lo que respecta al tema principal de este capítulo, la diversidad microbiana. El microscopio es el instrumento microbiológico más importante; el estudio de la microbiología requiere algunos conocimientos sobre cómo funcionan los microscopios y ciertas nociones de microscopía. Comenzaremos nuestro breve viaje por el mundo microbiano considerando primero los diferentes tipos de microscopios y la aplicación de los principios de microscopía que nos permiten observar los microorganismos.

2.1 Fundamentos de microscopía óptica

Los microorganismos se pueden visualizar utilizando un microscopio *óptico* o un microscopio *electrónico*. En general, el microscopio óptico se usa para observar células intactas a relativamente bajos aumentos, mientras que el microscopio electrónico se emplea para observar estructuras internas o detalles superficiales de las células a grandes aumentos.

Todos los microscopios utilizan lentes para aumentar el tamaño de una célula, de modo que se puedan observar sus detalles estructurales. Sin embargo, tan importante como el aumento es la **resolución**, propiedad que permite observar dos puntos adyacentes como puntos separados. Aunque el aumento se puede incrementar prácticamente sin límite, no ocurre lo mismo con la resolución, que está determinada por las propiedades físicas de la luz. Por tanto, la resolución, y no el aumento, es lo que en último término marca los límites de lo que se puede ver en un microscopio.

Iniciamos esta presentación con el microscopio óptico, cuyos límites de resolución están en aproximadamente 0,2 µm (un micrometro equivale a 10^{-6} m) y describiremos más adelante el microscopio electrónico, que es capaz de aumentar aproximadamente 1.000 veces el límite del poder de resolución del microscopio óptico.

El microscopio óptico compuesto

El microscopio óptico usa la luz visible para iluminar las estructuras celulares. En microbiología se utilizan varios tipos de microscopios ópticos: de *campo claro*, *contraste de fases*, *campo oscuro* y *fluorescencia*.

Con el microscopio de campo claro las muestras se visualizan gracias a las diferencias de contraste entre ellas y el medio que las rodea, y estas diferencias se producen porque las células absorben o dispersan la luz en diferentes grados. El microscopio de fondo claro es el que generalmente se emplea en cursos básicos de biología y microbiología y se compone de dos series de lentes (lentes del objetivo y lentes del ocular) que funcionan conjuntamente para producir la imagen. La fuente de luz se enfoca sobre la muestra por una tercera lente llamada lente del condensador (**Figura 2.1**). Muchas células bacterianas son difíciles de observar debido a su falta de contraste con el

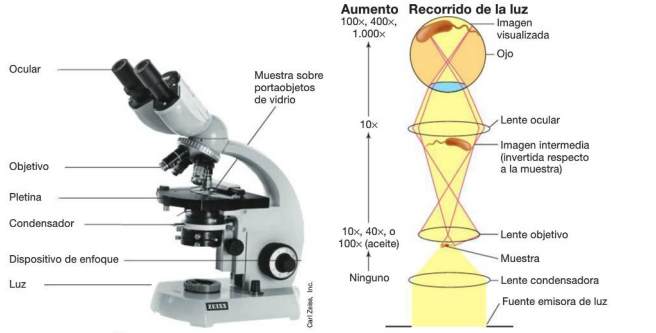


Figura 2.1 **Microscopía.** (*a*) Un microscopio óptico compuesto. (*b*) Trayectoria de la luz a través del microscopio compuesto. Además del ocular de 10x, existen oculares que proporcionan aumentos de 15-30×.

entorno. Los microorganismos pigmentados son una excepción, pues su color añade contraste y mejora la visualización de las células (**Figura 2.2**). En el caso de células sin pigmentos hay varios modos de aumentar el contraste. Estudiaremos estos métodos en la siguiente sección.

Aumento y resolución

El aumento total de un microscopio compuesto es el producto del aumento debido a la lente del objetivo por el aumento de la lente del ocular (Figura 2.1*b*). Aumentos de unas 1.500 veces están cercanos al límite superior y por encima de este valor la resolución no mejora. La resolución depende de la longitud de onda de la luz utilizada y de una característica propia de la lente del objetivo denominada *apertura numérica* (una medida de la capacidad de captación de la luz por la lente). Existe una correlación entre la capacidad de aumento de una lente y su apertura numérica: las lentes de mayor aumento poseen generalmente mayores aperturas numéricas (la apertura numérica de una lente se suele marcar en ella al lado de su aumento). El diámetro del objeto más pequeño que se puede resolver es igual a 0,5 λ/apertura numérica, donde λ representa la longitud de onda de la luz empleada. Por esta razón, la resolución aumenta cuando se usa luz azul para iluminar la muestra (la luz azul tiene una longitud de onda más pequeña que la luz blanca o roja) y cuando la lente objetivo tiene una apertura numérica muy alta. Muchos microscopios ópticos disponen de un filtro azul sobre la lente del condensador para mejorar la resolución.

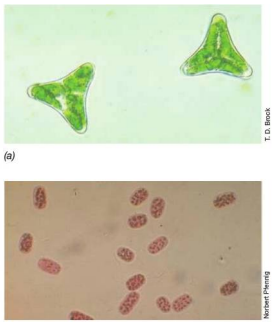


Figura 2.2 Micrografías de microorganismos pigmentados obtenidas mediante microscopía de fondo claro. (*a*) Un alga verde (eucariota). (*b*) Una bacteria roja fotótrofa (procariota). El diámetro de las células del alga es de unos 15 mm y el de las bacterias de aproximadamente 5 mm.

Como se ha indicado, la máxima resolución alcanzable en un microscopio óptico compuesto es de unos 0,2 µm. Esto significa que dos objetos que estén más próximos que esa distancia no podrán verse como entidades distintas y separadas. La mayoría de los microscopios utilizados en microbiología poseen oculares que aumentan 10-15 veces y objetivos que aumentan 10-100 veces (Figura 2.1*b*). Con aumentos de 1.000 veces, los objetos de 0,2 µm de diámetro pueden apreciarse con dificultad. Con lentes de objetivo de 100 aumentos, y con otras de apertura numérica muy elevada, se emplea aceite de inmersión para que no exista aire entre la preparación y la lente objetivo. Estas lentes se denominan *objetivos de inmersión*. El aceite de inmersión se utiliza porque aumenta la capacidad de captación de la luz por la lente, permitiendo que los rayos que emergen de la muestra con gran ángulo (y que se perderían de otro modo sin entrar en la lente objetivo) puedan ser captados y percibidos.

2.1 Minirrevisión

Los microscopios son esenciales en los estudios microbiológicos. El microscopio de campo claro emplea una serie de lentes para aumentar y resolver la imagen

- Defina el término resolución
- ¿Cuál es el límite superior de aumento de un microscopio de fondo claro? ¿Cuál es la causa de esto?

2.2 Mejora y ajuste del contraste en microscopía óptica

La mejora del contraste mejora la imagen final observada por microscopía. La tinción es un método sencillo de aumentar el contraste, pero existen también otros métodos.

Tinciones: incremento del contraste para microscopía de campo claro

Se pueden utilizar colorantes para teñir las células y facilitar su observación. Los colorantes son compuestos orgánicos y cada tipo de colorante tiene afinidad por determinados componentes celulares. Muchos colorantes utilizados con frecuencia en microbiología están cargados positivamente (son *básicos* o catiónicos) y se combinan fuertemente con constituyentes celulares cargados negativamente, como los ácidos nucleicos y los polisacáridos ácidos. Como ejemplo de colorantes básicos se puede citar el azul de metileno, el cristal violeta y la safranina. Como las superficies celulares están por lo general cargadas negativamente, estos colorantes se combinan con estructuras de la superficie de las células y, por tanto, son excelentes colorantes de aplicación general.

Las tinciones simples se realizan sobre preparaciones previamente secadas (**Figura 2.3**). Sobre un portaobjetos con una suspensión de microorganismos previamente secada y fijada a la llama, se vierte una solución diluida de

Figura 2.3 **Tinción de células para observación microscópica.** Las tinciones mejoran el contraste entre las células y el medio.

www.medilibros.com

un colorante y se mantiene durante uno o dos minutos; a continuación se lava varias veces con agua y se seca. Debido a que las células son muy pequeñas, este tipo de preparación suele observarse con aceite de inmersión en la lente objetivo.

Tinciones diferenciales: la tinción de Gram

Las tinciones que tiñen de diferente color a células que son de diferentes tipos se llaman tinciones *diferenciales*. Una tinción diferencial muy importante y ampliamente usada en microbiología es la denominada tinción de Gram (**Figura 2.4***a*). Dependiendo del resultado de esta tinción las bacterias pueden dividirse en dos grandes grupos: las **grampositivas** aparecen de color morado y las **gramnegativas** de color rosa (Figura 2.4*b*). Esta diferencia en la respuesta a la tinción de Gram se debe a diferencias en la estructura de la pared celular de las células grampositivas y gramnegativas (*véanse* Secciones 4.6 y 4.7). Después de teñir con un colorante básico, que normalmente es el cristal violeta, se trata a las células con etanol porque este alcohol es capaz de decolorar a las células gramnegativas pero no a las grampositivas. A continuación se realiza una tinción de contraste con un colorante distinto a fin de poder distinguir los dos tipos de células en el microscopio (Figura 2.4).

La tinción de Gram es uno de los procedimientos más útiles en los laboratorios de bacteriología. Para empezar

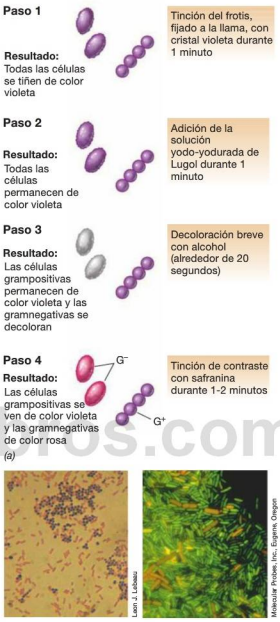


Figura 2.4 **La tinción de Gram.** (*a*) Pasos en la tinción de Gram. (*b*) Bacterias grampositivas (moradas) y gramnegativas (rosas) que se corresponden con *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, respectivamente. (*c*) Células de *Pseudomonas aeruginosa* (gramnegativa, verde) y de *Bacillus cereus* (grampositiva, naranja) teñidas por un método fluorescente de un solo paso. Este método permite la diferenciación de células grampositivas y gramnegativas mediante una única tinción.

la identificación de una bacteria, se suele comenzar determinando si es grampositiva o gramnegativa. Si se dispone de un microscopio de fluorescencia, cuyas características se presentan más adelante, la tinción de Gram puede reducirse a un procedimiento de un solo paso que permite observar que las células de uno u otro tipo presentan fluorescencia con colores distintos (Figura 2.4*c*).

Microscopía de contraste de fases y de campo oscuro

Aunque la tinción de células es una técnica muy utilizada en microscopía óptica, presenta el inconveniente de que mata a las células y puede alterar sus propiedades morfológicas. Existen dos tipos de microscopía óptica que permiten mejorar el contraste sin el empleo de colorantes, la microscopía de contraste de fases y la microscopía de campo oscuro (**Figura 2.5**). El microscopio de contraste de fases se usa habitualmente en investigación porque permite la observación de montajes en húmedo donde las células permanecen viables.

El microscopio de contraste de fases fue introducido en 1936 por el médico y matemático holandés Frits Zernike y se basa en el hecho de que las células poseen un índice de refracción (que es un factor que retrasa la luz cuando atraviesa la muestra) distinto al del medio. La luz que pasa a través de una célula está, por tanto, en una fase distinta de la que atraviesa el medio. Este pequeño efecto se amplifica mediante un dispositivo especial situado en la lente objetivo del microscopio de contraste de fases que se denomina el *anillo de fases*, dando lugar a la formación de una imagen oscura sobre un fondo brillante (Figura 2.5*b*). El anillo incluye una placa de fases, que representa la aportación esencial de Zernike y que amplifica las pequeñas variaciones de fase. El descubrimiento de Zernike, sobre las diferencias de contraste entre las células y el medio, sirvió de estímulo para el desarrollo de otras innovaciones en microscopía, como la microscopía de fluorescencia y la confocal, que se analizan más adelante. Por la invención del microscopio de contraste de fases, Zernike recibió el premio Nobel de Física en 1953.

El microscopio de campo oscuro es un microscopio óptico en el que el sistema de iluminación incide sobre la muestra sólo lateralmente. La única luz que es capaz de alcanzar el objetivo es la dispersada por la muestra y, en consecuencia, los microorganismos se observan brillantes sobre un fondo oscuro (Figura 2.5*c*). La resolución que se logra en los microscopios de fondo oscuro es bastante alta y en ellos pueden observarse objetos difícilmente percibidos por microscopía de fondo claro o de contraste de fases. La microscopía de fondo oscuro es también un método excelente para observar la movilidad en los microorganismos, ya que esta técnica permite observar los penachos de flagelos (*véase* Figura 4.46*a*).

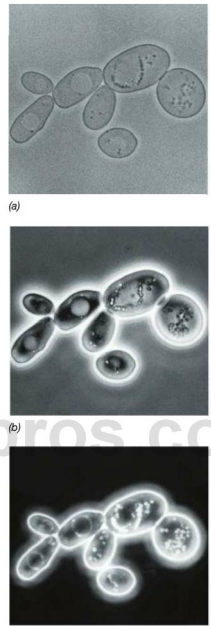


Figura 2.5 Células de la levadura de panadería *Saccharomyces cerevisiae* vistas en diferentes tipos de microscopía óptica. (*a*) Campo claro. (*b*) Contraste de fases. (*c*) Campo oscuro. Las células presentan un diámetro de 8-10 µm.

Microscopía de fluorescencia

El microscopio de fluorescencia se utiliza para visualizar muestras capaces de emitir fluorescencia, es decir, capaces de emitir a una determinada longitud de onda cuando incide sobre ellas una luz de longitud de onda menor (**Figura 2.6**). La fluorescencia puede deberse a que algunas células poseen sustancias fluorescentes naturales, como la clorofila u otros compuestos fluorescentes (autofluorescencia) (*véase* Figura 2.6*a, b*) o a que las células se tiñen previamente con un colorante fluorescente (Figura 2.6*c*). Por ejemplo, puede emplearse el colorante DAPI (diamidino-2-fenilindol) para identificar células en medios complejos como suelos, aguas, alimentos o muestras clínicas. La microscopía de fluorescencia se usa habitualmente en los diagnósticos clínicos microbiológicos así como en ecología microbiana para enumerar bacterias en medios naturales o en suspensiones celulares (Figura 2.6*c*).

Edilibros.com

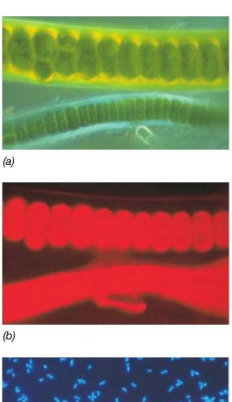


Figura 2.6 **Microscopía de fluorescencia.** (*a*, *b*) Cianobacterias. (*a*) Las células se observan por microscopio de campo claro. (*b*) Las mismas células se visualizan por microscopio de fluorescencia tras ser expuestas a luz de 546 nm. El color rojo se debe a la autofluorescencia de la clorofila *a* y a otros pigmentos. (*c*) Células de *Escherichia coli* teñidas con el colorante fluorescente DAPI.

2.2 Minirrevisión

Una limitación intrínseca de la microscopía de campo claro es la falta de contraste entre las células y el medio. Este problema puede evitarse mediante el uso de tinciones o de formas alternativas de microscopía óptica, como la de contraste de fases o la de campo oscuro.

- ¿De qué color aparecerá una bacteria gramnegativa después de una tinción de Gram por el método convencional?
- ¿Cuál es la principal ventaja de la microscopía de contraste de fases respecto a las tinciones?
- ¿Cómo se pueden hacer fluorescentes las células?

2.3 Imagen tridimensional de las células

Hasta ahora hemos considerado tipos de microscopía que proporcionan imágenes bidimensionales. Sin embargo, esta limitación puede ser superada. En la siguiente sección veremos que el microscopio electrónico de barrido ofrece una solución a este problema, pero ahora consideraremos algunas formas de microscopía óptica que también pueden hacerlo.

Microscopía de contraste de interferencia diferencial

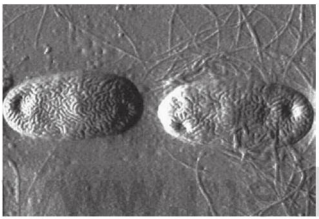
La microscopía de contraste de interferencia diferencial (DIC, de *Differential Interference Contrast*) es un tipo de microscopía óptica que emplea una fuente de luz polarizada. La luz polarizada pasa a través de un prisma que genera dos haces diferentes de luz, los cuales atraviesan la muestra y entran en la lente objetivo. Aquí los dos rayos de luz se combinan y, debido a pequeñas diferencias en el índice de refracción de las sustancias que ha atravesado cada rayo, los dos rayos combinados no están en la misma fase, lo que crea como resultado un efecto de interferencia. Este efecto intensifica diferencias muy sutiles de la estructura celular y, mediante este tipo de microscopía, adquieren una apariencia tridimensional objetos como el núcleo de las células eucarióticas (**Figura 2.7a**), y las endosporas, vacuolas y gránulos de las células procarióticas. La microscopía de contraste de interferencia diferencial es particularmente útil para la observación de células no teñidas por su capacidad para revelar estructuras celulares internas que no son fácilmente aparentes (o que resultan incluso invisibles) cuando se utiliza la microscopía de fondo claro (compárese la Figura 2.5*a* con la Figura 2.7*a*).

Microscopía de fuerza atómica

Otra forma de microscopía que resulta muy útil para producir estructuras tridimensionales de muestras biológicas es la que utiliza el microscopio de fuerza atómica (AFM, de *Atomic Force Microscope*). En la microscopía de fuerza atómica se sitúa una fina aguja como sonda muy próxima a la muestra que se va a analizar, de modo que entre la sonda y la muestra se establecen fuerzas atómicas débiles de repulsión. Cuando la muestra se recorre tanto horizontal como verticalmente, la sonda reproduce los valles y las colinas de la muestra, registrando constantemente las interacciones con la superficie. Estas señales se registran en una serie de detectores que generan información digital en una computadora, la cual reproduce la imagen (Figura 2.7*b*).

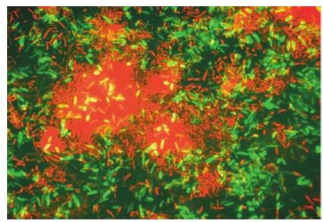
Aunque las imágenes que se obtienen con un microscopio de fuerza atómica son similares a las derivadas de un microscopio electrónico de barrido (compárese la Figura 2.7*b* con la Figura 2.10*c*), la microscopía de fuerza atómica tiene la gran ventaja de que la preparación de la

(a)

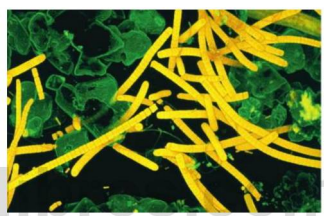


(b)

Figura 2.7 **Imagen tridimensional de células.** (*a*) Microscopía de contraste de interferencia diferencial. (*b*) Microscopía de fuerza atómica. Las células en la micrografía (*a*) tienen un diámetro de unos 8 µm. Puede distinguirse claramente el núcleo (compárese con la Figura 2.5*a*). Las bacterias de la micrografía (*b*) tienen una longitud de 2.2 µm y proceden de un biofilm natural que se desarrolló sobre un porta inmerso en el agua del comedero de un perro durante 24 horas. El porta se secó antes de la observación por un microscopio de fuerza atómica.



(a)



(b)

Figura 2.8 **Microscopía confocal por láser.** (*a*) Imagen confocal de una comunidad microbiana mixta en un biofilm cultivado en el laboratorio. Las células bacilares verdes son *Pseudomonas aeruginosa*. Otras células de diferentes colores aparecen a diferentes profundidades dentro del biofilm. (*b*) Micrografía confocal de una cianobacteria filamentosa creciendo en un lago carbonatado. Las células tienen un diámetro de alrededor de 5 µm.

muestra no requiere ni fijación ni inclusión, lo que permite la observación de muestras vivas que generalmente no es posible con los microscopios electrónicos.

Microscopía confocal

Un microscopio confocal de barrido con láser (CSLM, de *Confocal Scanning Laser Microscope*) es un microscopio computerizado que acopla una fuente de luz láser a un microscopio óptico. Esta técnica permite producir imágenes tridimensionales de microorganismos y de otras muestras biológicas (**Figura 2.8**). El rayo láser se enfoca de manera precisa de modo que sólo se hace visible un plano particular de la muestra y la luz perdida en otros planos focales se elimina. De esta manera, en una muestra relativamente gruesa, como por ejemplo en un biofilm bacteriano (Figura 2.8*a*), no sólo se observarán las células de la superficie del biofilm, como ocurriría en el caso de la microscopía óptica convencional, sino también las células de las diversas capas mediante el ajuste del plano de foco del rayo láser. Mediante la iluminación de una muestra con un rayo láser de intensidad variable, se ha logrado mejorar la resolución típica del microscopio óptico compuesto desde 0,2 µm hasta 0,1 µm.

En la microscopía confocal las preparaciones celulares se suelen teñir con colorantes fluorescentes para facilitar su visión (Figura 2.8). Por otra parte, también se pueden crear falsos colores en muestras no teñidas ajustando el microscopio de tal modo que las diferentes capas presenten colores distintos. El microscopio confocal con láser está equipado con programas de computadora que reunen las imágenes digitales obtenidas y permiten su procesamiento posterior. Las imágenes obtenidas de las

diferentes capas se pueden almacenar y luego superponer digitalmente para reconstruir la imagen tridimensional de la muestra completa (Figura 2.8*a*).

La microscopía confocal tiene un uso muy extendido en ecología microbiana, especialmente en la identificación de las poblaciones celulares filogenéticamente distintas que están presentes en un hábitat determinado (Figura 1.5*b*) o para determinar los diferentes componentes de un hábitat estructurado como un biofilm (Figura 2.8*a*). Su utilidad se extiende a cualquier situación que requiera examinar en profundidad muestras de relativo espesor en cuanto a su contenido microbiano.

2.3 Minirrevisión

La microscopía de contraste diferencial de interferencia y la microscopía confocal son formas de microscopía óptica que permiten generar imágenes tridimensionales mejor que otras formas de microscopía óptica, y la de tipo confocal hace posible el análisis a través de muestras de relativo espesor. El microscopio de fuerza atómica puede proporcionar imágenes tridimensionales de muestras vivas.

- ¿Qué estructura se ve con más facilidad por microscopía de contraste de interferencia diferencial que por microscopía de campo claro en una célula eucariótica? (Pista: comparar las Figuras 2.5a y 2.7a).
- ¿Cómo es posible ver por microscopía confocal las diferentes capas de una preparación gruesa?

2.4 Microscopía electrónica

La microscopía electrónica utiliza fotones en lugar de electrones para producir imágenes de células o de estructuras celulares. En el *microscopio electrónico de transmisión* (TEM, de *Transmission Electron Microscope*) las lentes son electromagnéticas y todo el sistema funciona a alto vacío (**Figura 2.9**). Los microscopios electrónicos están equipados con cámaras que permiten tomar fotografías llamadas *micrografías electrónicas*.

El microscopio electrónico de transmisión suele emplearse para el examen de estructuras celulares a muchos aumentos y elevada resolución. El poder de resolución de este microscopio es mucho mayor que el del microscopio óptico, lo que permite ver estructuras a nivel molecular. Esto se debe a que la longitud de onda de los electrones es mucho más corta que la de la luz visible y a que el valor de la longitud de onda afecta a la resolución (Sección 2.2). Por ejemplo, mientras que el poder de resolución de un microscopio óptico de calidad es de unos 0,2 *micrómetros*, el de un microscopio electrónico de transmisión es de unos 0,2 *nanómetros* (nm, 10^{-9} m). Por tanto, con este tipo de microscopía se pueden ver incluso moléculas individuales como proteínas y ácidos nucleicos (**Figura 2.10*b*** y Figura 2.14*b*).

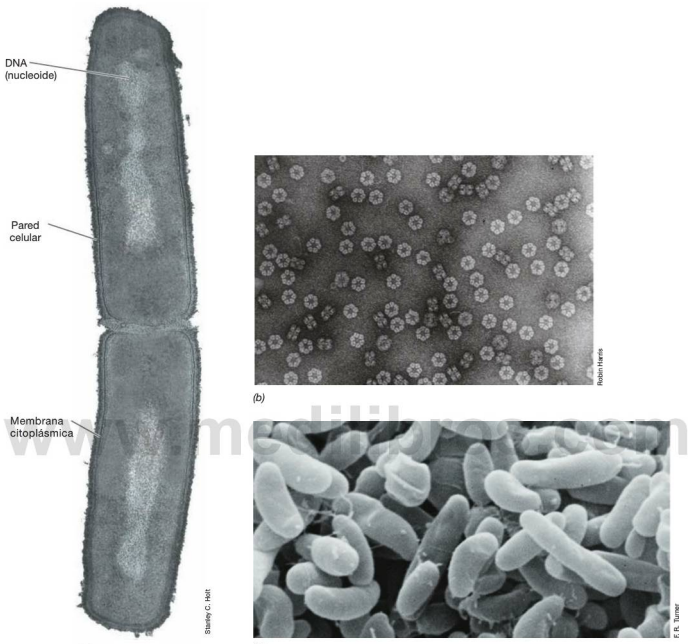
Figura 2.9 **Microscopio electrónico.** Este aparato realiza tanto microscopía de transmisión como de barrido.

Sin embargo, a diferencia de la luz visible, los haces de electrones tienen escaso poder de penetración e incluso una célula aislada es demasiado gruesa para que su contenido pueda visualizarse directamente. Por este motivo, se emplean técnicas especiales para obtener *cortes ultrafinos* a fin de poder ver las muestras. Una célula bacteriana, por ejemplo, se corta con una cuchilla especial en varios cortes ultrafinos (de 20-60 nm de espesor) y se examinan éstos de modo individual en el microscopio electrónico (Figura 2.10*a*). Para obtener suficiente contraste, las preparaciones se tiñen antes con colorantes como ácido ósmico, permanganato o sales de uranio, de lantano o de plomo, que son sustancias que poseen átomos pesados capaces de desviar los electrones y aumentar por tanto el contraste (Figura 2.10*b*).

Microscopía electrónica de barrido

Cuando en una muestra sólo se pretende estudiar las estructuras externas de un organismo no son necesarios los cortes ultrafinos, pudiéndose realizar la observación de las células intactas o de los componentes celulares de modo directo por el microscopio electrónico de transmisión tras una técnica denominada *tinción negativa* (Figura 2.10*b*). Por otra parte, se puede utilizar el *microscopio electrónico de barrido* (SEM, de *Scanning Electron Microscope*) (Figura 2.9).

En el microscopio electrónico de barrido, la muestra a estudiar se recubre primero con una fina capa de un metal pesado, como el oro. El haz de electrones de este instrumento barre la superficie de la muestra y los electrones desviados por la capa de metal se recogen y proyectan sobre una pantalla para producir una imagen (Figura 2.10*b*). En este microscopio se pueden observar muestras de cierto tamaño y la profundidad de campo es



www.medilibros.com

Figura 2.10. Micrografías electrónicas. (*a*) Micrografía de un corte ultrafino de la bacteria grampositiva *Bacillus subtilis* en fase de división, tomada con un microscopio electrónico de transmisión. La región clara central corresponde al DNA que forma el nucleoide. Cada célula tiene un diámetro aproximado de 0,8 µm. (*b*) Imagen al microscopio electrónico de transmisión de moléculas de hemoglobina del gusano marino *Nereis virens* con tinción negativa. Cada molécula de forma hexagonal tiene unos 25 nanómetros de diámetro y costa de dos anillos circulares en forma de donut. (*c*) Células de la bacteria fotótrofa *Rhodovibrio sodomensis* por microscopía electrónica de barrido. Cada célula tiene una anchura de unos 0,75 µm.

excelente. Además, permite obtener un amplio rango de aumentos, desde 15 hasta 100.000 veces, pero sólo se puede ver la superficie de los objetos.

Las micrografías electrónicas tomadas por el microscopio electrónico de transmisión o por el de barrido proporcionan imágenes en blanco y negro. A estas imágenes se les puede añadir un falso color adicional manipulando las micrografías en una computadora. Pero estos colores no mejoran la resolución de la micrografía, que depende de los aumentos logrados en la micrografía original.

2.4 Minirrevisión

Los microscopios electrónicos tienen mucho más poder de resolución que los microscopios ópticos, llegando hasta límites de resolución de 0,2 nm. Existen dos tipos

principales de microscopía electrónica: la microscopía electrónica de transmisión, empleada en la observación de estructuras intracelulares hasta un nivel molecular, y la microscopía electrónica de barrido, que es útil para la formación de imágenes tridimensionales y el examen de superficies.

- ¿Qué es una micrografía electrónica? ¿En qué se diferencia una micrografía electrónica de una fotomicrografía en lo que respecta al modo de obtención de la imagen? ¿Por qué las micrografías electrónicas tienen mucha mejor resolución que las micrografías ópticas?
- ¿Qué tipo de microscopía electrónica emplearía para observar un conjunto de células? ¿Qué tipo usaría para observar el nucleoide bacteriano?

II ESTRUCTURA CELULAR E HISTORIA EVOLUTIVA

La siguiente parte de este capítulo presenta conceptos sobre la estructura y diversidad de la célula microbiana que sirven de base a temas que se desarrollan a lo largo del libro. Estudiaremos primero la arquitectura interna de las células microbianas y diferenciaremos a las células de los virus. A continuación exploraremos el árbol evolutivo de la vida para establecer el escenario que permite presentar los principales grupos de microorganismos que influyen sobre nuestras vidas y sobre nuestro planeta.

2.5 Elementos estructurales de las células y de los virus

Todas las células tienen mucho en común y comparten muchos componentes. Como vimos en el Capítulo 1, todas ellas poseen una barrera de permeabilidad llamada la **membrana citoplasmática** que separa el interior celular o **citoplasma** del medio externo (**Figura 2.11**). Los principales componentes disueltos en el citoplasma son macromoléculas, pequeñas moléculas orgánicas (sobre todo precursoras de macromoléculas), diversos iones inorgánicos y **ribosomas**, que son las estructuras de la célula donde se sintetizan las proteínas. Los ribosomas interaccionan con proteínas del citoplasma y con los RNA mensajeros y de transferencia en el proceso esencial de la síntesis proteica (traducción) (*véase* Figura 1.4).

La **pared celular** proporciona rigidez estructural a la célula. Es relativamente permeable y está situada por fuera de la membrana citoplásmica (Figura 2.11*a*), constituyendo una capa mucho más fuerte que la membrana. Las células vegetales y las de la mayoría de los microorganismos presentan paredes celulares, mientras que las células animales, con raras excepciones, no las presentan. En vez de pared celular, las células animales se refuerzan por medio de moléculas con funciones de soporte o andamiaje, localizadas dentro del citoplasma, que forman el *citoesqueleto*.

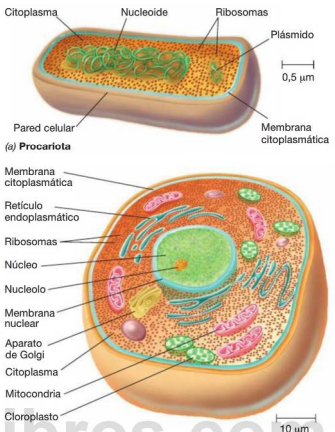


Figura 2.11 Estructura interna de las células microbianas. Se resaltan las diferencias de escala y de estructura interna entre las células procarióticas y eucarióticas.

www.libros.com

Células procarióticas y eucarióticas

Un análisis detallado de la estructura celular interna y de otras propiedades permite diferenciar dos tipos de células: la procariótica y la eucariótica (Figura 2.11 y **Figura 2.12**). Las eucarióticas tienen su DNA en un **núcleo** rodeado de membrana y son por lo general más grandes y de estructura más compleja que las células procarióticas. En las eucarióticas los importantes procesos de transcripción y traducción (*véase* Figura 1.4) están divididos; la transcripción ocurre en el núcleo y la traducción en el citoplasma. Los microorganismos eucarióticos son las algas, los hongos y los protozoos. Todos los organismos pluricelulares de las plantas y los animales están formados por células eucarióticas. Las células eucarióticas se tratarán con más detalle en el Capítulo 18.

Una característica diferencial de las células eucarióticas es la presencia de estructuras llamadas **orgánulos** que están limitadas por membranas. Los orgánulos comprenden el núcleo, las mitocondrias y los cloroplastos (estos últimos presentes sólo en las células fotosintéticas)

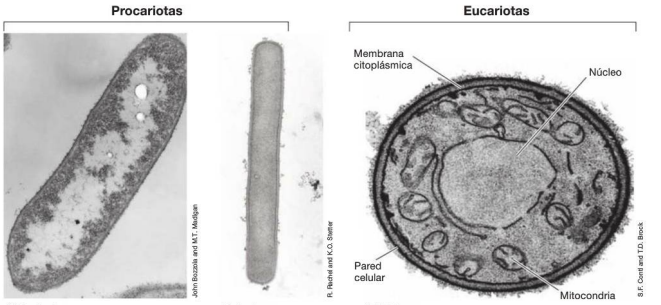


Figura 2.12 **Micrografías electrónicas de cortes ultrafinos de células de cada uno de los tres dominios de organismos vivos.** (*a*) *Heliobacterium modesticaldum*; la célula mide 1 × 3 µm. (*b*) *Methanopyrus kandleri*; la célula mide 0,5 × 4 µm. Reinhard Rachel y Karl O. Setter, 1981. *Archives of Microbiology* 128:288-293. © Springer-Verlag GmbH & Co. KG. (*c*) *Saccharomyces cerevisiae*; la célula mide 8 µm de diámetro.

(Figuras 2.2*a* y 2.12*c*). Como se ha dicho, el núcleo alberga el genoma y es también el lugar donde ocurre la transcripción en las células eucarióticas. Las mitocondrias y los cloroplastos contienen su propio genoma más pequeño y desempeñan funciones específicas en la generación de energía, llevando a cabo la respiración y la fotosíntesis, respectivamente.

A diferencia de las células eucarióticas, las células procarióticas tienen una estructura interna más simple y carecen de orgánulos rodeados por membrana (Figuras 2.11*a* y 2.12*a*, *b*). Además también difieren de las eucarióticas en muchos otros aspectos. Por ejemplo, las células procarióticas presentan directamente acopladas la transcripción y la traducción en el citoplasma porque su DNA no está encerrado en el núcleo como en las eucarióticas (Sección 2.6). Por otra parte, en contraste con las eucarióticas, la mayoría de las células procarióticas usan su membrana citoplásmica para generar energía y contienen genomas pequeños y compactos que están constituidos por DNA circular (Sección 2.6).

Pese a estas diferencias tan marcadas entre las células procarióticas y eucarióticas, es importante destacar que no se puede equiparar la organización celular con una relación evolutiva. En la Sección 2.7 consideraremos que el mundo procariótico comprende dos amplios grupos que son distintos desde el punto de vista evolutivo. En los Capítulos 7 y 8 compararemos y contrastaremos la biología molecular de las células procarióticas, destacando sus similitudes y diferencias y relacionándolas con los procesos moleculares de las células eucarióticas.

Tamaño celular

En general, las células microbianas son muy pequeñas, particularmente las procarióticas. Un bacilo procariótico típico mide de 1 a 5 µm de largo por 1 µm de ancho, y por lo tanto resulta invisible a simple vista. Para comprender esta magnitud hay que considerar que se podría poner en fila 500 bacterias de 1 µm de largo sobre el punto final de esta frase. Por lo general, las células eucarióticas son mucho mayores que las procarióticas, pero el tamaño puede variar dentro de un amplio margen. Existen células eucarióticas con diámetros tan pequeños como 0,8 µm o tan grandes como varios centenares de micrómetros. Trataremos de nuevo con más detalle el tema del tamaño celular en la Sección 4.2.

Virus

Los virus representan una clase importante de microorganismos, pero no son células (**Figura 2.13**). Carecen de muchos atributos de las células (*véase* Figura 1.3) y se diferencian particularmente de éstas en que no son sistemas dinámicos abiertos. Por el contrario, una partícula vírica es una estructura estática, muy estable e incapaz de cambiar o sustituir sus constituyentes. Un virus sólo adquiere el atributo clave de los sistemas vivos, es decir, la reproducción, cuando infecta a una célula. A diferencia de las células, los virus no tienen capacidad metabólica propia. Además, aunque contienen sus propios genomas, los virus carecen de ribosomas, y por tanto dependen por completo de la maquinaria biosintética de las células que infectan para sintetizar proteínas. Por otra parte, a diferencia de las células, los virus contienen sólo

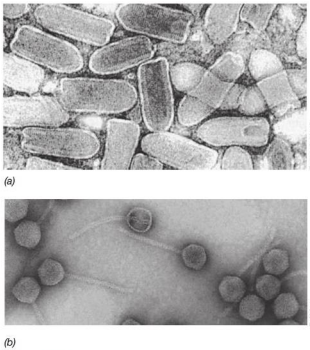


Figura 2.13 **Estructura vírica y comparación del tamaño de virus y células.** (*a*) Partículas de rhabdovirus (virus que infectan a plantas y animales). Cada partícula individual mide cerca de 65 nm (0,065 µm). (*b*) El virus bacteriano lambda (bacteriófago). La cabeza de cada partícula mide cerca de 65 nm de diámetro. (*c*) Tamaño de los virus mostrados en (*a*) y (*b*) comparados con una célula bacteriana y una eucariótica.

www.medilibros.com

un tipo de ácido nucleico, DNA o RNA; en consecuencia, algunos virus tienen el genoma formado por RNA. En los Capítulos 10 y 19 estudiaremos los virus con detalle.

Los virus infectan todo tipo de células, incluso las células microbianas. Muchos virus causan enfermedades en los organismos que infectan, pero la infección vírica puede también tener otros profundos efectos muy distintos a la enfermedad, como alteraciones genéticas que en realidad pueden mejorar las capacidades de la célula. Los virus son mucho más pequeños que las células, mucho menores todavía que las células procarióticas (Figura 2.13). El tamaño de los virus es muy variable y el más pequeño conocido tiene un diámetro de tan solo 10 nm.

2.5 Minirrevisión

Todas las células microbianas poseen ciertas estructuras básicas comunes como membrana citoplasmática y ribosomas; la mayoría poseen además pared celular. Desde el punto de vista estructural se reconocen dos categorías celulares: la procariótica y la eucariótica. Los virus no son células pero dependen de ellas para sus funciones replicativas.

- Observando el interior celular, ¿cómo podría decir si una célula es procariótica o eucariótica?
- ¿Cuál es la importante función de los ribosomas en la célula?
- ¿Por qué los virus no se consideran células?

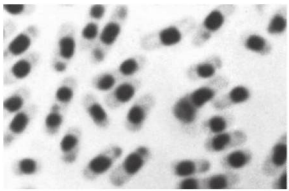
2.6 Organización del DNA en las células microbianas

En todas las células los procesos vitales están controlados por su conjunto de genes, es decir, por su **genoma**. Un gen puede ser definido como un segmento de DNA que codifica una molécula de proteína o de RNA. En el Capítulo 13 analizaremos los rápidos avances experimentados en la secuenciación y análisis de genomas de organismos, desde los virus y las bacterias hasta el hombre, que han permitido disponer de informaciones genómicas detalladas en centenares de organismos diferentes y hacer posible su comparación. Aquí sólo consideraremos cómo se organizan los genomas en las células procarióticas y eucarióticas, y el número de genes y de proteínas presente en una célula bacteriana típica.

Núcleo *versus* Nucleoide

Los genomas presentan una organización diferente en células procarióticas y en células eucarióticas. En las procarióticas, el DNA se presenta como una larga molécula de dos cadenas llamada *cromosoma* que se condensa en una masa visible por microscopía electrónica llamada **nucleoide** (**Figura 2.14**). En el Capítulo 7 veremos que en la mayoría de los procariotas el nucleoide está covalentemente cerrado y es circular.

Por lo general, las células procarióticas tienen un cromosoma único. Por esta razón, típicamente contienen



(a)

(b)

Figura 2.14 **El nucleoide.** (*a*) Micrografía de células de *Escherichia coli* tratadas para resaltar el nucleoide. Cada célula mide unos 3 µm. (*b*) Micrografía tomada con microscopio electrónico de transmisión de un nucleoide aislado liberado de una célula de *E. coli*. La célula fue lisada suavemente para permitir que el nucleoide que está altamente compactado saliera intacto. Las flechas indican los extremos de las cadenas del DNA.

una sola copia de cada gen y por consiguiente son genéticamente *haploides*. Muchos procariotas contienen también pequeñas cantidades de DNA extracromosómico, dispuesto habitualmente de modo circular, que constituyen los **plásmidos**. Los plásmidos suelen contener genes que confieren propiedades especiales a las células (como propiedades metabólicas singulares). Por el contrario, no llevan los genes esenciales que se requieren básicamente para la supervivencia y que se localizan en el cromosoma.

En las células eucarióticas, el DNA se presenta dentro del núcleo en moléculas lineales empaquetadas en un estado muy organizado formando los **cromosomas**. El número de cromosomas es muy variable. Por ejemplo, la levadura de panadería *Saccharomyces cerevisiae* contiene 16 cromosomas dispuestos en 8 pares, mientras que las células humanas contienen 46 (23 pares). En las células eucarióticas los cromosomas contienen también proteínas que favorecen el plegamiento y empaquetamiento del

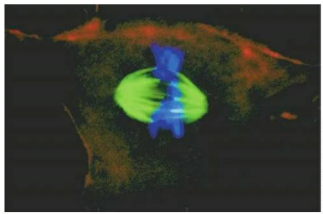


Figura 2.15 **Mitosis en células teñidas de rata canguro.** La célula fue fotografiada en estado de metafase de la división mitótica; sólo las células eucarióticas presentan mitosis. El color verde se debe a la tinción de una proteína llamada tubulina que es importante para la separación de los cromosomas (*véase* Sección 18.1). El color azul se debe a un colorante que tiñe el DNA e indica los cromosomas.

DNA y otras que son necesarias para la expresión de los genes (*véase* Sección 8.5). Una diferencia fundamental entre las células procarióticas y eucarióticas es que las últimas contienen por lo general dos copias de cada gen y son, por tanto, genéticamente *diploides*. Durante la división celular de las células eucarióticas el núcleo se divide (tras duplicarse el número de cromosomas) mediante el proceso de *mitosis* (**Figura 2.15**), de modo que se originan dos células hijas idénticas y cada una de ellas recibe un conjunto completo de genes.

La dotación diploide del material genético de las células eucarióticas se reduce a la mitad mediante el proceso de **meiosis** para formar gametos haploides en la reproducción sexual. La fusión de dos gametos durante la formación del zigoto restaura el estado diploide de la célula resultante. Estos procesos se presentan con más detalle en el Capítulo 8.

Genes, genomas y proteínas

¿Cuántos genes y proteínas tiene una célula? Una bacteria típica como *Escherichia coli* contiene un único cromosoma circular con DNA formado por 4,68 millones de pares de bases. Como el genoma de *E. coli* ha sido completamente secuenciado, sabemos que contiene cerca de 4.300 genes. Algunas bacterias tienen un número de genes tres veces superior, pero otras no superan la octava parte de dicho número (*véase* Tabla 13.1) Las células eucarióticas tienen muchos más genes que las procarióticas. Una célula humana, por ejemplo, contiene unas 1.000 veces más DNA que *E. coli* y alrededor de 7 veces su número de genes.

Una única célula de *E. coli* contiene aproximadamente 1.900 tipos de proteínas diferentes y cerca de 2,4 millones de proteínas en total (*véase* Tabla 3.2). Algunas proteínas son muy abundantes, otras lo son menos y

www.medi

otras están presentes en una o en pocas copias. *E. coli* tiene, por tanto, mecanismos que controlan la *expresión* de sus genes (transcripción y traducción, *véase* Figura 1.4) de modo que no todos son expresados con la misma frecuencia o al mismo tiempo. La regulación génica es un mecanismo muy importante en todo tipo de células y se detalla en el Capítulo 9.

2.6 Minirrevisión

Los genes dirigen las propiedades de las células y el conjunto de genes de una célula se denomina genoma. El DNA se dispone en las células formando cromosomas. La mayoría de las especies procarióticas tienen un cromosoma circular único, mientras que las eucarióticas poseen varios cromosomas lineales.

- Diferencie el núcleo del nucleoide.
- ¿En qué se diferencian los plásmidos de los cromosomas?
- ¿Por qué parece lógico que una célula humana tenga más genes que una célula bacteriana?

2.7 El árbol evolutivo de la vida

La **evolución** es el proceso de cambio que ocurre en una línea de descendencia a lo largo del tiempo y que origina la aparición de nuevas variedades y especies de organismos. La evolución tiene lugar en cualquier sistema autorreplicativo en que surjan variaciones a causa de mutaciones y el resultado sea una selección potencial derivada de la nueva capacidad de adaptación. Por tanto, con el tiempo, todas las células y los virus evolucionan.

Determinación de relaciones evolutivas

Las relaciones evolutivas entre los microorganismos son el objeto de estudio de la **filogenia**. Las relaciones filogenéticas entre las células se pueden deducir mediante la comparación de la información genética que existe en sus ácidos nucleicos o en sus proteínas (las secuencias de nucleótidos o de aminoácidos) (*véase* Capítulo 14). Las moléculas que forman el ribosoma, en particular las del *RNA de los ribosomas* (*rRNA*), resultan ser unos indicadores excelentes para determinar las relaciones evolutivas. Como todas las células contienen ribosomas, y por tanto rRNA, esta molécula puede emplearse para construir un árbol filogenético de todas las células, incluyendo a los microorganismos (*véase* Figura 2.17). También se han establecido las relaciones filogenéticas entre los virus, pero como estos microorganismos carecen de ribosomas, se han utilizado otras moléculas para establecer sus relaciones evolutivas. Carl Woese, un microbiólogo estadounidense, fue el primero en advertir la posibilidad de emplear rRNA como instrumento idóneo para estudiar la filogenia microbiana, y este concepto revolucionó nuestros conocimientos acerca de la evolución celular.

Los pasos para obtener un árbol filogenético basado en el rRNA se indican en la **Figura 2.16**. En resumen, los genes que codifican el rRNA en dos o más organismos se secuencian, es decir, se determina el orden exacto de nucleótidos en la secuencia (Sección 12.5) y esta secuencia se alinea y se examina base a base mediante una computadora. Cuanto mayor sea la variación en la secuencia de los genes para el rRNA de dos organismos, mayor será su divergencia evolutiva. Esta divergencia se puede representar después en un árbol filogenético (Figura 2.16).

Los tres dominios de la vida

A partir de la comparación de secuencias de los rRNA se han identificado tres líneas celulares filogenéticas distin-

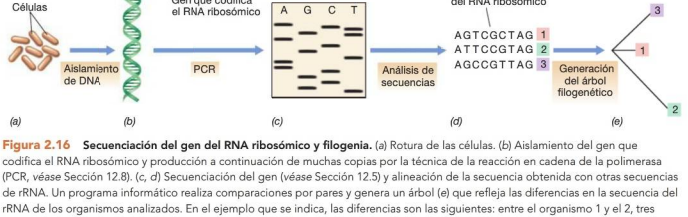


Figura 2.16 Secuenciación del gen del RNA ribosómico y filogenia. (*a*) Rotura de las células. (*b*) Aislamiento del gen que codifica el RNA ribosómico y producción a continuación de muchas copias por la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *véase* Sección 12.8). (*c, d*) Secuenciación del gen (*véase* Sección 12.5) y alineación de la secuencia obtenida con otras secuencias de rRNA. Un programa informático realiza comparaciones por pares y genera un árbol (*e*) que refleja las diferencias en la secuencia del rRNA de los organismos analizados. En el ejemplo que se indica, las diferencias son las siguientes: entre el organismo 1 y el 2, tres diferencias; entre el 1 y el 3, dos diferencias; entre el 2 y el 3, cuatro diferencias. Por tanto, los organismos 1 y 3 están más relacionados que el 2 con el 3 y que el 1 con el 2.

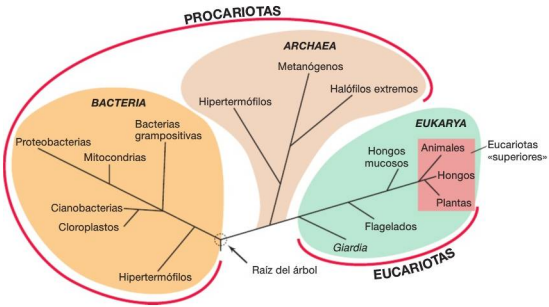


Figura 2.17 **Árbol filogenético de los seres vivos deducido de la secuenciación comparativa del gen del RNA ribosómico.** El árbol está formado por tres dominios de organismos: *Bacteria* y *Archaea*, que presentan células procarióticas, y *Eukarya* (eucariotas). Solamente se indican algunos grupos de organismos dentro de cada dominio. Los hipertermófilos son procariotas que crecen mejor a 80 °C o a temperaturas superiores. Los grupos sombreados en rojo son macroorganismos. El resto en el árbol de la vida son microorganismos. Se pueden ver árboles filogenéticos más detallados de cada dominio en las Figuras 2.19, 2.28 y 2.32.

www.medilibros.com

tas. Estas líneas evolutivas, denominadas **dominios**, son *Bacteria* y *Archaea* (que están constituidas por procariotas) y *Eukarya* (que comprende los eucariotas) (**Figura 2.17**). Se supone que en los comienzos de la vida sobre la Tierra estos dominios surgieron por divergencia a partir de un organismo o comunidad ancestral común.

El árbol filogenético de la vida revela dos hechos evolutivos importantes: (1) como se ha comentado anteriormente, *no* todos los procariotas están estrechamente relacionados desde el punto de vista filogenético, y (2) el dominio *Archaea* presenta una relación más próxima al dominio *Eukarya* que al dominio *Bacteria* (Figura 2.17). Por tanto, a partir del antecesor universal común a todas las formas de vida, la diversificación evolutiva inicial tuvo lugar en dos direcciones: el dominio *Bacteria* y otra segunda línea evolutiva que eventualmente originó tanto el dominio *Archaea*, que retuvo la estructura celular procariótica, como el dominio *Eukarya*, que no la mantuvo. A lo largo de este libro, el término bacteria, escrito con «b» minúscula se refiere a algunas especies del dominio *Bacteria*.

Eukarya

Como todas las células de los animales y de las plantas son eucarióticas, se deduce que los microorganismos eucarióticos fueron los antecesores de todos los organismos pluricelulares. El árbol de la vida refleja claramente este hecho, pues los eucariotas microbianos constituyen una rama temprana del árbol mientras que los animales y las plantas se localizan hacia el extremo terminal (Figura 2.17). Sin embargo, la secuenciación molecular y otras evidencias han puesto de manifiesto que las células eucarióticas poseen genes de los dos dominios. Además del genoma empaquetado en los cromosomas del núcleo, las mitocondrias y los cloroplastos de las células eucarióticas poseen sus propios genomas (DNA dispuesto en forma circular, como en los procariotas) y sus propios ribosomas. Usando las técnicas de secuenciación de rRNA, se ha demostrado que estos orgánulos derivan de antecesores específicos pertenecientes al dominio *Bacteria* (Figura 2.17 y Sección 2.9). Parece pues probable que las mitocondrias y los cloroplastos fueron en otro tiempo células que vivían en estado libre y que establecieron una existencia intracelular dentro de células de *Eukarya* en tiempos primigenios. El proceso por el que ocurrió esta adaptación estable se conoce como **endosimbiosis**, y se comenta en posteriores capítulos (*véanse* Secciones 14.4 y 18.4).

Contribuciones de la secuenciación molecular a la microbiología

Los estudios filogenéticos realizados a nivel molecular confirman las relaciones evolutivas existentes entre todas las células. La aplicación de esta tecnología ha creado un sistema de relaciones evolutivas entre los procariotas, lo que constituye un logro importante que la microbiología no había abordado desde sus principios. Además, la filogenia basada en el RNA ribosómico ha dado lugar a nuevos instrumentos con aplicaciones en otras ramas de la microbiología, afectando en particular a la clasificación microbiana, a la ecología microbiana y al diagnóstico clínico. En estas áreas, la filogenia molecular ha facilitado el concepto de especie bac-

teriana y suministrado a los ecólogos microbianos y a los microbiólogos clínicos la posibilidad de identificar a los microorganismos incluso sin cultivarlos. Por otra parte, ha ampliado nuestro conocimiento de la diversidad microbiana y revelado la sorprendente conclusión de que la mayor parte de esta diversidad que existe en la Tierra aún no ha sido cultivada en el laboratorio.

2.7 Minirrevisión

La comparación de secuencias del rRNA ha permitido definir los tres dominios de la vida: Bacteria, Archaea y Eukarya. La secuenciación molecular ha demostrado también que los orgánulos presentes en las células de Eukarya tienen raíces evolutivas en el dominio Bacteria y ha suministrado además nuevos instrumentos a la ecología microbiana y a la microbiología clínica.

- ¿Cómo se pueden distinguir especies de Bacteria y de Archaea empleando la biología molecular?
- ¿Cómo beneficia a las células eucarióticas el proceso de endosimbiosis?

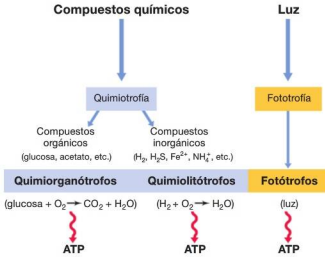


Figura 2.18 Opciones metabólicas para la obtención de energía. Los compuestos orgánicos o inorgánicos que se indican son sólo un ejemplo de los muchos usados por los diferentes organismos quimiótrofos. Los organismos quimiótrofos oxidan compuestos orgánicos o inorgánicos para producir ATP. Los organismos fotótrofos convierten la energía solar en energía química en forma de ATP.

III DIVERSIDAD MICROBIANA

La evolución ha moldeado la vida sobre la Tierra y la diversidad actual de las células microbianas es el resultado de casi 4.000 millones de años de cambios evolutivos (*véase* Figura 1.6). La diversidad microbiana se expresa de muchos modos, por ejemplo, como variaciones en el tamaño y en la forma celular (morfología), en las estrategias metabólicas, en la movilidad, en los mecanismos de división celular, en la patogenicidad, en el desarrollo, en la adaptación a condiciones ambientales extremas, en la filogenia y en muchos otros aspectos. En las siguientes secciones dibujaremos a grandes trazos el cuadro de la diversidad microbiana. Se volverá a tratar con más detalle el tema de esta diversidad en los Capítulos 14-19.

Iniciaremos nuestra presentación de la diversidad microbiana considerando en primer lugar la diversidad *metabólica* porque ambos conceptos están relacionados. Los microorganismos han aprovechado cada modo de vida posible que esté de acuerdo con las leyes físicas y químicas. Esta enorme versatilidad ha determinado que ocupen todos los hábitats posibles de nuestro planeta. La diversidad metabólica se trata con más detalle en los Capítulos 5, 6, 20 y 21.

2.8 Diversidad fisiológica de los microorganismos

Todas las células requieren energía y un método que permita conservarla para otros usos. En la naturaleza la energía puede obtenerse a partir de tres fuentes: compuestos orgánicos, compuestos inorgánicos y la luz.

Quimioorganótrofos

Los organismos que obtienen la energía de compuestos químicos se llaman *quimiótrofos*, y los que lo hacen a partir de compuestos orgánicos se denominan **quimioorganótrofos** (**Figura 2.18**). Muchos miles de sustancias orgánicas diferentes pueden usarse por un microorganismos o por otro para obtener energía. De hecho, todos los compuestos orgánicos naturales y gran parte de los sintéticos pueden ser desdoblados por el metabolismo de uno o varios microorganismos. La energía se obtiene por oxidación del compuesto concreto y se conserva en la célula como un compuesto de alta energía, el trifosfato de adenosina (ATP).

Algunos microorganismos pueden obtener energía de un compuesto orgánico solamente cuando el oxígeno está presente; estos organismos se llaman *aerobios*. Otros solo lo hacen en ausencia de oxígeno (*anaerobios*) y otros en cambio pueden metabolizar compuestos orgánicos tanto en presencia como en auesencia de oxígeno. La mayor parte de los microorganismos que se han logrado cultivar en el laboratorio son quimioorganótrofos.

Quimiolitótrofos

Muchos microorganismos pueden aprovechar la energía que está disponible en los compuestos inorgánicos. Este tipo de metabolismo se llama *quimiolitotrofía* (descubierto por Winogradsky, *véase* Sección 1.9) y los microorganismos que la llevan acabo se llaman **quimio-**

www.medilibros.com

litótrofos (Figura 2.18). Esta forma de metabolismo energético se encuentra sólo en microorganismos procarióticos y está ampliamente distribuido entre especies de *Bacteria* y de *Archaea*. El rango de compuestos inorgánicos diferentes que pueden usarse es amplio pero, por lo general, un grupo procariótico determinado suele especializarse en la utilización de uno o de un grupo de compuestos inorgánicos relacionados.

Parece obvio que la capacidad de obtener energía de los compuestos inorgánicos presenta sus ventajas: no existe competencia con los quimioorganótrofos. Además, muchos de los compuestos inorgánicos que son oxidados, como por ejemplo H_2 y H_2S, son en realidad productos de desecho de los quimioorganótrofos. Por tanto, los quimiolitótrofos han desarrollado estrategias para explotar recursos que los quimioorganótrofos no pueden usar.

Fotótrofos

Los microorganismos fotótrofos contienen pigmentos que les permiten utilizar la luz como fuente de energía, y por tanto sus células suelen estar intensamente coloreadas (Figura 2.2). A diferencia de los organismos quimiotrofos, los **fotótrofos** no usan compuestos químicos como fuente de energía y sintetizan ATP a expensas de la luz solar. Esto supone una ventaja muy significativa, ya que no existen problemas de competencia para obtener energía con los quimiótrofos y la luz está disponible en una amplia variedad de hábitats microbianos.

Entre los procariotas existen dos formas principales de fototrofía. En una, que se denomina fotosíntesis *oxigénica*, se produce oxígeno (O_2). La fotosíntesis oxigénica es característica en grupos como las cianobacterias, las algas y los organismos filogenéticamente relacionados con ellos. En la otra forma, llamada fotosíntesis *anoxigénica*, no se produce O_2 y es típica de las bacterias rojas y las bacterias verdes. Todos los fotótrofos usan la luz para generar ATP y más adelante consideraremos la gran similitud que presentan sus mecanismos de síntesis de ATP. La fotosíntesis se estudia con más detalle en el Capítulo 20.

Heterótrofos y autótrofos

Todas las células requieren carbono como un nutriente esencial. Las células microbianas son **heterótrofas** si requieren uno o más compuestos orgánicos como fuente de carbono, o **autótrofas** si la fuente de carbono es el CO_2. Los microorganismos quimioorganótrofos son también heterótrofos. Por el contrario, muchos quimiolitótrofos y prácticamente todos los fotótrofos son autótrofos. Los autótrofos se denominan tambien *productores primarios* porque sintetizan materia orgánica a partir de CO_2, tanto para su propio beneficio como para el de los quimioorganótrofos. Estos últimos se alimentan directamente de los productores primarios o bien a expensas de los productos que excretan. En último término, toda la materia orgánica de la Tierra ha sido sintetizada por los productores primarios, en particular por los fotótrofos.

Hábitats y condiciones ambientales extremas

Los microorganismos están presentes en todos los lugares de la Tierra que sean capaces de mantener la vida. Estos hábitats incluyen lugares que nos son familiares, como el suelo, el agua, los animales o las plantas, así como prácticamente cualquier estructura hecha por el hombre. La esterilidad (es decir, la ausencia de formas vi-

Tabla 2.1 Clases y ejemplos de extremófilos[a]

Extremo	*Término descriptivo*	*Género/especie*	*Dominio*	*Hábitat*	*Mínimo*	*Óptimo*	*Máximo*
Temperatura							
Elevada	Hipertermófilo	*Pyrolobus fumarii*[b]	*Archaea*	Caliente, fuentes hidrotermales submarinas	90 °C	**106 °C**	113 °C[b]
Baja	Psicrófilo	*Polaromonas vacuolata*	*Bacteria*	Hielo marino	0 °C	**4 °C**	12 °C
pH							
Bajo	Acidófilo	*Picrophilus oshimae*[c]	*Archaea*	Fuentes termales ácidas	−0.06	**0.7**[c]	4
Alto	Alcalófilo	*Natronobacterium gregoryi*[d]	*Archaea*	Lagos carbonatados	8.5	**10**[d]	12
Presión	Barófilo	*Moritella yayanosii*[e]	*Bacteria*	Sedimentos oceánicos	500 atm	**700 atm**	>1000 atm
Sal (NaCl)	Halófilo	*Halobacterium*	*Archaea*	Salinas	15%	**25%**	32% (saturación)

[a] El organismo citado en cada categoría es el que tiene el récord actual en cuanto a requerir una condición extrema particular para crecer.
[b] Se ha descrito que *Geogemma barosii*, una nueva especie de *Archaea* hipertermófila, es capaz de crecer a 121°C. Sin embargo, *Pyrolobus* permanece como el procariota mejor caracterizado que crece por encima de 110ºC.
[c] *P. oshimae* es también un termófilo, con crecimiento óptimo a 60°C.
[d] *N. gregoryi* es también un halófilo extremo, con crecimiento óptimo en 20% de NaCl.
[e] *Moritella yayanosii* es también un psicrófilo, con crecimiento óptimo alrededor de 4°C.

vas) es muy poco común en una muestra natural de cualquier tipo.

Desde el punto de vista humano, algunos ambientes ocupados por los microorganismos podrían considerarse como demasiado limitados para contener vida. Aunque algunos de estos ambientes pueden suponer también un desafío para el desarrollo de los microorganismos, los ambientes extremos están a menudo colonizados por la vida microbiana. Los organismos que habitan ambientes extremos se llaman **extremófilos** y constituyen un notable grupo de microorganismos que, en conjunto, definen los límites físico-químicos en los que la vida es posible.

Los extremófilos abundan en ambientes tan radicales como las fuentes termales con agua en ebullición, en el hielo que cubre los lagos, glaciares y mares polares, en aguas de elevada salinidad y en suelos y aguas que tienen un pH de 0 o tan alto como 12. Estos procariotas no son simplemente *tolerantes* a tales condiciones extremas, sino que realmente las *requieren* para crecer. Por esto se denominan extremófilos (del sufijo *philus*, amante de). La **Tabla 2.1** resume algunos de los «records» que presentan los procariotas extremófilos e indica el tipo de hábitats que ocupan. Muchos de estos microorganismos serán considerados de nuevo en capítulos posteriores (Capítulos 6 y 15-17).

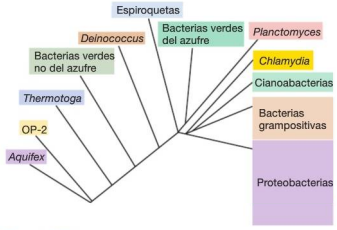


Figura 2.19 Árbol filogenético del dominio Bacterias. Los tamaños realtivos de los recuadros coloreados indican el número de géneros y especies que se conocen actualmente en cada grupo. Las Proteobacterias son el grupo más amplio de Bacterias. La línea evolutiva marcada en el árbol como OP-2 no representa un microorganismos cultivado sino una secuencia de RNA ribosómico aislado de un organismos en una muestra natural. En este caso, el más relacionado evolutivamente con OP-2 sería *Aquifex*. Aunque no se representan en este árbol, se conocen muchos miles de otras secuencias detectadas en el medio ambiente y que se distibuyen sobre todo el árbol. No se indican en este árbol todos los grupos conocidos de las *bacteria*.

2.8 Minirrevisión

Todas las células necesitan disponer de una fuente de carbono y de una fuente de energía. Los términos quimioorganótrofo, quimiolitótrofo y fotótrofo definen células que usan compuestos orgánicos, compuestos inorgánicos o la luz como fuente de energía, respectivamente. Los microorganismos autótrofos usan CO^2 como fuente de carbono y los heterótrofos usan el carbono de compuestos orgánicos. Los microorganismos extremófilos viven en ambientes que otros organismos son incapaces de resistir.

- ¿Cómo podría distinguir por simple observación microscópica un microorganismo fotótrofo de otro quimiótrofo?
- ¿Qué son los microorganismos extremófilos?

2.9 *Bacterias*

Como hemos indicado, los procariotas forman dos dominios evolutivos, Arqueas y Bacterias (Figura 2.17). La mayor parte de los procariotas mejor conocidos pertenecen al dominio Bacterias; comenzaremos con ellos.

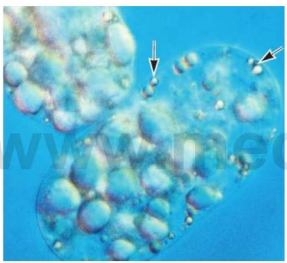
Proteobacterias, bacterias grampositivas y cianobacterias

El dominio Bacterias contiene una enorme variedad de procariotas. Todos los procariotas conocidos que causan enfermedades (patógenos) pertenecen a las bacterias, así como miles de especies no patógenas, y en este dominio se presenta una gran variedad de morfologías y fisiologías. La división **Proteobacterias** constituye la división más amplia dentro de las *bacterias* (**Figura 2.19**). Dentro de Proteobacterias se encuentran muchas bacterias quimioorganótrofas, como *Escherichia coli*, el organismo modelo por excelencia en fisiología, bioquímica y biología molecular microbiana, así como varias especies de fotótrofos y quimiolitótrofos (**Figura 2.20**). Muchos de estos últimos grupos usan sulfuro de hidrógeno (H_2S, que huele a huevos podridos) en su metabolismo, produciendo azufre elemental que se deposita dentro o fuera de la células (Figura 2.20). El azufre es un producto de la oxidación del H_2S y puede ser oxidado posteriormente a sulfato (SO_4^{2-}). El sulfuro y el azufre se oxidan para permitir funciones metabólicas tan importantes como la fijación de CO_2 (autotrofía) o la generación de energía (Figura 2.18).

Otros procariotas frecuentes del suelo y del agua, y especies que viven en las plantas o en los animales, bien sea de modo casual u originando enfermedades, también son miembros de Proteobacterias. Tal es el caso de especies de *Pseudomonas*, muchas de las cuales pueden degradar compuestos orgánicos complejos y algunas veces tóxicos, tanto naturales como sintéticos, y *Azotobacter*, una bacteria fijadora de nitrógeno en estado libre. Muchos patógenos importantes están también incluidos en la división Proteobacterias, como *Salmonella*, *Ric-*

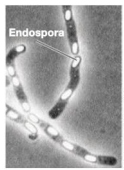
www.medilibros.com

(a)



(b)

Figura 2.20 **Proteobacterias fototróficas y quimiolitotróficas.** (*a*) La bacteria roja del azufre *Chromatium* es fotótrofa (células bacilares largas y rojizas en esta micrografía de una comunidad microbiana natural). Cada célula tiene unos 10 µm de diámetro. (*b*) La gran bacteria oxidante de azufre *Achromatium* es quimiolitótrofa. Cada célula tiene unos 20 µm de diámetro. En ambas células se aprecian glóbulos de azufre elemental (flechas). Los dos organismos realizan la oxidación del sulfuro de hidrógeno (H_2S).



(a)

(b)

Figura 2.21 **Bacterias grampositivas.** (*a*) La bacteria formadora de endosporas *Bacillus* tiene forma bacilar y aquí se muestra formando cadenas. Las endosporas, que son muy resistentes al calor, compuestos químicos y radiación, se observan como estructuras brillantes y refractiles dentro de la célula. Las células tienen unos 16 µm de diámetro. (*b*) *Streptococcus* es una célula esférica que se presenta en cadenas. Los estreptococos se presentan con frecuencia en los productos lácteos y algunos son patógenos muy potentes. Las células tienen unos 0,8 µm de diámetro.

kettsia, *Neisseria* y muchas otras. Por otra parte, de esta división proceden las mitocondrias que surgieron por endosimbiosis (Sección 2.7), un suceso que probablemente ocurrió varias veces durante el curso de la evolución (Figura 2.17).

Como vimos en la Sección 2.2, las bacterias se pueden diferenciar mediante la técnica de la tinción de Gram, que tiñe a las células como grampositivas o gramnegativas. La línea grampositiva de las bacterias incluye bacterias que están unidas por una filogenia común y una pared celular de estructura similar. Aquí encontramos a *Bacillus* formadores de endosporas (descubierto por Ferdinand Cohn, *véase* Sección 1.6) (**Figura 2.21a**), a *Clostridium* y a otras bacterias formadoras de esporas como el productor de antibióticos *Streptomyces*. También están en este grupo las bacterias del ácido láctico, que son habitantes comunes de materia vegetal en descomposición y de productos lácteos, como *Streptococcus* (Figura 2.11b) y *Lactobacillus*. Otras bacterias interesantes que se incluyen en esta división de bacterias grampositivas son los micoplasmas. Estas bacterias carecen de pared celular, poseen genomas muy pequeños y a menudo son patógenas. El género *Mycoplasma* es importante dentro de este grupo con importancia médica (*véase* Sección 16.3).

Las **cianobacterias** están filogenéticamente relacionadas con las bacterias grampositivas (Figura 2.19) y son fotótrofos oxigénicos. Los orgánulos fotosintéticos de los eucariotas fotótrofos, los cloroplastos (Figura 2.2*a*), están relacionados con las cianobacterias (Figura 2.17). Las cianobacterias han sido muy importantes en la evolución ya que fueron los primeros fotótrofos oxigénicos que aparecieron sobre la Tierra. La producción de O_2 en la Tierra primitivamente anóxica permitió la evolución de los procariotas que podían respirar usando oxígeno e hizo posible el posterior desarrollo de organismos superiores, como las plantas y los animales, miles de millones de años después, cuando el planeta presentó una atmósfera rica en oxígeno (Figura 1.6). Las células de algunas cianobacterias se unen para formar filamentos (**Figura 2.22**), y se conocen otras muchas formas de cianobacterias, con morfología unicelular, colonial o con formas especializadas que contienen estructuras llamadas *heterocistos* que llevan a cabo la fijación de nitrógeno (*véase* Sección 16.7).

www.medi

Figura 2.22 **Cianobacterias filamentosas.** (*a*) *Oscillatoria*. (*b*) *Spirulina*. Las células de ambos organismos tienen cerca de 10 µm de diámetro.

Otras líneas importantes de bacterias

Otras líneas filogenéticas de *Bacteria* contienen especies con morfologías singulares. Un ejemplo es el grupo acuático de Planctomyces, caracterizado por células con un pedúnculo peculiar que permite al organismo fijarse a un sustrato sólido (**Figura 2.23**) y a las espiroquetas, que presentan una morfología helicoidal (**Figura 2.24**). Algunas enfermedades, como la sífilis y la enfermedad de Lyme (*véanse* Secciones 34.13 y 35.4, respectivamente), están producidas por espiroquetas.

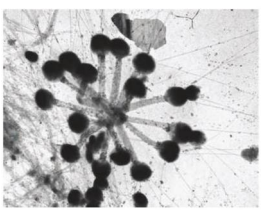


Figura 2.23 **La bacteria pedunculada *Planctomyces* presenta una morfología poco común.** Se muestran varias células unidas por su pedúnculo formando una roseta. Cada célula tiene un diámetro de unos 1,4 µm.

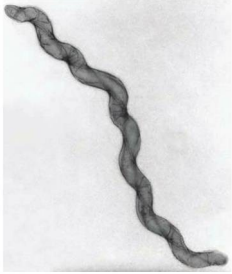


Figura 2.24 **Espiroquetas.** Célula de *Spirochaeta zuelzerae* vista al microscopio electrónico de barrido. La célula tiene una anchura aproximada de 0,3 µm y se presenta muy enroscada.

Dos líneas importantes de *Bacteria* son fotótrofas: las bacterias verdes del azufre y las bacterias verdes no del azufre (grupo *Chloroflexus*) (**Figura 2.25**). Las especies de ambas líneas evolutivas contienen pigmentos fotosintéticos similares y son también autótrofas. *Chloroflexus* es un procariota filamentoso que habita en fuentes termales y zonas marinas poco profundas, formando tapetes microbianos estratificados que contienen una comunidad de microorganismos (*véase* Sección 22.7). *Chloroflexus* es

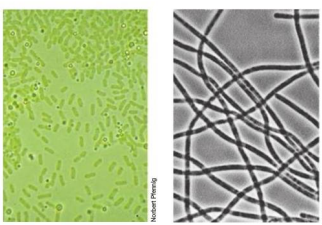


Figura 2.25 **Bacterias verdes fototróficas.** (*a*) *Chlorobium* (bacteria verde del azufre) cuyas células tienen cerca de 0,8 µm de diámetro. (*b*) *Chloroflexus* (bacteria verde no del azufre) que forma filamentos con una anchura aproximada de 1,3 µm. Aunque presentan algunas características comunes, como pigmentos y estructuras membranosas, estos microorganismos son filogenéticamente muy distintos.

también notable porque se piensa que representa un eslabón importante en la evolución de la fotosíntesis (*véanse* Secciones 16.18 y 20.7).

Otras dos líneas importantes dentro de las bacterias son los grupos de Clamidias y Deinococcus (Figura 2.19). El género *Chlamydia* agrupa patógenos del aparato respiratorio y de transmisión sexual en el hombre (*véanse* Secciones 16.9 y 34.14). Las clamidias son parásitos intracelulares estrictos, es decir, que viven *dentro* de las células de organismos superiores, en concreto del hombre. Otros procariotas patógenos (como por ejemplo especies de *Rickettsia*, un miembro de Proteobacterias que origina enfermedades como el tifus o la fiebre maculosa de las Montañas Rocosas, y la grampositiva *Mycobacterium tuberculosis* que produce la tuberculosis) también son patógenos intracelulares. Su localización dentro de las células del hospedador evita su destrucción por el sistema inmune del hospedador.

La línea de Deinococcus contiene especies con paredes celulares poco comunes y una singular resistencia a niveles altos de radiación; *Deinococcus radiodurans* (**Figura 2.26**) es una especie importante de este grupo que puede sobrevivir a dosis de radiación muchas veces superior a la necesaria para matar a animales y que puede reestructurar su cromosoma después de haber sido destruido por radiación. Aprenderemos más acerca de este curioso organismo en la Sección 16.17.

Finalmente, varias líneas del dominio *Bacteria* se separaron muy pronto en el árbol filogenético, muy cerca de la raíz (Figura 2.19). Aunque son diferentes entre sí, todos ellos comparten la propiedad de crecer a altas temperaturas (*hipertermofilia*, Tabla 2.1). Organismos como *Aquifex* (**Figura 2.27**) o *Thermotoga* crecen en ambientes que están a una temperatura próxima a la de la ebullición del agua. La ramificación temprana de estas líneas evolutivas en el árbol de la vida (Figura 2.19) tiene sentido teniendo en cuenta que la Tierra primitiva estaba a temperaturas más elevadas que en la actualidad. Si suponemos que las primeras formas de vida fueron hipertermófilas, no resulta sorprendente que sus descendientes vivos más directos sean también ellos mismos hipertermófilos. Las ramificaciones filogenéticas de *Bacteria* y de *Archaea* apoyan esta interpretación (Figura 2.19 y Figura 2.28) y puede que microorganismos como *Aquifex*, *Methanopyrus* y *Pyrolobus* sean los descendientes más modernos de líneas celulares evoltivamente muy antiguas.

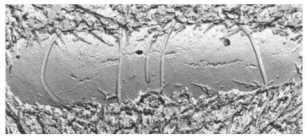


Figura 2.27 **El hipertermófilo *Aquifex*.** Micrografía obtenida con un microscopio óptico de transmisión mediante la técnica de criocorrosión, en la que se realiza primero una réplica de la célula congelada que luego se visualiza. La célula presenta una anchura próxima a 0,5 μm.

2.9 Minirrevisión

Se conocen varias líneas evolutivas del dominio Bacteria que representan una enorme variedad de morfologías y fisiologías celulares.

- ¿Cuál es la línea evolutiva más grande dentro de Bacteria?
- ¿Por qué se dice que las cianobacterias prepararon la Tierra para la evolución de formas superiores de vida?
- ¿En qué aspecto fisiológico es singular *Deinococcus*?

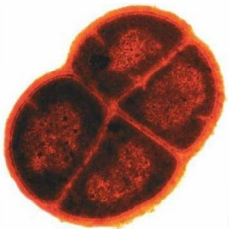


Figura 2.26 **La bacteria *Deinococccus radiodurans* es extraordinariemente resistente a las radiaciones.** Una célula individual tiene cerca de 2,5 μm de diámetro.

2.10 Arqueas

El análisis del dominio *Archaea* permite observar que existen dos subdivisiones importantes en estos procariotas, Euryarchaeotas y Crenarchaeotas (**Figura 2.28**). Cada una de ellas forma una rama principal del árbol filogenético de las arqueas. La mayoría de los microoganismos pertenecientes a las arqueas son extremófilos, siendo capaces de crecer a las mayores temperaturas, salinidades y valores extremos de pH de entre todos los organismos conocidos. El microorganismo *Pyrolobus* (**Figura 2.29**), por ejemplo, es uno de los procariotas conocidos más termofílicos (Tabla 2.1).

Aunque todas las especies incluidas en las arqueas son quimiótrofas, *Halobacterium* (del que trataremos más adelante) puede usar la luz para sintetizar ATP, pero de manera muy distinta de los organismos fotótrofos típicos. Algunas las arqueas usan compuestos orgánicos para

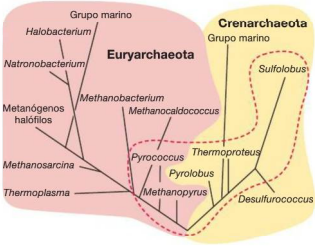


Figura 2.28 **Árbol filogenético del dominio *Archaea*.** Los organismos incluidos en la línea discontinua roja son hipertermófilos que crecen a muy altas temeperaturas (*Crenarchaeotas*). Con fondo rosa se muestran los metanógenos, los halófilos y los acidófilos extremos (*Euryarchaeotas*). El «grupo marino» corresponde a secuencias de rRNA de miembros de *Archaea* detectadas en muestras de ambientes marinos que aún no se han cultivado. No se indican en este árbol todos los grupos conocidos de *Archaea*.

www.medil

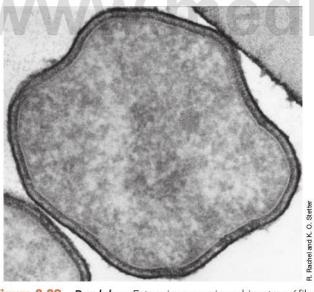


Figura 2.29 ***Pyrolobus*.** Este microorganismo hipertermófilo presenta crecimiento óptimo por encima del punto de ebullición del agua. La célula tiene un diámetro de alrededor de 1,4 µm.

obtener la energía, aunque la mayoría son quimiolitótrofas, siendo el hidrógeno (H_2) su fuente de energía preferida. La quimiolitotrofía está particularmente extendida entre las especies termófilas de arqueas.

Euryarchaeotas

La rama *Euryarchaeota* del dominio *Archaea* (Figura 2.28) contiene tres grupos que muestran notables diferencias fisiológicas: los metanógenos, los halófilos extremos y los termoacidófilos. Algunos de éstos requieren O_2, mientras que es nocivo para otros, y otros pueden crecer en los valores más bajos o más altos de pH (Tabla 2.1). Los metanógenos como *Methanobacterium* son anaerobios estrictos y su metabolismo es único porque obtienen energía durante la producción de metano (gas natural). Los metanógenos son importantes para la degradación anaerobia de la materia orgánica en la naturaleza, y la mayor parte del gas natural de la Tierra es el resultado de su metabolismo.

Los halófilos extremos son parientes cercanos de los metanógenos (Figura 2.28), pero fisiológicamente son muy distintos de ellos. A diferencia de los metanógenos, que mueren en presencia de oxígeno, los halófilos extremos necesitan oxígeno y comparten la necesidad de concentraciones salinas (NaCl) muy elevadas para llevar a cabo su metabolismo y reproducción. Precisamente por sus requerimientos de sal se les denomina halófilos (amantes de la sal). De hecho, organismos del tipo de *Halobacterium* son tan halófilos que sólo pueden crecer asociados a cristales de sal (**Figura 2.30**).

Como se ha indicado previamente, muchos procariotas son fotótrofos y pueden generar trifosfato de adenosina (ATP) a partir de la luz (Sección 2.8). Aunque las especies de *Halobacterium* no producen clorofila como los auténticos fotótrofos, contienen pigmentos fotosensibles que pueden absorber la luz y sintetizar ATP (*véase* Sección 17.3). Las *Archaea* halófilas extremas habitan en lagos salinos, salinas costeras y otros ambientes muy salinos. Algunos halófilos extremos, como *Natronobacterium*, viven en ambientes acuáticos caracterizados por elevadas concentraciones salinas y elevados valores de

Figura 2.30 **Arqueas halófilas extremas.** Un vial con salmuera y cristales de sal precipitada que contiene el halófilo extremo *Halobacterium*. El organismo presenta pigmentos que absorben la luz y permiten la producción de ATP. Las células de *Halobacterium* también pueden vivir incluso dentro de los cristales de sal (*véase* Información Adicional, Capítulo 4, «¿Cuánto puede vivir una espora?»).

pH. Tales organismos se denominan *alcalófilos* y crecen a los valores de pH más elevados de todos los organismos conocidos.

El tercer grupo de Euryarchaeotas es el de los termoacidófilos, que incluye a *Thermoplasma*, un organismo que, como *Mycoplasma* (Sección 2.9), tiene membrana citoplásmica pero carece de pared celular. *Thermoplasma* crece mejor a temperaturas moderadamente altas y a pH bajo. En el grupo de los termoacidófilos también se incluye a *Picrophilus*, que es el procariota más acidófilo de todos los conocidos (Tabla 2.1).

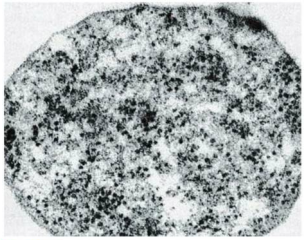
Crenarchaeotas

La mayoría de los microorganismos cultivados de esta rama son hipertermófilos (Figura 2.29). Estos organismos son quimiolitótrofos o quimioorganótrofos y crecen en ambientes de temperatura tan elevada como la que se detecta en fuentes termales y en las chimeneas hidrotermales de los fondos oceánicos. En su mayoría son anaerobios, pues debido a las altas temperaturas sus hábitats son típicamente anóxicos y muchos de ellos usan como fuente de energía el hidrógeno gaseoso (H_2) que está presente en esos ambientes.

Algunos miembros de las Crenarchaeotas habitan medios que contrastan fuertemente con ambientes de temperatura elevada. Por ejemplo, muchos procariotas que se encuentran empujados por las corrientes en mar abierto son Crenarchaeotas: su ambiente es completamente oxigénico y frío (aproximadamente 3 °C). Algunos Crenarchaeotas marinos son quimiolitótrofos que usan amoníaco (NH_3) como fuente de energía, pero se conoce muy poco acerca del metabolismo de estas arqueas marinas. También se han detectado crenarchaeotas en el suelo y en aguas dulces, de modo que parecen estar ampliamente distribuidos en la naturaleza.

Análisis filogenético de comunidades microbianas naturales

Los microbiólogos consideran que hasta ahora sólo se ha logrado cultivar una pequeña fracción de arqueas y de bacterias respecto a lo que realmente existe en la naturaleza. No obstante, se conoce bastante sobre la biodiversidad de estos dominios debido a que es posible realizar análisis filogenéticos sobre el rRNA presente en una muestra natural sin tener que cultivar antes los microorganismos que contiene. Si una muestra de suelo o de agua contiene rRNA resulta obvio que debe estar presente el microorganismo al que pertenece tal RNA ribosómico. Por tanto, podemos aislar todos los diferentes genes rRNA de dicha muestra y, mediante las técnicas descritas en la Figura 2.16, secuenciarlos y ordenarlos en un árbol filogenético. Desde un punto de vista conceptual, esto equivale a que primero se aislaran en cultivo puro todos los microorganismos diferentes de la muestra y después se extrajeran sus genes rRNA. Esta estrategia elude la etapa del cultivo, que a menudo supone un verdadero cuello de botella en estudios sobre diversidad microbiana, y permite analizar directamente los genes rRNA.



T. D. Brock

Figura 2.31 **Arqueas acidófilas extremas.**
El microorganismo *Thermoplasma* carece de pared celular. La célula mide 1 μm de diámetro.

La aplicación de estos métodos moleculares al estudio de la ecología microbiana, inicialmente ideados por el microbiólogo norteamericano Norman Pace, permite saber que la diversidad microbiana es mucho mayor que la que inicialmente se había considerado sobre la base del cultivo en el laboratorio. De hecho, el muestreo de prácticamente cualquier hábitat suele revelar que la gran mayoría de los microorganismos presentes nunca se ha logrado cultivar antes en el laboratorio. La filogenia de estos organismos no cultivados, cuya existencia se conoce sólo a partir de las secuencias de rRNA presentes en el medio ambiente (Figuras 2.19 y 2.28), se refleja en los árboles filogenéticos como ramas designadas con letras o números en vez de con nombres microbianos para identificar líneas evolutivas.

Los resultados de la ecología microbiana molecular han supuesto un impulso para el desarrollo de nuevas técnicas orientadas a lograr el crecimiento y el cultivo en el laboratorio de la gran «mayoría no cultivada» de procariotas, cuya existencia conocemos actualmente. El análisis genómico de las arqueas y bacterias no cultivadas, mediante la utilización de técnicas de genómica ambiental (*véanse* Secciones 13.13 y 22.6), supone una gran ayuda a este respecto, pues el conocimiento del conjunto completo de genes de los organismos no cultivados a menudo revela sus propiedades metabólicas y sugiere métodos para lograr su cultivo en condiciones de laboratorio.

2.10 Minirrevisión

Dentro de Arqueas se reconocen dos líneas filogenéticas importantes, Euryarchaeotas y Crenarchaeotas. La recuperación y el análisis de los genes rRNA que se obtiene de muestras naturales ha permitido revelar la existencia en la naturaleza de

muchas especies filogenéticamente distintas pertenecientes a los dominios Arqueas y Bacterias que aún no se han logrado cultivar en el laboratorio.

- ¿Cuál es la característica más destacable del género Halobacterium? ¿Qué grupo de arqueas produce el gas natural? ¿Qué es el gas natural desde el punto de vista químico?
- ¿Cómo sabemos que en un hábitat natural existe una diversidad microbiana sin aislar y cultivar los microorganismos que contiene?

2.11 Microorganismos eucarióticos

Los microorganismos eucarióticos presentan una afinidad interna por su estructura celular propia (Figura 2.11) y por su historia evolutiva (Figura 2.17). El dominio *Eukarya* (**Figura 2.32**) forma una larga línea evolutiva que culmina con las plantas y los animales; estas ramas alejadas se consideran los grupos «más evolucionados». Algunas de las ramas más antiguas de *Eukarya* están formadas por eucariotas que son estructuralmente sencillos y que carecen de mitocondrias y de otros orgánulos importantes. Estas células, como las de la diplomónada *Giardia*, parecen ser las descendientes actuales de células eucarióticas primitivas que no realizaron endosimbiosis o que por otro motivo perdieron el microorganismo acompañante a lo largo de la evolución. La mayoría de estos eucariotas primitivos son incapaces de vivir en estado libre e independiente y parasitan al hombre y a otros animales.

Diversidad de los microorganismos eucarióticos

Existe una gran diversidad entre los eucariotas. En conjunto, los microorganismos eucarióticos se llaman *protistas*, un término que engloba a las algas, los protozoos y los hongos microscópicos. Algunos protistas, como las algas (**Figura 2.33***a*) son fotótrofos, contienen cloroplastos y pueden vivir en medios naturales a expensas de unos cuantos minerales (como K, P, Mg, N, S), agua, CO_2 y luz. Las algas habitan suelos y medios acuáticos, y constituyen los productores primarios más importantes de la naturaleza. Los hongos (Figura 2.33*b*) carecen de pigmentos fotosintéticos y pueden ser unicelulares (levaduras) o filamentosos (mohos). Los hongos son los principales agentes de biodegradación en la naturaleza y reciclan la materia orgánica en los suelos y en otros ecosistemas.

Las células de las algas y los hongos presentan paredes celulares, pero las de los protozoos no (Figura 2.33*c*).

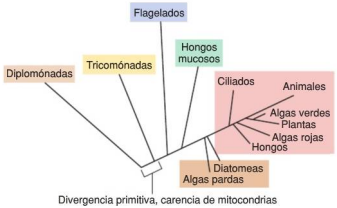


Figura 2.32 Árbol filogenético de Eucariotas. Algunas especies de eucariotas con divergencia temprana carecen de orgánulos diferentes del núcleo. Nótese cómo las ramas de los organismos superiores (plantas y animales) aparecen al final del árbol. No se indican en este árbol todos los grupos conocidos de *Eukarya*.

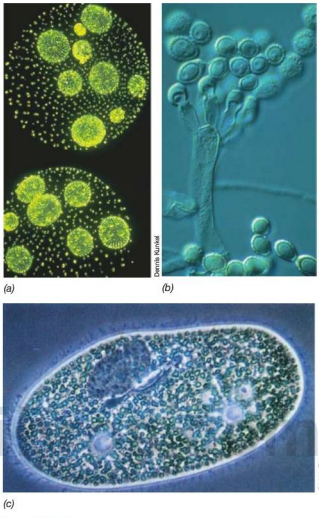


Figura 2.33 Eucariotas microbianos. (*a*) Algas, ejemplificadas por el alga verde colonial *Volvox*. Cada célula esférica contiene varios cloroplastos, los orgánulos para la fotosíntesis de los eucariotas fotótrofos. (*b*) Hongos, se presenta la estructura productora de esporas de un hongo filamentoso típico. Cada espora puede originar un nuevo hongo filamentoso. (*c*) Protozoos, ejemplificados por el ciliado *Paramecium*. Los cilios funcionan como remos de un bote, proporcionando movilidad a la célula. Los eucariotas microbianos se estudian en el Capítulo 18.

La mayoría de los protozoos son móviles y muchas especies se distribuyen en ambientes acuáticos y como patógenos del hombre y de otros animales. A lo largo del árbol filogenético de los eucariotas se presentan diferentes tipos de protozoos. Algunos, como los flagelados, son de aparición temprana, mientras que otros, como los ciliados representados por *Paramecium* (Figura 2.33*c*) son filogenéticamente posteriores (Figura 2.32).

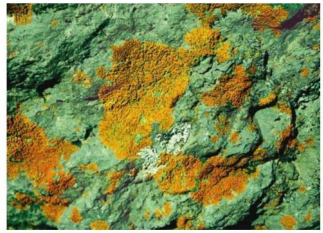
Los hongos mucosos se parecen a los protozoos en que son móviles y carecen de pared celular, pero difieren de ellos en su filogenia y por el hecho de que sus células pasan por un ciclo de vida en que las células móviles se agregan formando una estructura pluricelular llamada cuerpo fructificante, que origina esporas que se convertirán en nuevas células móviles. Los hongos mucosos son los protistas más antiguos que manifiestan una cooperación celular necesaria para formar estructuras pluricelulares.

Los líquenes son estructuras laminares que crecen a menudo sobre rocas, árboles y otras superficies (**Figura 2.34**). Los líquenes son un ejemplo de mutualismo microbiano, una situación en que dos organismos viven juntos para beneficio de ambos. Los líquenes están formados por un hongo y un microorganismos fotótrofo, bien sea un alga (eucariota) o una cianobacteria (procariota). El componente fotótrofo es el productor primario, mientras que el hongo proporciona tanto anclaje al sustrato como protección frente al medio. Por tanto, los líquenes han desarrollado con éxito una estrategia de interacción mutua entre dos microorganismos muy diferentes.

Comentarios finales

Este paseo por la diversidad microbiana nos proporciona sólo, por necesidades de espacio, una perspectiva general sobre la diversificada vida microbiana. La realidad de esta historia es mucho más larga y continúa en los Capítulos 14-18. Los virus no se han considerado aquí de modo intencionado, porque no son células (aunque requieran células para su multiplicación como se indicó en la Sección 2.5). En todos los dominios de la vida, las células poseen parásitos víricos y la diversidad vírica será tratada en los Capítulos 10 y 19.

Sin embargo, antes de continuar con un tratamiento más detallado de la diversidad microbiana debemos familiarizarnos con las propiedades moleculares de las células. En el siguiente capítulo iniciaremos este tema examinando la composición química de los componentes celulares, y nos centraremos especialmente en la química de las macromoléculas para poner de manifiesto que los diferentes tipos de células deben sus diferencias a la estructura y función de sus macromoléculas. Con esta base, continuaremos en sucesivos capítulos el estudio de la estructura, metabolismo, crecimiento, y genética de los microorganismos con el fin de estar mejor preparados para analizar de nuevo con más profundidad la diversidad microbiana.



(*a*)

(*b*)

Figura 2.34 **Líquenes.** (*a*) Un liquen anaranjado creciendo sobre una roca y (*b*) otro amarillo reciendo sobre un tronco de árbol en el Parque Nacional de Yellowstone, USA. El color del liquen se debe a los pigmentos del alga que forma parte de la asociación simbiótica. Además de clorofila, el alga contiene pigmentos carotenoides, que pueden ser de color amarillo, naranja, marrón, rojo, verde o morado.

2.11 Minirrevisión

Los microorganismos eucarióticos forman un grupo diversificado que incluye las algas, los protozoos y los hongos. Algunas algas y hongos han desarrollado asociaciones de mutualismo denominadas líquenes.

- Cite al menos dos diferencias entre las algas y las cianobacterias.
- Cite al menos dos diferencias entre las algas y los protozoos.
- ¿De qué modo se benefician mutuamente los dos componentes de un liquen?

Glosario de términos

Archaea: uno de los dos dominios de los procariotas, distinto del dominio *Bacteria*.

Autótrofo: organismo capaz de crecer con dióxido de carbono (CO_2) como única fuente de carbono.

Bacteria: uno de los dos dominios de los procariotas, diferente del dominio *Archaea*.

Bacteria gramnegativa: célula procariótica cuya pared celular contiene una membrana externa y peptidoglicano y se tiñe de rosa en la tinción de Gram.

Bacteria grampositiva: célula procariótica cuya pared celular está compuesta básicamente por peptidoglicano y que se tiñe de morado en la tinción de Gram.

Cianobacterias: procariotas fotótrofos oxigénicos.

Citoplasma: contenido celular que se encuentra dentro de la membrana citoplasmática.

Cromosoma: elemento genético que lleva genes esenciales para el funcionamiento de la célula.

Dominio: nivel taxonómico más elevado de la clasificación biológica.

Endosimbiosis: proceso por el que las mitocondrias y los cloroplastos se originaron a partir de miembros del dominio *Bacteria*.

Eucariota: célula con un núcleo rodeado por membrana y, por lo general, con otros orgánulos limitados por membranas.

Eukarya: dominio biológico que incluye todas las células eucarióticas.

Evolución: cambio a lo largo del tiempo de una línea filogenética que origina nuevas especies, o variedades dentro de la especie.

Extremófilo: organismo con crecimiento óptimo en una o varias condiciones extremas.

Filogenia: conjunto de relaciones evolutivas entre los organismos.

Fotótrofo: organismo que utiliza la luz como fuente de energía.

Genoma: conjunto de genes de un organismo.

Heterótrofo: organismo que requiere compuestos orgánicos como fuente de carbono.

Membrana citoplasmática: barrera con permeabilidad selectiva que envuelve el citoplasma y lo separa del medio.

Núcleo: estructura rodeada por una membrana que contiene los cromosomas en las células eucarióticas.

Nucleoide: agregación formada por el DNA que constituye el cromosoma de las células en los dominios *Archaea* y *Bacteria*.

Orgánulo: estructura rodeada por una unidad de membrana, como la mitocondria y el cloroplasto, localizada en el citoplasma celular.

Pared celular: estructura rígida situada por fuera de la membrana citoplásmica, que proporciona rigidez a la célula y la protege de la lisis osmótica.

Plásmido: elemento genético extracromosómico que no es necesario para el crecimiento.

Poder de resolución: capacidad de un microscopio para distiguir dos puntos u objetos muy próximos y verlos como separados.

Procariota: célula que carece de núcleo delimitado por membrana y de otros orgánulos.

Proteobacteria: una gran línea evolutiva de *Bacteria* que incluye muchas bacterias gramnegativas comunes, como *Escherichia coli*.

Quimiolitótrofo: organismo que obtiene su energía de la oxidación de compuestos inorgánicos.

Quimioorganótrofo: organismo que obtiene su energía de la oxidación de compuestos orgánicos.

Ribosoma: partícula citoplasmática donde se realiza el proceso de síntesis de proteína.

Tinción de Gram: técnica de tinción diferencial mediante la cual las células se tiñen de rosa (gramnegativas) o de morado (grampositivas) en función de su estructura y su posición filogenética.

Virus: elemento genético que contiene DNA o RNA y se replica en las células; tiene también una fase extracelular.

www.megalibros.com

Preguntas de repaso

1. ¿Cuál es la finalidad de la tinción de las muestras en microscopía óptica? ¿Por qué se utilizan los colorantes catiónicos como agentes generales de tinción (Secciones 2.1 y 2.2)?
2. ¿Qué ventaja ofrece el microscopio de contraste de interferencia diferencial respecto al microscopio de campo claro? ¿Qué ventaja presenta el microscopio de contraste de fases sobre el de campo claro (Sección 2.3)?
3. ¿Cuál es la principal ventaja de los microscopios electrónicos sobre los microscopios ópticos? ¿Qué tipo de microscopio electrónico utilizaría para ver las estructuras tridimensionales de una célula (Sección 2.4)?
4. ¿Por qué necesita la célula una membrana citoplasmática (Sección 2.5)?
5. ¿En qué dominios aparece la estructura celular procariótica? ¿Este tipo de estructura celular indica alguna relación evolutiva (Sección 2.5)?
6. ¿Cuál es el tamaño de una célula de la bacteria *Escherichia coli*?¿Cuántas veces es usted mas grande que esta célula aislada (Sección 2.5)?
7. ¿En qué se parecen los virus a las células? ¿En qué difieren (Sección 2.5)?
8. ¿Qué significa el término genoma? ¿En qué se diferencia el cromosoma de los procariotas del de los eucariotas (Sección 2.6)?
9. ¿Cuántos genes tiene un organismo como *Escherichia coli*? ¿Y si se compara con el número de genes de una de sus propias células (Sección 2.6)?

10. ¿Qué es la endosimbiosis (Sección 2.7)?

11. Estudios moleculares han puesto de manifiesto que muchas macromoléculas de las especies de *Archaea* tienen mayor homología con las de varios eucariotas que con las especies de bacterias. Explique este hecho (Sección 2.7).

12. ¿En qué se diferencian los quimioorganótrofos de los quimiolitótrofos desde el punto de vista del metabolismo energético? ¿Qué tipos de fuentes de carbono utilizan los miembros de cada grupo? Por tanto, ¿son heterótrofos o autótrofos (Sección 2.8)?

13. ¿En qué dominio se incluye a las especies de Proteobacterias? ¿Qué puede destacar de ellas (Sección 2.9)?

14. ¿Por qué es especial el organismo *Pyrolobus* (Secciones 2.8 y 2.10)?

15. ¿Qué similitudes y qué diferencias existen entre estos tres organismos: *Pyrolobus*, *Halobacterium* y *Thermoplasma* (Sección 2.10)?

16. Examine la Figura 2.28. ¿Qué significa la línea «grupo marino» (Sección 2.10)?

17. ¿En qué se diferencia *Giardia* de una célula humana, tanto en el aspecto estructural como filogenético (Sección 2.11)?

Ejercicios prácticos

1. Calcule el tamaño del objeto más pequeño que puede resolverse si se utiliza una luz de 600 nm para observar la muestra con un objetivo de inmersión de 100 aumentos y una apertura numérica de 1,32. ¿De qué forma podría mejorarse la resolución empleando esa misma lente?

2. Las células procarióticas que contienen plásmidos se pueden «curar» de esos plásmidos (es decir, pueden eliminarlos de forma permanente) sin efectos indeseables, mientras que la eliminación del cromosoma es letal. Explique la razón.

3. El conocimiento de la evolución de los macroorgansmismos precedió en mucho al de los microorganismos. ¿Porqué la reconstrucción de la evolución de los caballos, por ejemplo, parece una cuestión más sencilla que hacer lo mismo con cualquier grupo de procariotas?

4. Examine el árbol filogenético de la Figura 2.16. Empleando la secuencia mostrada, explique por qué el árbol sería incorrecto si sus ramas permanecieran sin cambio pero las posiciones de los organismos 2 y 3 en el árbol se cambiaran.

5. Los microbiólogos han cultivado una gran variedad de microorganismos pero saben que la diversidad es mucho mayor pese a que no ha sido posible ver o cultivar muchos de ellos en el laboratorio. Explique este hecho.

6. ¿Qué datos de este capítulo podría utilizar para convencer a sus amigos de que los extremófilos no son únicamente organismos que «resisten» las condiciones de sus hábitats respectivos?

7. Defienda este argumento: si las cianobacterias no hubiesen evolucionado, la vida en la Tierra habría permanecido estrictamente microbiana.

www.medilibros.com

3

Química de los componentes celulares

I ENLACES QUÍMICOS, MACROMOLÉCULAS Y AGUA 56

3.1 Enlaces fuertes y débiles 56

3.2 Las macromoléculas y el agua como disolvente de la vida 58

II MACROMOLÉCULAS SIN INFORMACIÓN 60

3.3 Polisacáridos 60

3.4 Lípidos 62

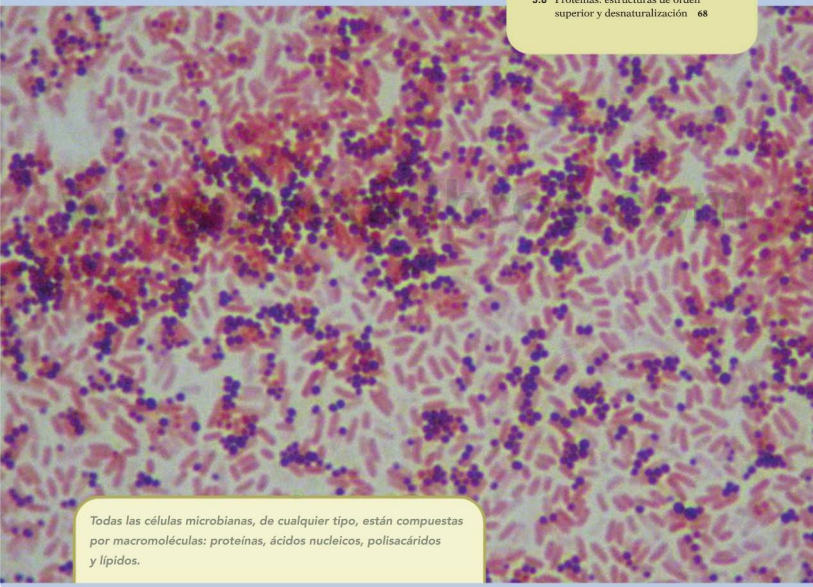
III MACROMOLÉCULAS CON INFORMACIÓN 63

3.5 Ácidos nucleicos 63

3.6 Aminoácidos y enlace peptídico 65

3.7 Proteínas: estructuras primaria y secundaria 67

3.8 Proteínas: estructuras de orden superior y desnaturalización 68



Todas las células microbianas, de cualquier tipo, están compuestas por macromoléculas: proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos y lípidos.

I ENLACES QUÍMICOS, MACROMOLÉCULAS Y AGUA

Como hemos visto en los dos primeros capítulos, todas las células tienen mucho en común. La esencia de la diversidad microbiana se basa en las variaciones que las células muestran respecto a la naturaleza química y la disposición de sus componentes celulares. Estas variaciones proporcionan propiedades especiales a cada tipo de célula y permiten llevar a cabo funciones específicas.

Para comprender cómo funcionan las células se debe saber algo de las moléculas presentes y de los procesos químicos que ocurren en ellas. Las moléculas, especialmente las macromoléculas, son la esencia de las células y el tema fundamental de este capítulo. Se supone que el lector tiene ya algunas nociones de química elemental sobre la naturaleza de los átomos y los enlaces entre ellos. Ampliaremos dichos conocimientos presentando primero los enlaces químicos más importantes y, a continuación, una exposición sobre la estructura y función de las cuatro clases de macromoléculas.

3.1 Enlaces fuertes y débiles

Los principales elementos químicos para la vida son hidrógeno, oxígeno, carbono, nitrógeno, fósforo y azufre (*véase* Sección 5.1). Éstos se pueden unir de varios modos para formar las moléculas de la vida. Una **molécula** son dos o más átomos unidos químicamente entre sí. Por ejemplo, dos átomos de oxígeno (O) se combinan para formar una molécula de oxígeno (O_2). De modo similar, los átomos de carbono (C), hidrógeno (H) y O se pueden combinar para formar glucosa, $C_6H_{12}O_6$, que es un azúcar del tipo de las hexosas (*véase* Figura 3.4).

Enlaces covalentes

En los seres vivos, los elementos químicos forman enlaces fuertes en los que los electrones son compartidos entre los átomos más o menos equitativamente. Éstos se denominan enlaces covalentes. Para imaginar un enlace covalente, consideremos la formación de una molécula de agua a partir de sus elementos constituyentes, O y H:

El oxígeno contiene seis electrones en su capa más externa mientras que el hidrógeno tiene un solo electrón. Cuando se combinan para formar H_2O lo hacen por medio de enlaces covalentes que mantienen los tres átomos en una asociación fuerte. En algunos compuestos se pueden formar enlaces covalentes dobles o triples (**Figura 3.1**). La fuerza de estos enlaces aumenta notablemente en función de su número. En las células, los enlaces covalentes sencillos o dobles son los más frecuentes; las sustancias con enlaces triples son raras.

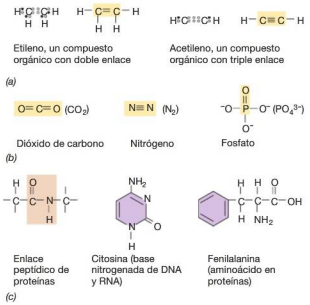


Figura 3.1 Enlace covalente de algunas moléculas que presentan doble o triple enlace. *(a)* En el caso del acetileno y del etileno se señala la configuración electrónica de la molécula y la representación convencional de los enlaces. *(b)* Algunos compuestos inorgánicos con doble enlace. *(c)* Algunos compuestos orgánicos con doble enlace.

www.medilibros.com

Los elementos químicos se unen en combinaciones diferentes para formar **monómeros**, que son moléculas pequeñas que a su vez se unen entre sí para formar moléculas más grandes llamadas **polímeros**. En los seres vivos, los polímeros unidos covalentemente se denominan **macromoléculas**. Se conocen miles de monómeros pero para formar las cuatro clases de macromoléculas sólo es importante un número relativamente reducido. En gran medida, las propiedades químicas de los monómeros determinan las propiedades estructurales y funcionales de las macromoléculas.

Puentes de hidrógeno y polaridad

Además de los enlaces covalentes, en las moléculas biológicas también tienen un papel importante varios enlaces químicos más débiles. Entre éstos, los más importantes son los enlaces de hidrógeno o **puentes de hidrógeno**, que se forman a consecuencia de las interacciones electrostáticas débiles entre los átomos de hidrógeno y átomos más electronegativos (que atraen electrones), como el oxígeno o el nitrógeno (**Figura 3.2**). Por ejemplo, como un átomo de oxígeno es electronegativo, mientras que uno de hidrógeno no lo es, los electrones compartidos en el enlace covalente orbitan ligeramente más cerca del núcleo del oxígeno que del núcleo del hidrógeno. Debido a que los electrones llevan carga negativa, esto crea una separación de carga que hace que el oxígeno sea débilmente negativo y el hidrógeno débilmente positivo; esta es la base del puente de hidrógeno. Un solo puente de hidrógeno es un enlace muy débil, pero cuando se forman muchos intra-

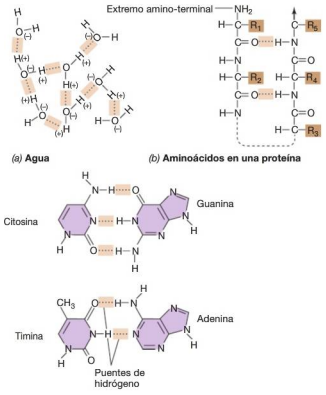


Figura 3.2 Puentes de hidrógeno en el agua y en compuestos orgánicos. Los puentes de hidrógeno se muestran como líneas de puntos. En *(b)* R representa la cadena lateral del aminoácido (Figura 3.12). *(c)* Puentes de hidrógeno que se forman en el apareamiento de bases complementarias del DNA.

www.medilibros.com

molecularmente o entre moléculas distintas la estabilidad global de las moléculas aumenta de modo notable.

El agua es una sustancia **polar**. Por esta razón, las moléculas de agua tienden a asociarse entre sí y se separan de las moléculas **no polares** (hidrofóbicas). En el agua se establecen muchos puentes de hidrógeno. Cuando las moléculas de agua se orientan en solución, la débil carga positiva de un átomo de hidrógeno puede formar un puente con las cargas negativas de los átomos de oxígeno (Figura 3.2*a*). Los puentes de hidrógeno también se forman en las macromoléculas (Figura 3.2*b,c*). Cuando estas fuerzas débiles se acumulan en una molécula grande, como una proteína, mejoran la estabilidad de la molécula y afectan a su estructura. En las Secciones 3.5, 3.7, y 3.8 veremos que los puentes de hidrógeno tienen funciones importantes en las propiedades biológicas de las proteínas (Figura 3.2*b*) y de los ácidos nucleicos (Figura 3.2*c*).

Otros enlaces débiles

En las células también son importantes otros tipos de interacciones débiles diferentes a los puentes de hidrógeno. Por ejemplo, las fuerzas de *van der Waals* son fuerzas débiles de atracción que ocurren cuando los átomos se encuentran a una distancia menor de 3-4 angstroms (Å). El efecto de estas fuerzas puede ser importante en la unión entre las enzimas y los sustratos (*véase* Sección 5.5) y en las interacciones entre proteínas y ácidos nucleicos.

Los *enlaces iónicos,* como los que se producen en la molécula de NaCl entre el Na^+ y el Cl^-, son interacciones electrostáticas débiles que permiten la ionización en soluciones acuosas. Muchas biomoléculas importantes, como los ácidos carboxílicos y los fosfatos (**Tabla 3.1**) están ionizados al pH del citoplasma (normalmente entre 6-8) y por tanto pueden disolverse en el citoplasma hasta niveles elevados.

Las *interacciones hidrofóbicas* también se consideran enlaces débiles. Éstas ocurren cuando las moléculas no polares o las regiones no polares de moléculas se asocian estrechamente en un ambiente polar. Las interacciones hidrofóbicas juegan un papel esencial en la determinación del plegamiento de las proteínas (Secciones 3.7 y 3.8) y, junto con las fuerzas de van der Waals, son también importantes en la unión entre enzimas y sustratos (*véase* Sección 5.5). Además, las interacciones hidrofóbicas controlan a menudo el modo en que se asocian las diferentes subunidades de una proteína compleja para formar una molécula biológicamente activa (estructura cuaternaria, Sección 3.8), y favorecen la estabilidad del RNA y de las membranas citoplasmáticas.

Modelos de unión en las biomoléculas

El carbono es el elemento principal de todas las macromoléculas. El carbono puede unirse, no sólo consigo mismo, sino también con muchos otros elementos para formar grandes estructuras de una diversidad y complejidad considerables. Los distintos compuestos orgánicos (que contienen carbono) tienen diferentes modelos de unión. Cada uno de estos modelos, llamados *grupos funcionales,* posee propiedades químicas singulares que determinan su función biológica en la célula. El conocimiento de los grupos funcionales más importantes facilitará nuestra posterior exposición sobre la estructura macromolecular, la fisiología y la bioquímica celular. La Tabla 3.1 presenta varios de estos grupos funcionales de importancia bioquímica, junto con ejemplos de moléculas o macromoléculas que los contienen.

3.1 Minirrevisión

Los enlaces covalentes son enlaces fuertes que unen elementos en las macromoléculas. Los enlaces débiles, como los puentes de hidrógeno, las fuerzas de van der Waals y las interacciones hidrofóbicas también afectan a la estructura macromolecular pero a través de interacciones atómicas más sutiles. En las biomoléculas se presentan con frecuencia varios grupos funcionales comunes.

- ¿Por qué son más fuertes los enlaces covalentes que los puentes de hidrógeno?
- ¿Cómo puede desempeñar un puente de hidrógeno un papel en una estructura macromolecular?

Tabla 3.1 Algunos grupos funcionales de importancia bioquímica

Grupo funcional	*Estructura*[a]	*Importancia biológica*	*Ejemplo*
Ácido carboxílico		Ácidos orgánicos, aminoácidos y ácidos grasos; lípidos; proteínas	Acetato[b]
Aldehído		Grupo funcional de azúcares reductores como glucosa; aldehídos	Formaldehído
Alcohol		Lípidos; carbohidratos	Glucosa
Ceto		Intermediarios del ciclo del ácido cítrico	α-cetoglutarato
Éster		Triglicéridos	Lípidos de *Bacteria* y *Eukarya*
Éster fosfato		Ácidos nucleicos	DNA, RNA
Tioéster		Metabolismo energético; biosíntesis de ácidos grasos	Acetil-CoA
Éter		Algunos tipos de lípidos	Lípidos de *Archaea*
Anhídrido ácido		Metabolismo energético	Acetil fosfato
Fosfoanhídrido		Metabolismo energético	Trifosfato de adenosina (ATP)
Péptido		Proteínas	Proteínas celulares

[a]Un enlace (–) indica que es un enlace de «alta energía» (véase Sección 5.8)
[b]El acetato (H_3CCOO^-) es la forma ionizada del ácido acético (H_3CCOOH)

www.medilibros.com

3.2 Las macromoléculas y el agua como disolvente de la vida

Si procediéramos a la disección bioquímica de una célula procariótica, como la bacteria intestinal *Escherichia coli*, encontraríamos que el componente principal es el agua y que después de ésta se encuentran grandes cantidades de macromoléculas, cantidades menores de monómeros precursores de macromoléculas y varios iones inorgánicos (**Tabla 3.2**). Cerca del 95% del peso seco de una célula es debido a las macromoléculas y, dentro de éstas, las proteínas son con mucho las más abundantes.

Las **proteínas** son polímeros cuyos monómeros son los **aminoácidos**. Las proteínas se encuentran por toda célula y desempeñan funciones estructurales y enzimáticas (**Figura 3.3*a***). Una célula tiene normalmente más de mil tipos diferentes de proteínas y muchas copias de cada tipo (Tabla 3.2).

Los **ácidos nucleicos** son polímeros formados por **nucleótidos** y en la célula se encuentran dos tipos, **RNA** y **DNA**. Después de las proteínas, el ácido ribonucleico (RNA) es el tipo de macromolécula más abundante en una célula en crecimiento (Tabla 3.2 y Figura 3.3*b*). Esto se debe a que en cada célula hay miles de ribosomas (las «máquinas» que fabrican nuevas proteínas) y los ribosomas se componen de RNA y proteínas. Además, están presentes cantidades menores de RNA en la forma de RNA mensajero y de transferencia, que también participan en la síntesis de proteínas. En contraste, el DNA re-

Tabla 3.2 Composición química de una célula procariótica[a]

Molécula	*Porcentaje de peso seco*[b]	*Moléculas por célula (clases diferentes)*
Macromoléculas totales	96	24.610.000 (~2.500)
Proteína	55	2.350.000 (~1.850)
Polisacárido	5	4.300 (2)[c]
Lípido	9,1	22.000.000 (4)[d]
Lipopolisacárido	3,4	1.430.000 (1)
DNA	3,1	2,1 (1)
RNA	20,5	255.500 (~660)
Monómeros totales	3,0	—[e](~350)
Aminoácidos y precursores	0,5	—(~100)
Azúcares y precursores	2	—(~50)
Nucleótidos y precursores	0,5	—(~200)
Iones inorgánicos	1	—(18)
Total	100%	—

[a]Datos tomados de Neidhart, F.C *et al.* (eds.) 1996. *Escherichia coli and Salmonella typhimurium-Cellular and Molecular Biology,* 2nd edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.
[b]Peso seco de una célula en crecimiento de *E.coli* = 2.8×10^{-13}g; peso total (70% agua) = 9.5×10^{-13}g
[c]Considerando que el peptidoglicano y el glucógeno son los principales polisacáridos presentes.
[d]Existen varias clases de fosfolípidos, cada uno con diferentes tipos debido a la variabilidad en la composición de los ácidos grasos entre las distintas especies y a las diferentes condiciones de crecimiento.
[e]No existen estimaciones fiables en cuanto a monómeros e iones inorgánicos.

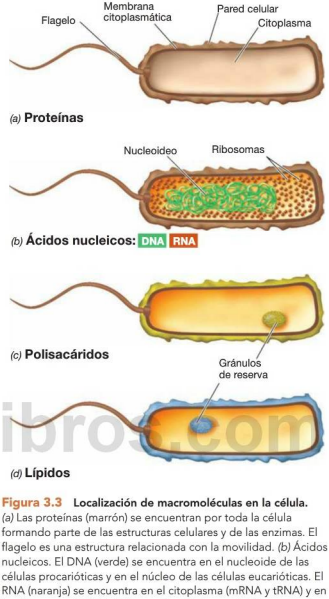


Figura 3.3 Localización de macromoléculas en la célula. *(a)* Las proteínas (marrón) se encuentran por toda la célula formando parte de las estructuras celulares y de las enzimas. El flagelo es una estructura relacionada con la movilidad. *(b)* Ácidos nucleicos. El DNA (verde) se encuentra en el nucleoide de las células procarióticas y en el núcleo de las células eucarióticas. El RNA (naranja) se encuentra en el citoplasma (mRNA y tRNA) y en los ribosomas (rRNA). *(c)* Los polisacáridos se distribuyen por la pared celular y, en ocasiones, en gránulos de reserva internos. *(d)* Los lípidos (azul) se localizan en la membrana citoplasmática, en la pared celular y en gránulos de reserva.

www.edilibros.com

presenta un componente cuantitativamente minoritario en la célula bacteriana (Tabla 3.2).

Los **lípidos** tienen propiedades hidrofóbicas e hidrofílicas y tienen funciones esenciales en la estructura de las membranas y como depósitos de almacenamiento del exceso de carbono (Figura 3.3*d*). Los **polisacáridos** son polímeros compuestos por azúcares y están presentes fundamentalmente en la pared celular. No obstante, como en el caso de los lípidos, hay polisacáridos como el glucógeno (que se estudia en la siguiente sección) que pueden ser formas de almacenamiento en la célula de carbono y energía (Figura 3.3*c*).

El agua como solvente biológico

En las células, las macromoléculas y las moléculas están inmersas en agua. El agua tiene propiedades químicas destacables que la convierten en un disolvente biológico ideal. Las propiedades más importantes son su polaridad y su cohesión.

Las propiedades polares del agua son importantes porque muchas macromoléculas biológicas (Tabla 3.2) son también polares y por lo tanto se disuelven fácilmente en agua. Como veremos en el Capítulo 4, las sustancias en disolución están continuamente pasando hacia dentro o hacia fuera de la célula mediante transporte a través de la membrana citoplasmática (*véanse* Secciones 4.3 y 4.4). Estas sustancias son nutrientes necesarios para la construcción de nuevo material celular y productos de desecho como resultado de los procesos metabólicos.

Las propiedades polares del agua también favorecen la estabilidad de las grandes moléculas porque permite establecer puentes de hidrógeno. El agua forma mallas tridimensionales consigo misma (Figura 3.2*a*) y con las macromoléculas. De este modo, las moléculas del agua ayudan a situar los átomos de las biomoléculas para posibles interacciones. La elevada polaridad del agua es también beneficiosa porque favorece que las sustancias apolares se agreguen y permanezcan juntas. Por ejemplo, las membranas contienen grandes cantidades de lípidos, que tienen componentes no polares (hidrofóbicos), y éstos tienden a

agregarse de tal modo que impiden el libre flujo de moléculas polares hacia el interior o exterior de la célula.

Por otra parte, la naturaleza polar del agua la convierte en altamente cohesiva, lo que significa que las moléculas de agua presentan una elevada afinidad mutua y se disponen formando estructuras ordenadas en las que los puentes de hidrógeno (Figura 3.2*a*) están formándose constantemente, rompiéndose y volviéndose a formar. La cohesividad es responsable de notables propiedades biológicas del agua, como la alta tensión superficial y el elevado calor específico (calor necesario para elevar la temperatura 1°C). Además, el hecho de que el agua se expanda por congelación originando una forma sólida menos densa (hielo) tiene profundos efectos sobre la vida en los ambientes acuáticos. Por ejemplo, el hielo superficial en un lago puede aislar el agua que está debajo y evitar su congelación, permitiendo sobrevivir a los organismos acuáticos pese a la capa de hielo superficial.

La vida se originó en el agua hace unos 3.900 millones de años (*véase* Figura 1.6) y en cualquier parte de la Tierra donde exista agua líquida es probable que se encuentren microorganismos. Teniendo en cuenta las importantes propiedades del agua, consideraremos ahora la estructura de las principales macromoléculas de los sistemas vivos con más detalle (Tabla 3.2 y Figura 3.3).

3.2 Minirrevisión

Las proteínas son la clase más abundante de macromoléculas en una célula. Otras macromoléculas son los ácidos nucleicos, los lípidos y los polisacáridos. El agua es un excelente solvente en los sistemas vivos debido a su polaridad y cohesión.

- ¿Por qué la proteína y el RNA representan un proporción tan grande en la composición de una célula en crecimiento?
- ¿Por qué la elevada polaridad del agua favorece su función como solvente biológico?

II MACROMOLÉCULAS SIN INFORMACIÓN

En esta unidad examinaremos la estructura y función de macromoléculas no informativas, es decir, los polisacáridos y los lípidos. En estas macromoléculas, la secuencia de los monómeros no lleva información genética, pero las macromoléculas desarrollan por sí solas funciones destacadas en la célula, fundamentalmente como materiales estructurales o de reserva.

3.3 Polisacáridos

Los carbohidratos (azúcares) son compuestos orgánicos que contienen carbono, hidrógeno y oxígeno en la proporción 1:2:1. La fórmula estructural de la glucosa, el más abundante de los azúcares en la Tierra, es $C_6H_{12}O_6$ (**Figura 3.4**). Los carbohidratos de mayor importancia biológica son los que contienen 4, 5, 6 y 7 átomos de carbono (designados como C_4, C_5, C_6 y C_7). Los azúcares C_5 (pentosas) tienen una relevancia especial porque forman parte de la estructura molecular de los ácidos nucleicos. De modo similar, los C_6 (hexosas) son los monómeros constituyentes de los polímeros de la pared celular y de los que actúan como reserva de energía. La Figura 3.4 muestra las fórmulas estructurales de unos cuantos azúcares frecuentes.

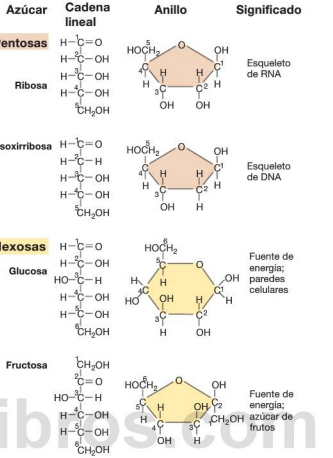


Figura 3.4 Fórmulas estructurales de algunos azúcares habituales. Las fórmulas se pueden representar de dos modos alternativos, como cadena lineal y como anillo. La cadena lineal es más fácil de visualizar, pero la forma de anillo es generalmente la más usada. Adviértase el sistema de numeración en el anillo. La glucosa y la fructosa son isómeros; tienen la misma composición molecular pero diferente estructura (Sección 3.6).

En las células es muy común la presencia de sustancias derivadas de carbohidratos sencillos. Cuando uno o más grupos hidroxilo se reemplazan por otras especies químicas, se forman derivados de los carbohidratos. Por ejemplo, el *peptidoglicano*, que es un polímero importante en la pared celular bacteriana (*véase* Sección 4.6), contiene N-acetilglucosamina, que es un derivado de la glucosa (**Figura 3.5**). Además de sus derivados, los azú-

www.medilibros.com

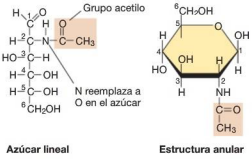


Figura 3.5 **N-acetil glucosamina, un derivado de la glucosa.** El O del C-2 está reemplazado por un grupo N-acetilo.

cares pueden tener una misma fórmula *estructural* y sin embargo diferir en sus propiedades *estereoisoméricas*. Por ejemplo, un polisacárido formado de D-glucosa es diferente de uno que esté compuesto de L-glucosa Sección 3.6) Por tanto, la célula dispone de un gran número de azúcares diferentes y potencialmente disponibles para la construcción de los polisacáridos.

El enlace glicosídico

Los **polisacáridos** son carbohidratos que contienen muchas unidades monoméricas (a veces cientos e incluso miles) que se llaman monosacáridos, que se unen mediante enlaces covalentes denominados **enlaces glicosídicos** (Figura 3.6). Cuando dos monosacáridos se unen por enlace glicosídico, la molécula resultante es un disacárido. La adición de otro monosacárido origina un trisacárido, y la de varios más un oligosacárido. Una cadena muy larga de este tipo es un *polisacárido*.

El enlace glicosídico puede presentar dos orientaciones geométricas llamadas alfa (α) y beta (β) (Figura 3.6*a*). Los polisacáridos con unidades repetitivas de glucosa unidas entre los carbonos 1 y 4 con orientación de tipo alfa (por ejemplo, el glucógeno y el almidón, Figura 3.6*b*) funcionan como reservas importantes de energía en bacterias, plantas y animales. Alternativamente, las moléculas de glucosa unidas por enlace de tipo β-1,4 forman la celulosa (Figura 3.6*b*), un componente rígido de la pared celular de las algas y de las plantas. Por tanto, aunque el almidón y la celulosa se componen solamente de unidades de D-glucosa, sus propiedades funcionales son completamente diferentes debido a la distinta configuración, α o β, de sus respectivos enlaces glicosídicos.

Polisacáridos complejos

Los polisacáridos se pueden combinar también con otras clases de macromoléculas, como proteínas y lípidos, formando polisacáridos complejos del tipo de las **glicoproteínas** y los **glicolípidos**, respectivamente. Estos compuestos tienen funciones fundamentales en las membranas celulares, particularmente como moléculas receptoras de superficie, y residen en la cara externa de la membrana en contacto con el medio ambiente. Los glicolípidos también constituyen una fracción importante

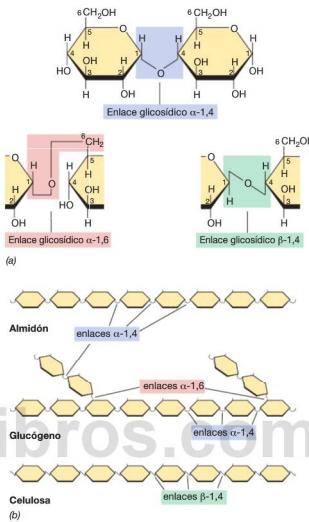


Figura 3.6 **El enlace glicosídico de los polisacáridos.** *(a)* Estructura de diversos enlaces glicosídicos. Adviértase que puede variar tanto el enlace (posición en el anillo de los átomos de carbono unidos) como la geometría (α o β). *(b)* Estructura de algunos polisacáridos habituales. El color se corresponde con el indicado en *(a)*.

de la pared celular de las bacterias gramnegativas y a ellos se deben algunas propiedades superficiales de estos organismos (*véase* Sección 4.9).

3.3 Minirrevisión

Los azúcares pueden formar largos polímeros llamados polisacáridos. Las dos orientaciones diferentes del enlace glicosídico, que une las unidades de azúcares, proporcionan a las moléculas resultantes propiedades distintas. Los polisacáridos también pueden unirse a otras moléculas como proteínas o lípidos, formando polisacáridos complejos.

▮ ¿Cómo pueden diferir tanto en sus propiedades físicas el glucógeno y la celulosa si ambos están formados exclusivamente por glucosa?

www.libros.com

3.4 Lípidos

Los **lípidos** son componentes celulares esenciales y son moléculas *anfipáticas*, es decir, muestran propiedades tanto hidrofóbicas como hidrofílicas. Su estructura varía en los diferentes dominios de los seres vivos, e incluso dentro de un determinado dominio se conocen muchos lípidos. Los **ácidos grasos** son los principales constituyentes de los lípidos en *Bacteria* y *Eukarya*, mientras que los de *Archaea* contienen una cadena hidrocarbonada isoprenoide (fitano) y no están compuestos por ácidos grasos (*véase* Sección 4.3).

Los ácidos grasos contienen regiones hidrofóbicas y otras hidrofílicas. El palmitato (que es la forma ionizada del ácido palmítico) es un ácido graso frecuente en los lípidos de las membranas que contiene 16 átomos de carbono. Está formado por una cadena saturada (totalmente hidrogenada y por tanto hidrofóbica) de 15 átomos de carbono y un único grupo carboxílico (que representa la porción hidrofílica) (**Figura 3.7**). Otros ácidos grasos frecuentes en los lípidos de *Bacteria* son saturados o monoinsaturados de C_{14} a C_{20} átomos de carbono de longitud (Figura 3.7).

Triglicéridos y lípidos complejos

Los *lípidos simples* (grasas) contienen ácidos grasos (o unidades de fitanil en *Archaea*) unidos al alcohol C_3 glicerol (Figura 3.7*a*,*b*). Los lípidos simples también se denominan triglicéridos porque a la molécula de glicerol se unen tres ácidos grasos. Cuando consideremos la estructura de la membrana (*véase* Sección 4.3) veremos que el enlace entre el glicerol y la cadena lateral hidrofóbica es un enlace de tipo *éster* (Tabla 3.1) en el caso de *Bacteria* y *Eukarya* y de tipo *éter* (Tabla 3.1) en el caso de *Archaea*.

Los *lípidos complejos* son lípidos simples que contienen elementos adicionales como fósforo, nitrógeno, azufre o pequeños compuestos hidrofílicos carbonados como azúcares (Figura 3.7*d*), etanolamina (Figura 3.7*c*), serina o colina. Los lípidos que contienen un grupo fosfato se llaman *fosfolípidos* y son un importante grupo de lípidos complejos porque desempeñan una destacada función estructural en la membrana citoplasmática (*véase* Sección 4.3).

Las propiedades anfipáticas de los lípidos los hacen ideales como componentes estructurales de las membranas. Los lípidos se agregan para formar membranas; la porción hidrofílica (glicerol) está en contacto con el citoplasma y el medio externo mientras que la porción hidrofóbica se mantiene dentro de la membrana sin contacto con el agua (*véanse* Sección 4.3 y Figuras 4.4 y 4.5). Estas estructuras se convierten así en barreras apropiadas de permeabilidad. La incapacidad de las sustancias polares para atravesar la región hidrofóbica de las membranas hace que estas estructuras sean impermeables y evita la pérdida de los constituyentes citoplásmi-

www.medilibros.com

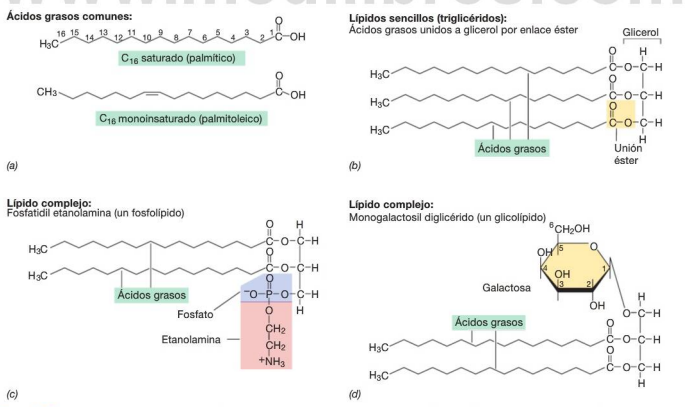


Figura 3.7 **Lípidos.** *(a)* Los ácidos grasos difieren en longitud, posición y número de dobles enlaces. *(b)* Los lípidos sencillos se forman por una reacción de deshidratación entre los ácidos grasos y el glicerol formando un enlace éster. En la célula, la composición en ácidos grasos varía con la temperatura de crecimiento. *(c, d)* Los lípidos complejos son lípidos sencillos que contienen otras moléculas.

cos. Sin embargo, esto conlleva que las sustancias polares que son necesarias para el funcionamiento celular tampoco penetren fácilmente; este tema será tratado en el siguiente capítulo al hablar del transporte (*véase* Sección 4.5).

3.4 Minirrevisión

Los lípidos contienen elementos hidrofóbicos e hidrofílicos, y sus propiedades químicas los hacen componentes estructurales ideales de las membranas citoplásmicas.

- ¿Qué parte de una molécula de ácido graso es hidrofóbica y qué parte es hidrofílica?
- ¿En qué se diferencia un fosfolípido de un triglicérido?
- Dibuje la estructura química del butirato, un ácido graso C_4 saturado.

III MACROMOLÉCULAS CON INFORMACIÓN

La secuencia de los monómeros de los ácidos nucleicos contiene información genética, y la secuencia de los monómeros en las proteínas contiene información estructural y funcional. Por tanto, en contraste con los polisacáridos y los lípidos, los ácidos nucleicos y las proteínas son moléculas que poseen información.

3.5 Ácidos nucleicos

Los **ácidos nucleicos, DNA** y **RNA**, son macromoléculas formadas por monómeros llamados nucleótidos. Por tanto, el DNA y el RNA son **polinucleótidos**. Como sabemos, el DNA lleva la información genética de la célula, y el RNA actúa como una molécula intermediaria que convierte la información en secuencias definidas de aminoácidos que forman las proteínas (*véase* Figura 1.4).

Un nucleótido se compone de tres unidades: un azúcar de cinco átomos de carbono (pentosa), la ribosa en el RNA y la desoxirribosa en el DNA, una base nitrogenada y una molécula de fosfato, PO_4^{3-}. La estructura general de los nucleótidos del DNA y del RNA es muy similar (**Figura 3.8**).

Nucleótidos

Las bases nitrogendas presentes en los ácidos nucleicos pertenecen a dos clases. Las bases **púricas**, adenina y guanina, contienen dos anillos heterocíclicos (que llevan más de un tipo de átomo) fusionados, mientras que las bases **pirimidínicas**, timina, citosina y uracilo, contienen un único anillo heterocíclico de seis elementos (**Figura 3.9**). Mientras que la guanina, adenina y citosina se encuentran tanto en el DNA como en el RNA, la timina se presenta sólo en el DNA (salvo raras excepciones) y el uracilo sólo en el RNA.

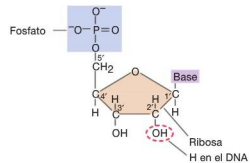


Figura 3.8 Nucleótidos. Los números en los carbonos del azúcar se designan como «prima» (′) porque el anillo de la base nitrogenada también se numera (Figura 3.9).

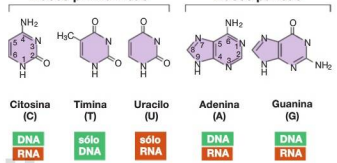


Figura 3.9 Estructura de las bases nitrogenadas del DNA y RNA. Obsérvese el sistema de numeración de los anillos. Para establecer la unión de la base al azúcar-fosfato mostrado en la Figura 3.8, las bases pirimidínicas lo hacen a través del N-1 del anillo y las bases púricas mediante el N-9 del anillo.

Los **nucleótidos** están formados por una base nitrogenada unida a un azúcar pentosa por enlace glicosídico entre el átomo de carbono 1 del azúcar y un átomo de nitrógeno de la base, el marcado como 1 en una base pirimidínica o el 9 en una base púrica. Una base nitrogenada unida al azúcar, sin el fosfato, se denomina *nucleósido*. Los nucleótidos son, por tanto, nucleósidos con uno o más fosfatos (**Figura 3.10**).

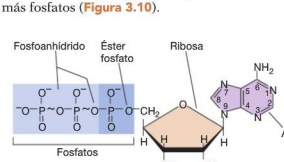


Figura 3.10 Componentes de un nucleótido importante, el trifosfato de adenosina. La energía de hidrólisis de un enlace fosfoanhídrido (indicado como ~) es mayor que la de un éster fosfato y es muy importante en bioenergética (*véase* Sección 5.8). Sin grupo fosfato, la molécula sería el nucleósido adenosina.

Además de ser los principales componentes de los ácidos nucleicos, los nucleótidos desempeñan otras funciones en la célula. En especial el trifosfato de adenosina (ATP) (Figura 3.10) actúa como fuente de energía química liberando, mediante la rotura de un enlace fosfato, la suficiente energía como para suministrar la requerida para la puesta en marcha de las reacciones celulares (*véase* Sección 5.8). Otros nucleótidos, o derivados de ellos, funcionan en reacciones celulares de oxidación-reducción (Sección 5.7) como transportadores de azúcares en la biosíntesis de polisacáridos (Sección 5.15) y como moléculas reguladoras que inhiben o estimulan las actividades de algunas enzimas o procesos metabólicos. Sin embargo, aquí consideraremos solamente la función de los nucleótidos como elementos estructurales de los ácidos nucleicos, que es la principal función de información de los nucleótidos.

Ácidos nucleicos

El esqueleto de un ácido nucleico es un polímero en el que alternan moléculas de azúcar y de fosfato. Los polinucleótidos contienen nucleótidos que están unidos covalentemente por medio de fosfato entre el carbono conocido como 3′ (3-prima) de un azúcar y el carbono 5′ de otro azúcar adyacente (**Figura 3.11***a*). Esta unión se denomina **enlace fosfodiéster** porque una molécula de fosfato se une por enlace éster a dos azúcares (Figura 3.11*a;* Tabla 3.1).

La secuencia de nucleótidos en una molécula de DNA o de RNA se denomina estructura primaria. Como hemos dicho, la secuencia de bases en un DNA o un RNA lleva información y codifica la secuencia de aminoácidos en las proteínas o codifica RNA específicos ribosómicos o de transferencia. La replicación del DNA y la síntesis de RNA son procesos clave en la vida de una célula (*véanse* Sección 1.2 y Figura 1.4) y más adelante veremos que se necesita un mecanismo prácticamente a salvo de errores para asegurar la fidelidad de la copia en la transferencia de caracteres genéticos de una generación a otra (*véase* Capítulo 7).

DNA

En el genoma de las células el DNA se presenta en forma de doble cadena. Cada cromosoma contiene dos cadenas y cada una de ellas está formada por miles o por millones de nucleótidos unidos por enlace fosfodiéster. Las cadenas se asocian entre sí mediante puentes de hidrógeno que se establecen entre los nucleótidos de una y otra cadena. Cuando las bases púricas y pirimidínicas de cada cadena se sitúan adyacentes se forman dichos puentes de hidrógeno (Figura 3.2*c*).

Los enlaces más estables de este tipo ocurren cuando la guanina (G) forma puentes de hidrógeno con la citosina (C) y cuando la adenina (A) los forma con la timina (T) (*véase* Figura 3.2*c*). El apareamiento específico de A con T y de G con C significa que las dos cadenas son complementarias en su secuencia de bases; es decir, cuando en una cadena aparece G, en la otra aparece C, y si se encuentra T, en su complementaria aparece A (Figura 3.11*b*).

www.medi

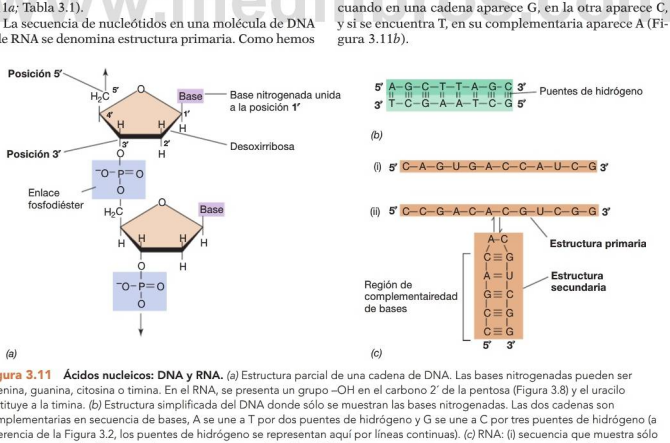


Figura 3.11 Ácidos nucleicos: DNA y RNA. (*a*) Estructura parcial de una cadena de DNA. Las bases nitrogenadas pueden ser adenina, guanina, citosina o timina. En el RNA, se presenta un grupo –OH en el carbono 2′ de la pentosa (Figura 3.8) y el uracilo sustituye a la timina. (*b*) Estructura simplificada del DNA donde sólo se muestran las bases nitrogenadas. Las dos cadenas son complementarias en secuencia de bases, A se une a T por dos puentes de hidrógeno y G se une a C por tres puentes de hidrógeno (a diferencia de la Figura 3.2, los puentes de hidrógeno se representan aquí por líneas continuas). (*c*) RNA: (i) secuencia que muestra sólo la estructura primaria; (ii) secuencia en estructura secundaria. En el RNA, las estructuras secundarias se forman cuando existe la posibilidad de establecer apareamiento de bases, como en este caso.

RNA

Con pocas excepciones, todos los RNA son moléculas de *una sola cadena*. No obstante, las moléculas de RNA se pliegan normalmente sobre sí mismas en las zonas donde se puede producir apareamiento por complementariedad de bases y forman, por tanto, estructuras plegadas. Este modelo de plegamiento en el RNA se conoce como **estructura secundaria** (Figura 3.11*c*). En algunas moléculas de RNA de gran tamaño, como en el RNA ribosómico (*véanse* Secciones 7.15 y 14.9), algunas partes de la molécula contienen sólo estructura primaria y otras contienen tanto estructura primaria como secundaria. Esto origina moléculas muy plegadas y retorcidas cuya función biológica depende precisamente de su disposición final tridimensional.

En las células existen al menos cuatro clases de RNA. El *RNA mensajero* (mRNA) lleva la información genética del DNA en una molécula de una sola cadena que es complementaria al DNA en secuencia de bases. El *RNA de transferencia* (tRNA) convierte la información genética que está presente en el mRNA al lenguaje de los aminoácidos, que son los constituyentes de las proteínas. El *RNA ribosómico* (rRNA), del que existen varios tipos, es un componente estructural y catalítico muy importante del ribosoma, que es el sistema sintetizador de proteínas de la célula. Finalmente, en las células existe además una variedad de *pequeños RNA* cuya función es regular la producción o la actividad de otros RNA. Estos distintos tipos de RNA se analizan con detalle en los Capítulos 7, 9 y 11.

3.5 Minirrevisión

El contenido informativo de un ácido nucleico viene determinado por la secuencia de bases nitrogenadas de la cadena polinucleotídica. Tanto el RNA como el DNA son macromoléculas informativas. El RNA se puede plegar en varias configuraciones adoptando una estructura secundaria.

- ¿Cuáles son los componentes de un nucleótido?
- ¿En qué se diferencia un nucleósido de un nucleótido?
- Distinga entre la estructura primaria y secundaria de un RNA.

3.6 Aminoácidos y enlace peptídico

Los **aminoácidos** son los monómeros de las **proteínas**. La mayor parte de ellos contienen sólo carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, pero dos de los 21 aminoácidos más comunes en las células contienen también azufre y uno contiene selenio. Todos los aminoácidos contienen dos grupos funcionales, un grupo carboxílico (-COOH) y un grupo amino ($-NH_2$) (Tabla 3.1 y **Figura 3.12*a***). Estos grupos funcionales son importantes para la estructura de las proteínas porque permiten formar enlaces covalentes entre el grupo carboxílico de un aminoácido y el grupo amino de un segundo aminoácido (con eliminación de una molécula de agua), formando un enlace peptídico (**Figura 3.13**).

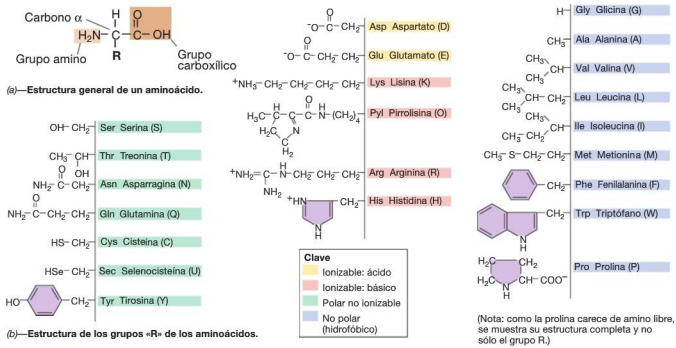


Figura 3.12 Estructura de los 22 aminoácidos codificados genéticamente. *(a)* Estructura general. *(b)* Estructura del grupo R. El código de tres letras para los aminoácidos se presenta a la izquierda de los nombres y el de una letra se indica entre paréntesis a la derecha. La pirrolisina sólo se ha encontrado hasta ahora en algunas *Archaea* metanogénicas (*véanse* Secciones 2.10 y 17.4).

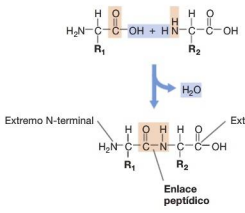


Figura 3.13 **Formación del enlace peptídico.** R_1 y R_2 indican la porción variable de los aminoácidos (cadena lateral R) (Figura 3.12). Nótese que, después de la formación del enlace peptídico, queda un grupo -OH libre en el extremo C-terminal para la formación del siguiente enlace peptídico.

Estructura de los aminoácidos

Todos los aminoácidos tienen la estructura general que se indica en la Figura 3.12*a*. Pero cada tipo de aminoácido es único, porque difieren entre sí por la naturaleza del grupo lateral (abreviado como R en la Figura 3.12*a*) que está unido al carbono α. El carbono α es el átomo de carbono adyacente al grupo carboxílico. Las cadenas laterales varían considerablemente en estructura, y pueden ser tan simples como un átomo de hidrógeno en el caso del aminoácido glicina, o estructuras con anillos aromáticos como en el caso de fenilalanina, tirosina y triptófano (Figura 3.12*b*).

Las propiedades químicas de un aminoácido se deben fundamentalmente a la cadena lateral. Los aminoácidos que muestran propiedades químicas similares se pueden agrupar en «familias» como se indica en la Figura 3.12*b*. Por ejemplo, la cadena lateral puede contener en sí misma un grupo carboxílico, como ocurre en el ácido aspártico o en el ácido glutámico, constituyendo los aminoácidos ácidos. Otros contienen grupos amino adicionales, lo que los convierte en básicos. Alternativamente, varios aminoácidos contienen cadenas laterales hidrofóbicas y representan en conjunto los aminoácidos no polares. El aminoácido cisteína contiene un grupo sulfhidrilo. Estos grupos pueden conectar una cadena de aminoácidos con otra mediante un puente disulfuro (R-S-S-R) a través de dos moléculas de cisteína, una en cada cadena.

La diversidad química de los aminoácidos permite a las células producir un número enorme de proteínas químicamente distintas, con una diversidad de propiedades bioquímicas muy amplia. Por ejemplo, si se considera que un polipéptido de tipo medio contiene 100 aminoácidos existen 22^{100} secuencias de polipéptidos posibles desde el punto de vista teórico. No obstante, ninguna célula presenta tantas proteínas diferentes. Una célula de *Escherichia coli* contiene casi 2.000 clases de proteínas diferentes (Tabla 3.2) que comprenden diferentes enzimas solubles y ligadas a membrana, proteínas estructurales, proteínas de transporte, proteínas sensoriales y muchas otras.

Isómeros

Dos moléculas pueden tener la misma fórmula pero presentar diferentes formas estructurales. Estas moléculas relacionadas pero no idénticas se llaman **isómeros**. Por ejemplo, la glucosa y la fructosa son isómeros (Figura 3.4). Louis Pasteur, el famoso microbiólogo que invalidó la teoría de la generación espontánea (*véase* Sección 1.7), comenzó su trayectoria científica como químico estudiando una clase de isómeros *ópticos*. Los isómeros ópticos que tienen la misma fórmula molecular y estructural pero que difieren en que uno es la imagen especular de otro (como la mano derecha refleja a la izquierda) se denominan **enantiomorfos** o enantiómeros. Los enantiomorfos de un compuesto determinado nunca se pueden superponer uno sobre otro, y se designan como D o L (**Figura 3.14**) dependiendo de si desvían la luz hacia la derecha o hacia la izquierda, respectivamente, cuando están en una solución pura. Los azúcares con la forma enantiomorfa D son los que predominan en los sistemas biológicos.

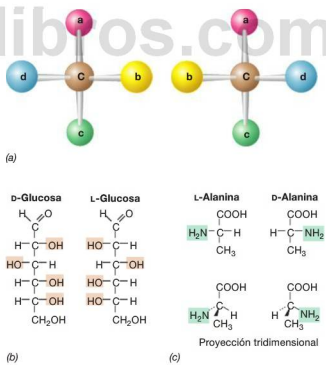


Figura 3.14 **Isómeros.** *(a)* Modelo espacial de bolas y varillas que muestran imágenes especulares. *(b)* Enantiómeros o estereoisómeros de glucosa. *(c)* Enantiómeros o estereoisómeros del aminoácido alanina. En la proyección tridimensional la flecha debe interpretarse como dirigida hacia el lector y la línea discontinua como un plano que se aleja del lector. Cualquiera que sea la rotación para lograr una visión tridimensional, las formas L y D nunca pueden superponerse, lo que es una característica de los enantiómeros.

Los aminoácidos también pueden existir como enantiómeros D o L, pero en las proteínas de las células predominan los L-aminoácidos más que los D-aminoácidos (Figura 3.14*c*). No obstante, en las células se encuentran ocasionalmente D-aminoácidos, en particular en el polímero del peptidoglicano de la pared celular (*véase* Sección 4.6) y en algunos antibióticos peptídicos (*véase* Sección 27.9). Las células pueden realizar la interconversión de algunos enantiómeros por enzimas llamadas racemasas. Por ejemplo, algunos procariotas pueden crecer sobre L-azúcares o sobre D-aminoácidos porque poseen racemasas que convierten estas formas en su enantiomorfo opuesto antes de metabolizarlos.

3.6 Minirrevisión

En las células hay veintidós aminoácidos diferentes que se pueden unir entre sí mediante enlaces peptídicos. Existen formas especulares (enantiomorfas) de los azúcares y de los aminoácidos pero, por lo general, en los polisacáridos y proteínas celulares solamente se encuentra un isómero óptico de cada uno de los posibles.

- ¿Por qué puede decirse que todos los aminoácidos son estructuralmente similares pero son diferentes?
- Dibuje la estructura completa de un dipéptido de alanina y tirosina y señale la localización del enlace peptídico.
- ¿Qué formas enantioméricas de los azúcares y de los aminoácidos se suelen encontrar en los seres vivos? ¿Por qué el aminoácido glicina no tiene enantiómeros diferentes? (*Pista:* Observe cuidadosamente la Figura 3.14*c* y sustituya la alanina por la glicina).

3.7 Proteínas: estructuras primaria y secundaria

Las proteínas tienen funciones fundamentales en la célula. En esencia, lo que una célula es y lo que hace se debe a la clase y cantidad de proteínas que contiene; en otras palabras, cada tipo diferente de célula tiene una diferente dotación de proteínas. El conocimiento de la estructura de las proteínas es, por tanto, esencial para comprender cómo funciona una célula.

Existen principalmente dos clases de proteínas, las proteínas *catalíticas* (enzimas) y las proteínas *estructurales*. Las **enzimas** son los catalizadores de las reacciones celulares (*véanse* Capítulos 5, 20 y 21). En cambio, las proteínas estructurales forman parte integral de las principales estructuras de la célula: membranas, paredes celulares, componentes citoplásmicos, etc. Sin embargo, todas las proteínas comparten algunas características básicas comunes que exponemos a continuación.

Estructura primaria

Como hemos dicho, las proteínas son polímeros de aminoácidos unidos covalentemente por enlaces *peptídicos* (Figura 3.13). La unión de dos aminoácidos forma un dipéptido, la de tres un tripéptido, y así sucesivamente. Cuando se unen muchos aminoácidos por enlace peptídico forman un **polipéptido** y las proteínas constan de uno o varios polipéptidos.

El número de aminoácidos presentes en una proteína varía de una a otra. Las hay que contienen sólo 15 y otras que contienen 10.000 aminoácidos. Como difieren en su composición, secuencia y número de aminoácidos, es fácil deducir que existe una gran variación en cuanto a la estructura y la función de las proteínas.

La disposición lineal de los aminoácidos en un polipéptido constituye su **estructura primaria**. La estructura primaria de un polipéptido es muy importante porque cada una de ellas es compatible con sólo determinados tipos de plegamiento, y es precisamente esta forma final del polipéptido la que tienen actividad biológica. Los dos extremos de un polipéptido se designan en función de la existencia de un grupo carboxílico libre o de un grupo amino libre, y se emplean los términos extremo «C-terminal» o extremo «N-terminal» para designarlos, respectivamente (Figura 3.2*b*).

Estructura secundaria

Una vez que se ha formado, un polipéptido no permanece como una estructura lineal, sino que se *pliega* para formar una estructura más estable. Las interacciones en un polipéptido de las cadenas laterales R de los aminoácidos fuerzan a la molécula a doblarse y plegarse de un modo específico, formando la **estructura secundaria**. En el establecimiento de la estructura secundaria juegan un papel importante los puentes de hidrógeno y las uniones débiles no covalentes explicadas anteriormente (Sección 3.1). Un tipo frecuente de estructura secundaria es la *hélice α*. Para visualizar la hélice α, imaginemos un polipéptido lineal enrollado a un cilindro (**Figura 3.15*a***). En esas condiciones, los átomos de oxígeno y de nitrógeno de los diferentes aminoácidos se posicionan lo suficientemente próximos como para permitirle establecimiento de puentes de hidrógeno que confieren estabilidad a la hélice *α* (Figura 3.15*a*).

La estructura primaria de otros polipéptidos induce la formación de otro tipo diferente de estructura secundaria, llamada *hoja β*. En esta disposición, la cadena de aminoácidos del polipéptido se pliega en zig-zag sobre sí misma en vez de formar una hélice. Sin embargo, como en el caso anterior, este tipo de plegamiento en hoja β deja al descubierto átomos de hidrógeno que pueden establecer puentes (Figura 3.15*b*). En general, la disposición de la estructura secundaria de un polipéptido en forma de hoja β origina una molécula que es más bien rígida, mientras que la estructura en hélice α es más flexible. Así, por ejemplo, una enzima cuya actividad dependa de una

www.mundilibros.com

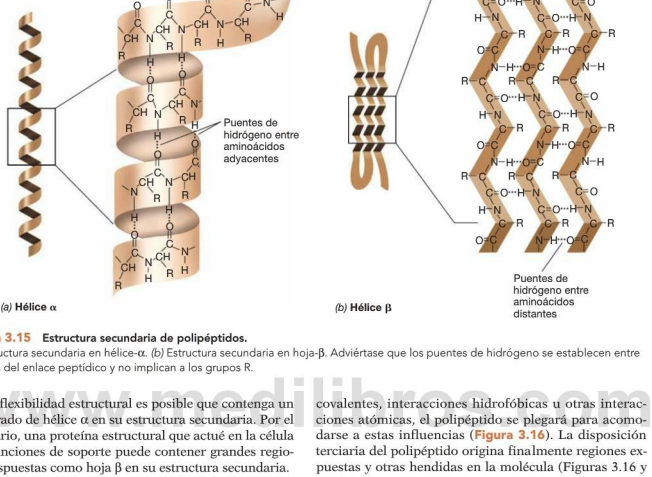


Figura 3.15 **Estructura secundaria de polipéptidos.**
(a) Estructura secundaria en hélice-α. *(b)* Estructura secundaria en hoja-β. Adviértase que los puentes de hidrógeno se establecen entre átomos del enlace peptídico y no implican a los grupos R.

www.medilibros.com

cierta flexibilidad estructural es posible que contenga un alto grado de hélice α en su estructura secundaria. Por el contrario, una proteína estructural que actué en la célula con funciones de soporte puede contener grandes regiones dispuestas como hoja β en su estructura secundaria.

Muchos polipéptidos tienen una estructura secundaria que contiene regiones con hélice α y otras con hoja β, dependiendo de la estructura primaria de los diferentes segmentos moleculares y de las oportunidades de establecer puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (*véase* Figura 3.16). Por tanto, una proteína típica está formada por varios **dominios** o regiones de la proteína que tienen una estructura y función específica en la molécula final que es biológicamente activa

3.8 Proteínas: estructuras de orden superior y desnaturalización

Una vez que un polipéptido ha adoptado una determinada estructura secundaria, se pliega sobre sí mismo para formar una estructura aún más estable. Esto conduce a la formación de una disposición tridimensional particular que se llama **estructura terciaria**.

Como la estructura secundaria, la estructura terciaria está determinada en último término por la estructura primaria, pero también depende de la estructura secundaria de la molécula porque las cadenas laterales de cada aminoácido se disponen de un modo específico (Figura 3.15). Si se pueden formar puentes de hidrógeno, enlaces covalentes, interacciones hidrofóbicas u otras interacciones atómicas, el polipéptido se plegará para acomodarse a estas influencias (**Figura 3.16**). La disposición terciaria del polipéptido origina finalmente regiones expuestas y otras hendidas en la molécula (Figuras 3.16 y 3.17) que son importantes para uniones con otras moléculas (por ejemplo, en la unión de un sustrato y una enzima o en la unión de una molécula reguladora específica al DNA) (*véanse* Secciones 5.5 y 9.2).

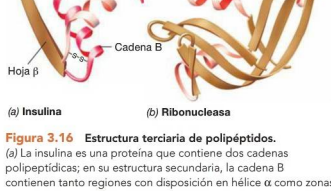


Figura 3.16 **Estructura terciaria de polipéptidos.**
(a) La insulina es una proteína que contiene dos cadenas polipeptídicas; en su estructura secundaria, la cadena B contienen tanto regiones con disposición en hélice α como zonas en hoja β, y los enlaces disulfuro (S-S) determinan los modos de plegamiento (estructura terciaria). *(b)* La ribonucleasa es una proteína de gran tamaño con varias regiones de hélice α y otras de hoja β en su estructura secundaria.

Con frecuencia, un polipéptido se pliega de tal modo que quedan expuestos los grupos sulfhidrilos de residuos adyacentes de cisteína y estos grupos –SH libres pueden formar un enlace disulfuro entre los dos aminoácidos. Si los dos residuos de cisteína pertenecen a polipéptidos distintos en una proteína, el enlace disulfuro une covalentemente las dos moléculas (Figura 3.16*a*). Además, un enlace disulfuro también puede formarse intramolecularmente dentro de una cadena polipeptídica única.

Estructura cuaternaria

Si una proteína consta de más de un polipéptido, como es el caso de muchas proteínas, el número y tipo de polipéptidos que forman la molécula de proteína final se conoce como su estructura cuaternaria (**Figura 3.17**). En las proteínas con estructura cuaternaria, cada polipéptido constituye una *subunidad* con su correspondiente estructura primaria, secundaria y terciaria. Algunas proteínas constan de varias copias de una misma subunidad. Por ejemplo, una proteína que contenga dos subunidades idénticas forma un *homodímero*. Otras pueden contener subunidades que no son iguales y cada una estar presente en una o más copias (un heterodímero, por ejemplo, contiene una copia de cada uno de dos polipéptidos diferentes). Las subunidades de proteínas multiméricas se mantienen unidas por enlaces no covalentes (puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals e interacciones hidrofóbicas) o por enlaces covalentes, que con frecuencia son enlaces de tipo disulfuro.

Desnaturalización

Cuando las proteínas se exponen a valores extremos de temperatura o de pH, o a sustancias que afectan a su plegamiento, se dice que sufren **desnaturalización** (**Figura 3.18**). La desnaturalización provoca el despliegue de la cadena polipeptídica, destruyendo el orden estructural de la molécula a nivel de la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria, si está presente. Dependiendo de las condiciones de desnaturalización, el polipéptido puede volver a plegarse una vez eliminado del agente desnaturalizante (Figura 3.18). Normalmente, sin embargo, las proteínas desnaturalizadas se despliegan de modo que sus regiones hidrofóbicas se exponen y tienden a mantenerse juntas formando agregados de la proteína que carecen de su actividad biológica.

Por lo general, las propiedades biológicas de una proteína se pierden cuando se desnaturaliza. No obstante, los enlaces peptídicos no se ven afectados (Figura 3.13) y por tanto una proteína desnaturalizada mantiene su estructura primaria. Esto demuestra que la actividad biológica no se debe a la estructura primaria de la proteína sino que es debida a la forma particular de la forma ple-

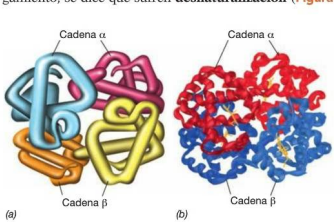


Figura 3.17 Estructura cuaternaria de la hemoglobina humana. *(a)* En la hemoglobina humana hay dos clases de polipéptidos, cadenas α (que se muestran en azul y rojo) y cadenas β (que se muestran en naranja y amarillo) y un total de cuatro polipéptidos en la molécula final de proteína (dos cadenas α y dos β). Los distintos colores permiten distinguir cada cadena. *(b)* Estructura molecular de la hemoglobina humana determinada por cristalografía de rayos X. En esta imagen, cada cadena α se muestra en rojo y cada cadena β en azul.

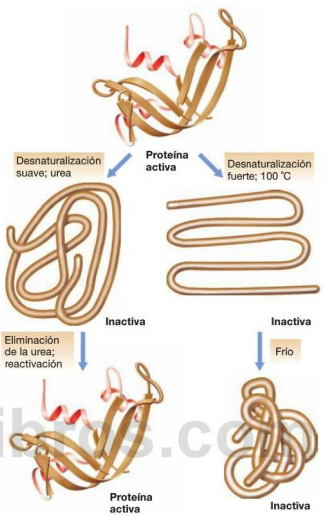


Figura 3.18 Desnaturalización de la proteína ribonucleasa. La estructura de la ribonucleasa se muestra en la Figura 3.16*b*. Una desnaturalización fuerte produce una destrucción permanente de la molécula en cuanto a su función biológica debido a un plegamiento defectuoso.

www.elibros.com

gada que viene determinada por dicha estructura. En otras palabras, el plegamiento de un polipéptido le confiere una forma singular que es compatible con una función biológica *específica*.

La desnaturalización de las proteínas es un método importante para destruir microorganismos. Por ejemplo, los alcoholes como el fenol o el etanol son desinfectantes eficaces porque penetran rápidamente en las células y desnaturalizan de manera irreversible sus proteínas. Dichos agentes químicos resultan por tanto útiles para la desinfección de objetos inanimados, como las superficies, y tienen valor práctico por su aplicación como desinfectantes en casas, hospitales e industrias. En el Capítulo 27 trataremos los desinfectantes y otros agentes químicos y físicos utilizados para destruir microorganismos.

El camino por recorrer

Tras repasar la química básica de los componentes celulares, estamos en mejor disposición para comprender los detalles estructurales de las células. En el siguiente capítulo, veremos cómo las macromoléculas se asocian para formar las principales estructuras de la célula, tales como la membrana citoplasmática, la pared celular y el flagelo. Sobre esta base, en el Capítulo 5 consideraremos las propiedades metabólicas fundamentales de las células. El metabolismo, que constituye la *maquinaria* funcional de una célula, permite la biosíntesis y el ensamblaje de nuevas copias de macromoléculas. Estos procesos dan como resultado el crecimiento celular (*véase* Capítulo 6). Estos mismos procesos metabólicos están a su vez dirigidos por las funciones de *codificación* de las células, que son mecanismos genéticos esenciales que ocurren en todas las células. La biología molecular se expone en los Capítulos 7-9.

En palabras del microbiólogo contemporáneo Norman Pace, «la vida es fundamentalmente *química*». Como cualquier microbiólogo puede confirmar, una cierta atracción por la bioquímica de las proteínas, de los lípidos, de los ácidos nucleicos y de los polisacáridos, resulta esencial para captar los conceptos de la microbiología moderna y para facilitar la comprensión de sus principios básicos y aplicados más avanzados.

3.7 y 3.8 Minirrevisión

La estructura primaria de una proteína está determinada por la secuencia de sus aminoácidos, pero el plegamiento del polipéptido para formar estructuras de orden superior determina la funcionalidad de la proteína en la célula.

- Respecto a la estructura de una proteína, defina los términos de estructura primaria, secundaria y terciaria.
- ¿En qué se diferencia un polipéptido de una proteína?
- ¿Qué características de la estructura secundaria hacen que las proteínas con disposición en hoja β sean más rígidas que las que adoptan una conformación en hélice α?
- Describa el número y las clases de polipéptidos que están presentes en una proteína homotetramérica.
- Describa los efectos estructurales y biológicos de la desnaturalización de una proteína. ¿Cuál es la aplicación práctica de la desnaturalización de las proteínas?

Glosario de términos

Ácido graso: ácido orgánico que contiene un grupo carboxílico y una cadena hidrocarbonada de longitud variable; son componentes importantes de los lípidos de *Bacteria* y *Eukarya*.

Ácido nucleico: DNA o RNA.

Aminoácido: uno de los 22 monómeros diferentes que forman las proteínas; su composición química contiene un grupo carboxílico, un grupo amino y un radical característico en el carbono alfa.

Apolar: que posee características hidrofóbicas (repulsión al agua) y no se disuelve fácilmente en agua.

Desnaturalización: eliminación del plegamiento correcto de una proteína que conduce (generalmente) a su agregación y a la pérdida de actividad biológica.

DNA: (ácido desoxirribonucleico) polímero de desoxirribonucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster que lleva información genética.

Dominio: con relación a las proteínas, una porción de la proteína que posee una estructura o una función específica.

Enantiómero: una forma de una molécula que es la imagen especular de otra forma de la misma molécula.

Enlace covalente: enlace químico en el que dos átomos comparten electrones.

Enlace fosfodiéster: tipo de enlace covalente que une a los nucleótidos en un polinucleótido.

Enlace glicosídico: tipo de enlace covalente que une a los azúcares en un polisacárido.

Enlace peptídico: tipo de enlace covalente que une a los aminoácidos en un polipéptido.

Enzima: una proteína o un RNA que cataliza una determinada reacción química de la célula.

Estructura cuaternaria: el número y tipos de polipéptidos individuales en la molécula final de una proteína.

Estructura primaria: la secuencia precisa de las unidades monoméricas en una macromolécula portadora de información, como un polipéptido o un ácido nucleico.

Estructura secundaria: el modo inicial de plegamiento de un polipéptido o polinucleótido generalmente en función de las posibilidades de establecer puentes de hidrógeno.

Estructura terciaria: plegamiento final de un polipéptido que previamente ha adoptado su estructura secundaria.

Isómeros: dos moléculas con la misma fórmula molecular pero con diferente estructura.

Lípido: un compuesto polar como el glicerol unido a ácidos grasos o a otras moléculas hidrofóbicas por enlaces éster o éter; a menudo también contiene otros grupos como fosfatos o azúcares.

Macromolécula: polímero formado por monómeros unidos covalentemente, como DNA, RNA, proteínas, polisacáridos y lípidos.

Molécula: dos o más átomos unidos químicamente entre sí.

Monómero: pequeña molécula que es la unidad estructural con la que se forman moléculas de mayor tamaño.

Nucleótido: un monómero de un ácido nucleico, que contiene una base nitrogenada (adenina, guanina, citosina, timina o uracilo), una molécula de fosfato y un azúcar, bien sea ribosa (en el RNA) o desoxirribosa (en el DNA).

Pirimidina: una de las bases nitrogenadas con un solo anillo de los ácidos nucleicos; puede ser citosina, timina o uracilo.

Polar: que posee propiedades hidrofílicas y es generalmente soluble en agua.

Polímero: compuesto químico formado por monómeros.

Polinucleótido: polímero de nucleótidos unidos entre sí por enlaces covalentes llamados enlaces fosfodiéster.

Polipéptido: polímero de aminoácidos unidos entre sí por enlace peptídico.

Polisacárido: polímero de azúcares monosacáridos unidos entre sí por enlaces glicosídicos.

Proteína: polipéptido o grupo de polipéptidos que forman una molécula con función biológica específica.

Puente de hidrógeno: enlace químico débil entre un átomo de hidrógeno y un segundo elemento más electronegativo, que suele ser un átomo de oxígeno o de nitrógeno.

Purina: una de las bases nitrogenadas de los ácidos nucleicos que tiene dos anillos; puede ser adenina o guanina.

RNA: (ácido ribonucleico) polímero de ribonucleótidos unidos por enlaces fosfodiéster que tiene muchas funciones en la célula, particularmente en la síntesis de proteínas.

Preguntas de repaso

www.medilibros.com

1. ¿Cuáles son los principales elementos presentes en los seres vivos? ¿Por qué son tan abundantes en los seres vivos el oxígeno y el hidrógeno (Sección 3.1)?
2. Defina el término «molécula» ¿Cuántos átomos contiene una molécula de hidrógeno gaseoso? ¿Cuántos átomos contiene una molécula de glucosa (Secciones 3.1 y 3.3)?
3. Observe en la Figura 3.1 la estructura de la base nitrogenada citosina. Dibuje esta estructura y señale luego las posiciones de todos los enlaces dobles y sencillos de la molécula (Sección 3.1).
4. Compare y diferencie entre «monómero» y «polímero». Indique tres ejemplos de polímeros con importancia biológica y designe los monómeros que los componen. ¿Qué clases de macromoléculas son las más abundantes, en peso, en una célula (Secciones 3.1 y 3.1)?
5. Señale los componentes que forman un lípido sencillo. ¿En qué difiere un triglicérido de un lípido complejo (Sección 3.4)?
6. Examine la estructura del triglicérido y de la fosfatidil etanolamina que se indican en la Figura 3.7. Comente cómo la sustitución del fosfato y de la etanolamina por un ácido graso alteraría las propiedades químicas del lípido (Sección 3.4).
7. El DNA y el RNA son moléculas similares pero también muestran diferencias. Indique tres diferencias físicas o químicas entre ellos. ¿Cuáles son sus respectivas funciones celulares (Sección 3.5)?
8. ¿Por qué los aminoácidos reciben ese nombre?. Escriba la estructura general de un aminoácido. ¿Porqué es importante la naturaleza del grupo R en la estructura final de una proteína? ¿Por qué el aminoácido cisteína es particularmente importante en la estructura de una proteína (Sección 3.6)?
9. ¿Qué tipo de reacción química forma el enlace peptídico entre dos aminoácidos (Sección 3.6)?
10. Defina estos tipos de estructura en una proteína: primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria. ¿Cuál de estas estructuras resulta alterada por desnaturalización (Secciones 3.7 y 3.8)?
11. Rellene los espacios en blanco. Un enlace glicosídico es a un _____ como un enlace _____ es a un polipéptido, y como un enlace _____ es a un ácido nucleico. Todos estos enlaces son ejemplos de enlaces _____, que son mucho más fuertes que los enlaces débiles como _____, _____ y _____.

Ejercicios prácticos

1. Observe las siguientes secuencias nucleotídicas en un RNA: (a) GUCAAAGAC, (b) ACGAUAACC. ¿Puede tener estructura secundaria cada una de estas moléculas? Si la respuesta es afirmativa, dibuje la(s) posible(s) estructura(s) secundaria(s) del RNA.
2. Unas cuantas proteínas citoplasmáticas solubles tienen un elevado contenido de aminoácidos hidrófobos ¿Cómo se plegarán estas proteínas respecto a su estructura terciaria y por qué?
3. Las células del género *Halobacterium,* que vive en ambientes muy salinos, contienen más de 5 molar (M) de potasio (K^+). Debido a este elevado contenido en K^+, muchas proteínas citoplasmáticas de *Halobacterium* están enriquecidas en dos aminoácidos específicos que están presentes en mucha mayor proporción que en proteínas con función similar en *Escherichia coli* (que tiene niveles muy bajos de K^+ en su citoplasma). ¿En qué aminoácidos están enriquecidas las proteínas de *Halobacterium* y por qué? (*Pista:* ¿Qué aminoácidos podrían neutralizar mejor las cargas positivas debidas al K^+?)
4. Cuando un cultivo de la bacteria *Escherichia coli,* que vive en el intestino humano, se coloca en un vaso con agua hirviendo, ocurren en las células cambios notables casi inmediatamente. Sin embargo, cuando un cultivo de *Pyrodictium,* que es un hipertermófilo que crece de modo óptimo en fuentes termales en ebullición, se coloca en el mismo vaso, no ocurren cambios similares. Explique la razón.
5. Repase la Figura 3.6*b* y describa las diferencias que hacen únicos a estos polímeros. Si se hidrolizaran todos los enlaces glicosídicos de estos polímeros ¿qué molécula se obtendría?
6. Repase la Figura 3.12*b*. En el caso de todos los aminoácidos sombreados en azul ¿cuál es la característica química que los une para constituir una «familia» de aminoácidos?

www.medilibros.com

4

Estructura y función celular en Bacterias y Arqueas

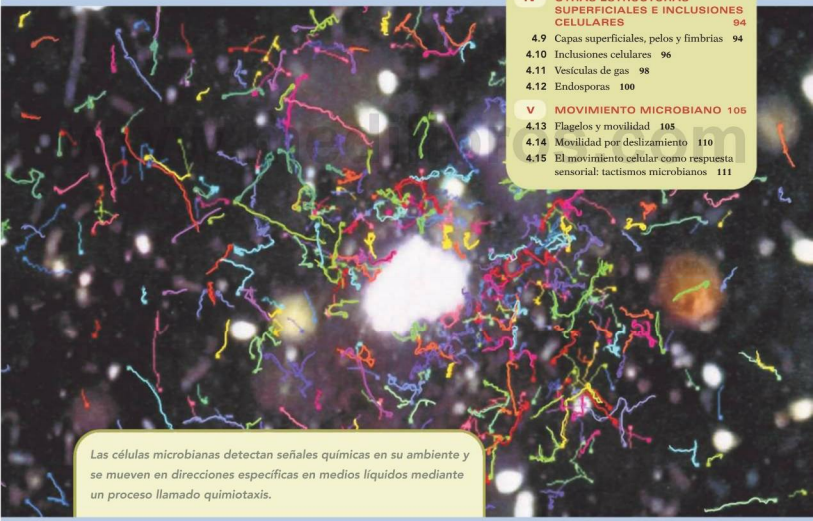
I MORFOLOGÍA Y TAMAÑO CELULAR 74
4.1 Morfología celular 74
4.2 El tamaño celular y la importancia de ser pequeño 75

II MEMBRANA CITOPLASMÁTICA Y TRANSPORTE 78
4.3 Membrana citoplasmática en bacterias y arqueas 78
4.4 Funciones de la membrana citoplasmática 81
4.5 Transporte y sistemas de transporte 82

III PAREDES CELULARES DE PROCARIOTAS 86
4.6 La pared celular de bacterias: el peptidoglicano 86
4.7 La membrana externa de bacterias gramnegativas 90
4.8 Paredes celulares de arqueas 93

IV OTRAS ESTRUCTURAS SUPERFICIALES E INCLUSIONES CELULARES 94
4.9 Capas superficiales, pelos y fimbrias 94
4.10 Inclusiones celulares 96
4.11 Vesículas de gas 98
4.12 Endosporas 100

V MOVIMIENTO MICROBIANO 105
4.13 Flagelos y movilidad 105
4.14 Movilidad por deslizamiento 110
4.15 El movimiento celular como respuesta sensorial: tactismos microbianos 111



Las células microbianas detectan señales químicas en su ambiente y se mueven en direcciones específicas en medios líquidos mediante un proceso llamado quimiotaxis.

I MORFOLOGÍA Y TAMAÑO CELULAR

En este capítulo, después de considerar anteriormente la composición química de las macromoléculas, pasamos a examinar cómo se combinan las macromoléculas para formar los componentes esenciales de la célula: la membrana citoplasmática, la pared celular, las inclusiones, el flagelo y otras estructuras. El tema principal de este capítulo es la estructura y la función. Existe un viejo aforismo en biología que dice «la forma deriva de la función», es decir, la estructura (forma) de un componente biológico evolucionó hasta ser lo que es porque es mejor que otras alternativas para realizar una determinada función a nivel de la célula o del organismo completo. A este respecto, los microorganismos no son una excepción y las estructuras esenciales de las células microbianas han evolucionado porque llevan a cabo funciones específicas de un modo muy eficaz.

Comenzamos este capítulo examinando dos características clave de las células procarióticas: su pequeño tamaño y su forma. Las procariotas tienen una forma típica, y son células muy pequeñas. La forma es útil para diferenciar las células procariotas y el tamaño tiene unos importantes efectos en su biología.

www.medilibros.com

4.1 Morfología celular

En microbiología, el término morfología hace referencia a la forma de las células. Entre los procariotas se presentan morfologías variadas y las más frecuentes se describen mediante términos que forman parte del léxico básico de los microbiólogos.

Principales morfologías celulares

En la **Figura 4.1** se muestran ejemplos de morfologías de bacterias. Una bacteria con morfología esférica u ovoide se llama *coco*, y cuando tiene forma cilíndrica se denomina *bacilo*. Algunos bacilos se curvan en forma espiral y se llaman entonces *espirilos*. Las células de muchos procariotas se mantienen juntas después de la división celular formando grupos, y estas asociaciones frecuentemente son características de diferentes géneros. Por ejemplo, algunos cocos forman largas cadenas (como *Streptococcus*), otros se disponen en agrupaciones cúbicas tridimensionales (como *Sarcina*) y otros forman conjuntos como racimos de uvas (como *Staphylococcus*).

Varios grupos de bacterias pueden ser inmediatamente reconocidas por las formas peculiares de las células individuales. Este es el caso de las espiroquetas, que son bacterias con forma de sacacorchos, de las bacterias con apéndices que presentan protuberancias celulares en forma de largos tubos o tallos, o de las bacterias filamentosas que forman células largas y delgadas o cadenas de células (Figura 4.1).

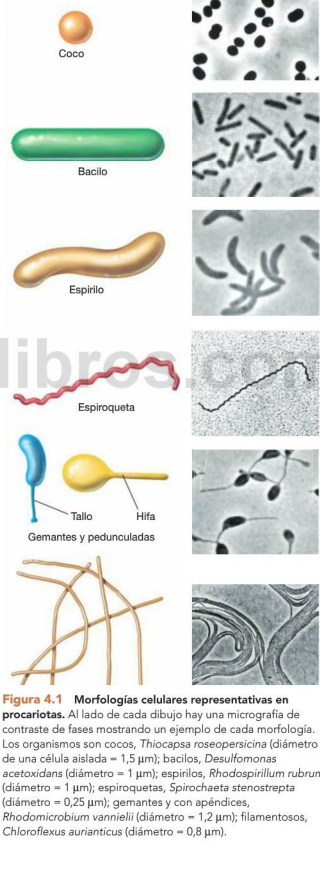


Figura 4.1 Morfologías celulares representativas en procariotas. Al lado de cada dibujo hay una micrografía de contraste de fases mostrando un ejemplo de cada morfología. Los organismos son cocos, *Thiocapsa roseopersicina* (diámetro de una célula aislada = 1,5 µm); bacilos, *Desulfomonas acetoxidans* (diámetro = 1 µm); espirilos, *Rhodospirillum rubrum* (diámetro = 1 µm); espiroquetas, *Spirochaeta stenostrepta* (diámetro = 0,25 µm); gemantes y con apéndices, *Rhodomicrobium vannielii* (diámetro = 1,2 µm); filamentosos, *Chloroflexus aurianticus* (diámetro = 0,8 µm).

La Figura 4.1 debe ser considerada como una muestra de morfologías *representativas* de células procarióticas, pero son posibles muchas variaciones de estas formas básicas. Por ejemplo, aunque un bacilo es una célula que es más larga en una dimensión que en otra, hay bacilos anchos, bacilos estrechos, bacilos largos y bacilos cortos. Como veremos, existen incluso bacterias cuadradas y otras con forma estrellada. Por tanto, las morfologías forman un amplio rango, aunque algunas formas son más corrientes que otras

Morfología y Biología

Aunque la morfología celular es un carácter fácilmente reconocible, en general, dice poco acerca de otras propiedades celulares. Por ejemplo, vistos al microscopio, muchos bacilos de *Archaea* parecen idénticos a bacilos de *Bacteria*, pese a que pertenecen a dominios filogenéticos distintos (*véase* Sección 2.7). En consecuencia, con muy raras excepciones, resulta imposible predecir la fisiología, ecología, filogenia o prácticamente cualquier otra propiedad de una célula procariótica simplemente a partir de su morfología.

Una pregunta interesante que no tiene fácil respuesta es considerar qué es lo que determina la morfología de una especie particular. No obstante, se sospecha que varias fuerzas selectivas deben jugar un papel importante en la determinación de la morfología de una especie determinada, incluyendo la optimización para la toma de nutrientes (células pequeñas y con una elevada relación de superficie a volumen), la movilidad por natación en ambientes viscosos o casi superficiales (bacterias espirales o helicoidales), la movilidad por deslizamiento (bacterias filamentosas), entre otros factores. La morfología de una célula microbiana no es un aspecto trivial, pues es una característica que está genéticamente dirigida y ha sido seleccionada por la evolución para asegurar la adaptación de la especie a un hábitat particular.

4.1 Minirrevisión

Existen células procarióticas con formas muy variadas. Los cocos, bacilos y espirilos son morfologías muy frecuentes.

- Escriba en una sola frase la diferencia morfológica entre cocos y bacilos.
- ¿Sirve la morfología celular para predecir otras propiedades de la célula?

4.2 El tamaño celular y la importancia de ser pequeño

Los procariotas presentan tamaños que van desde 0,2 µm a más de 700 µm de diámetro (**Tabla 4.1**). La gran

Tabla 4.1 Tamaño y volumen de células procarióticas, de mayor a menor

Organismo	*Características*	*Morfología*	*Tamaño[a] (µm)*	*Volumen (µm³)*	*Veces de volumen de E.coli*
Thiomargarita namibiensis	Quimiolitótrofo del azufre	Cadenas de cocos	750	200.000.000	10^8
Epulopiscium fishelsoni	Quimiorganótrofo	Bacilos con extremos en punta	80 × 600	3.000.000	$1,5 \times 10^6$
Beggiatoa sp.	Quimiolitótrofo del azufre	Filamentos	50 × 160	1.000.000	5×10^5
Achromatium oxaliferum	Quimiolitótrofo del azufre	Cocos	35 × 95	80.000	4×10^4
Lyngbya majuscula	Cianobacteria	Filamentos	8 × 80	40.000	2×10^4
Prochloron sp.	Proclorofita	Cocos	30	14.000	7×10^3
Thiovulum majus	Quimiolitótrofo del azufre	Cocos	18	3.000	$1,5 \times 10^3$
Staphylothermus marinus	Hipertermófilo	Cocos en grupos irregulares	15	1.800	9×10^2
Titanospirillum velox	Quimiolitótrofo del azufre	Bacilos curvados	5 × 30	600	3×10^2
Magnetobacterium bavaricum	Bacteria magnetotáctica	Bacilos	2 × 10	30	15
Escherichia coli	Quimioorganótrofo	Bacilos	1 × 2	2	1
Pelagibacter ubique	Quimioorganótrofo marino	Bacilos	0,2 × 0,5	0,014	$1,4 \times 10^{-2}$
Mycoplasma pneumoniae	Bacteria patógena	Pleomórfica[b]	0,2	0,005	$2,5 \times 10^{-3}$

[a]Cuando sólo se indica un número, corresponde al diámetro de células esféricas. Los valores dados corresponden al mayor tamaño celular observado en cada especie. Por ejemplo, en el caso de *T. namibiensis*, una célula de tipo medio presenta un diámetro de 200 µm, pero ocasionalmente se observan células gigantes de 750 µm. De modo similar, una célula media de *S. marinus* tiene 1 µm de diámetro.
[b]*Mycoplasma* es una bacteria sin pared celular que puede presentar muchas formas (pleomórfico significa «muchas formas»).

Fuente: Datos obtenidos de Schulz, H. N. and B. B. Jörgensen. 2001. *Ann. Rev. Microbiol. 55:* 105-137.

www.elibros.com

mayoría de los bacilos procarióticos que han sido cultivados en el laboratorio está entre 0,5-4 µm de ancho por menos de 15 µm de largo, pero unos cuantos procariotas grandes, como *Epulopiscium fishelsoni* son mayores, con células que sobrepasan los 600 µm (0,6 milímetros). Esta bacteria, que está filogenéticamente relacionada con la bacteria formadora de endosporas *Clostridium* y que vive en el intestino del pez cirujano, no sólo es interesante por su tamaño, sino también porque tiene un modo poco común de dividirse y porque contiene muchas copias de su genoma. Se forma una descendencia múltiple a partir de la «célula madre» que resulta luego liberada (la **Figura 4.2*a*** muestra una célula madre). Cada célula madre de *Epulopiscium* contiene varios miles de copias del genoma, cada una de las cuales es aproximadamente del mismo tamaño que el genoma de *Escherichia coli* (4,6 pares de megabases, o Mbp). Aparentemente, este elevado número de copias resulta necesario porque el volumen celular de *Epulopiscium* es tan grande que una sola copia de su genoma no sería suficiente para satisfacer las necesidades transcripcionales y traduccionales de la célula.

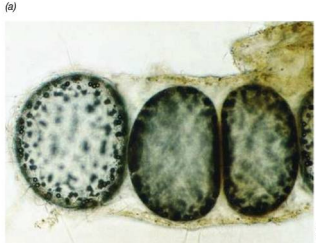
Las células del procariota de mayor tamaño conocido, el quimiolitótrofo del azufre *Thiomargarita* (Figura 4.2*b*), pueden alcanzar los 750 µm de diámetro, de modo que son casi visibles a simple vista. La mayoría de los procariotas de gran tamaño son microorganismos quimiolitótrofos del azufre o cianobacterias (Tabla 4.1). La razón de esto no se conoce por completo aunque, en el caso de las grandes bacterias del azufre, el tamaño puede representar un mecanismo para almacenar azufre (que es una fuente de energía). Se supone que la limitación en la toma de nutrientes es un factor limitante que determina los límites superiores del tamaño de las células procarióticas. En una célula, la velocidad de su metabolismo es inversamente proporcional al cuadrado de su tamaño y por tanto, en células muy grandes, los procesos de transporte pueden llegar a limitar el metabolismo hasta el punto de que la célula ya no es competitiva respecto a células menores.

En el mundo de los procariotas, la presencia de células muy grandes no es la norma. En contraste con *Thiomargarita* o con *Epulopiscium* (Figura 4.2), las dimensiones de un bacilo procariota de tipo medio, como por ejemplo la bacteria *Escherichia coli*, suelen ser de 1×2 µm. Estas dimensiones son las típicas de los procariotas mientras que, comparativamente, las células eucarióticas de tipo medio pueden variar de 10 a más de 200 µm de diámetro. En otras palabras, los procariotas son generalmente células muy pequeñas en comparación con las células eucarióticas.

Relación superficie/volumen, velocidades de crecimiento y evolución

Para una célula, el tamaño pequeño tiene sus ventajas. Las células pequeñas poseen más área superficial con relación al volumen celular que las células grandes; es decir, tienen una relación superficie/volumen más elevada. Para ejemplificar esto, consideremos un coco esférico, cuyo volumen es proporcional a su radio elevado al cubo ($V = 4/3\ \pi r^3$), y su superficie depende del cuadrado del radio ($S = 4\ \pi r^2$). Por consiguiente, la relación S/V en un coco esférico será 3/r (**Figura 4.3**), lo que nos indica que a medida que la célula aumenta de tamaño, el valor de su cociente S/V disminuye. La Tabla 4.1 permite determinar la relación S/V para algunas células de diferente tamaño: *Pelagibacter ubique*, 22; *E. coli*, 4.5; y *E. fishelsoni*, 0.05.

(a)



(b)

Figura 4.2 **Procariotas gigantes.** *(a)* Micrografía en campo oscuro de un procariota gigante, *Epulopiscium fishelsoni*, simbionte del pez cirujano. El bacilo de este campo mide unos 600 × 75 µm y se muestra junto a tres células del protista eucariótico *Paramecium*, que mide unos 150 µm de largo. *E. fishelsoni* es un miembro de *Bacteria* y está filogenéticamente relacionado con especies de *Clostridium*. *(b) Thiomargarita namibiensis*, un quimilitótrofo del azufre (línea Proteobacteria de *Bacteria*), es actualmente el mayor procariota conocido. Cada célula ovoidea tiene unos 400 µm de anchura.

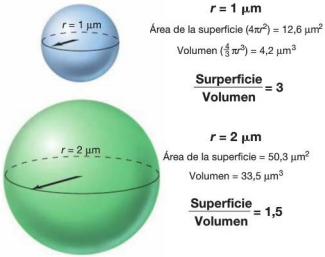


Figura 4.3 Relación entre el área de la superficie y el volumen celular. El aumento de tamaño celular implica una disminución de la relación superficie/volumen.

La relación S/V de una célula tiene implicaciones en diversos aspectos de su biología, incluyendo su evolución. Por ejemplo, como la velocidad de crecimiento depende, entre otras cosas, de la velocidad del intercambio de nutrientes, el mayor valor S/V de las células más pequeñas favorece un mayor intercambio de nutrientes por unidad de volumen celular en comparación con las células de mayor tamaño. Por esta razón, generalmente, las células más pequeñas crecen más rápidamente que las mayores. Por otra parte, una determinada cantidad de recursos (nutrientes disponibles para sustentar el crecimiento) mantendrá una población mayor de células pequeñas que grandes. Esto es importante porque cada vez que una célula se divide se replica también el cromosoma y en el DNA ocurren errores ocasionales que se llaman *mutaciones*. Las velocidades de mutación parecen ser aproximadamente las mismas en todas las células, tanto grandes como pequeñas, pero cuantas más replicaciones del cromosoma ocurran, mayor será el *número total* de mutaciones en la población. Las mutaciones son la «materia prima» de la evolución: cuanto mayor sea el conjunto de mutaciones, mayores serán las posibilidades evolutivas. Como las células procarióticas son muy pequeñas y además genéticamente haploides (lo que permite que las mutaciones se expresen inmediatamente) presentan por lo general una capacidad de crecimiento y una evolución más rápidas que las células genéticamente diploides de mayor tamaño.

En las células diploides grandes, no sólo es más pequeña la relación S/V, sino que los efectos de una mutación en un gen pueden ser enmascarados por la segunda copia no mutada del gen. Estas diferencias fundamentales entre las células procarióticas y eucarióticas apoyan la observación de que los procariotas se adaptan a menudo muy rápidamente a cambios en las condiciones ambientales del medio y pueden explotar más fácilmente las posibilidades de un nuevo hábitat que las células eucarióticas. Veremos este mismo concepto en capítulos posteriores cuando consideremos, por ejemplo, la enorme diversidad metabólica de los procariotas o la extensión de la resistencia a los antibióticos.

Límites inferiores del tamaño celular

De la exposición anterior podría deducirse que, en la naturaleza, una célula tendría mayores ventajas selectivas cuanto más pequeño fuera su tamaño. Parece sin embargo obvio que debe haber un límite inferior de tamaño. A partir de observaciones en el suelo y en otros hábitats, algunos microbiólogos han sugerido la existencia de bacterias extremadamente pequeñas denominadas *nanobacterias* (del griego «nano», que significa enano). Los tamaños descritos para estas nanobacterias son del orden de 0,1 μm de diámetro y aún menores, pero estas dimensiones son demasiado pequeñas incluso para el estándar procariótico (Tabla 4.1). Si se considera el volumen necesario para albergar las biomoléculas esenciales de una célula viva en estado libre (*véase* Capítulo 3), una estructura de 0,1 μm o menor parece insuficiente, y a este respecto el tamaño crítico estaría alrededor de 0,15 μm. En conclusión, es una incógnita si las nanobacterias son realmente células vivas, pero si estas diminutas células realmente existieran representarían las células más pequeñas conocidas.

Aparte de la cuestión de las nanobacterias, se conocen muchas células procarióticas muy pequeñas y varias se han cultivado en el laboratorio. Las aguas oceánicas, por ejemplo, contienen 10^4-10^5 células procarióticas por mililitro que tienden a ser muy pequeñas (0,2-0,4 μm de diámetro). También veremos más adelante que muchas bacterias patógenas son asimismo muy pequeñas. El tamaño muy pequeño no es por tanto infrecuente, pero parece poco probable que existan organismos de tamaño menor a 0,15 μm de diámetro.

4.2 Minirrevisión

Los procariotas son generalmente de menor tamaño que los eucariotas, aunque se conocen procariotas muy grandes y muy pequeños. El típico tamaño pequeño de las células procarióticas influye en su fisiología, velocidad de crecimiento, ecología y evolución. Probablemente, el límite inferior de tamaño es de cerca de 0,15 μm de diámetro.

- ¿Qué propiedad física de la célula aumenta a medida que la célula es más pequeña?
- Usando la fórmula del volumen, calcule el volumen de una nanobacteria de 0,1 μm de diámetro (el radio es la mitad del diámetro). ¿Cuántas nanobacterias de este tamaño podrían caber en una célula de *Mycoplasma pneumoniae*, que es el procariota más pequeño conocido (*véase* Tabla 4.1)?

www.libros.com

II MEMBRANA CITOPLASMÁTICA Y TRANSPORTE

Expondremos ahora una estructura celular muy importante, la membrana citoplasmática, y repasaremos sus principales funciones, en particular su papel en el transporte de sustancias dentro y fuera de la célula.

4.3 Membrana citoplasmática en bacterias y arqueas

La **membrana citoplasmática** es una estructura fina que rodea la célula. Esta estructura vital es la barrera que separa el interior celular (el citoplasma) del exterior. Si la membrana se rompe, se destruye la integridad celular, el contenido del citoplasma escapa al medio y la célula muere. La membrana citoplasmática es también una barrera con elevada permeabilidad selectiva que capacita a la célula para concentrar metabolitos específicos y para excretar productos de desecho.

Composición de las membranas

La estructura general de las membranas biológicas es la de una bicapa fosfolipídica (**Figura 4.4**). Como se ha indicado anteriormente (*véase* Sección 3.4), los fosfolípidos contienen componentes hidrofóbicos (ácidos grasos) e hidrofílicos (glicerol-fosfato) que pueden presentar múltiples formas químicas distintas debido a la variación de los grupos unidos al esqueleto de glicerol. Como los fosfolípidos se agregan en solución acuosa, tienden a formar bicapas de forma natural, con los ácidos grasos orientados hacia el interior formando un ambiente hidrofóbico y las porciones hidrofílicas expuestas a la fase acuosa exterior o al citoplasma (Figura 4.4*a*).

La membrana citoplásmática, con una anchura de 6-8 nanómetros, puede observarse por microscopía electrónica como dos líneas claras separadas por una zona más oscura (Figura 4.4*b*). Esta *unidad de membrana*, como se denomina (porque cada lámina de fosfolípidos forma la mitad de la «unidad»), consta de una bicapa de fosfolípidos en la que existen proteínas embebidas (**Figura 4.5**). La estructura global de la membrana citoplasmática se estabiliza mediante puentes de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (*véase* Sección 3.1). Además, cationes como el Mg^{2+} y el Ca^{2+} ayudan a la estabilización formando enlaces iónicos con las cargas negativas de los fosfolípidos.

A pesar de que la representación esquemática de la membrana citoplasmática tiene un aspecto rígido (Figura 4.5), en realidad es bastante fluida, con una viscosidad equivalente a la de los aceites de alto grado. Los biólogos especializados en membranas pensaban que las membranas eran muy fluidas y que las proteínas estaban libres como flotando en un «mar» de lípidos. En la actualidad se sabe que este modelo es incorrecto; es probable la existencia de algún movimiento en la membrana, pero se desconoce el alcance de su amplitud y de su importancia con relación a las funciones de la membrana.

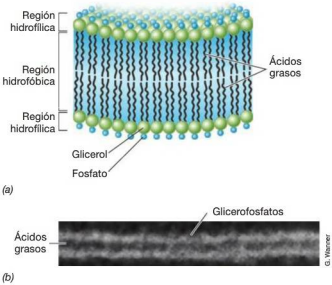


Figura 4.4 **Estructura de una bicapa fosfolipídica.** *(a)* La estructura química general de un fosfolípido se muestra en la Figura 3.7*c*. *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de una membrana de la bacteria *Halorhodospira halochloris*. La zona interna oscura es la región hidrofóbica del modelo mostrado en *(a)*.

Proteínas de membrana

Las principales proteínas de la membrana citoplasmática tienen zonas hidrofóbicas en las regiones que se incluyen en la membrana y zonas hidrofílicas en las regiones que contactan con el medio exterior y con el citoplasma (Figura 4.5). La superficie más externa de la membrana citoplasmática se orienta hacia el medio y en algunas bacterias interacciona con diversas proteínas que unen sustratos o procesan grandes moléculas para su transporte a la célula (proteínas periplásmicas, Sección 4.7). La cara interna de la membrana citoplasmática se orienta al citoplasma y contacta con proteínas implicadas en reacciones que generan energía y otras funciones celulares importantes.

Muchas proteínas de membrana se encuentran firmemente asociadas a ella y se llaman proteínas *integrales* de membrana. Otras solamente tienen una porción anclada en la membrana y presentan regiones fuera de la membrana que se orientan hacia dentro o hacia fuera de la célula (Figura 4.5). Finalmente, hay otras, llamadas proteínas *periféricas* de membrana, que no están en absoluto embebidas en la membrana pero que sin embargo se asocian fuertemente con sus superficies. Algunas de estas membranas periféricas son lipoproteínas, es decir, proteínas que contienen una parte lipídica por la que se

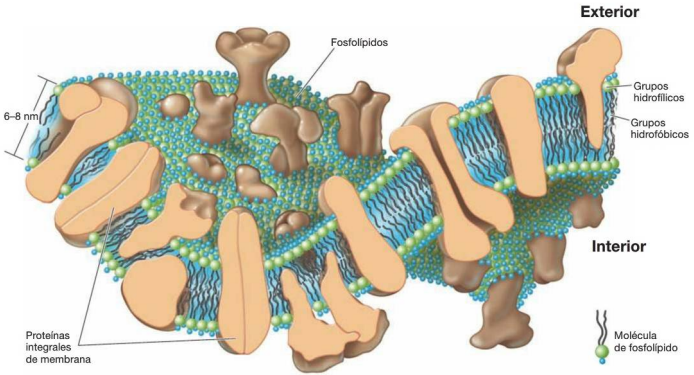


Figura 4.5 **Estructura de la membrana citoplasmática.** La superficie interna se orienta hacia el citoplasma y la externa hacia el medio. La matriz de la unidad de membrana está formada por fosfolípidos, cuyos grupos hidrofóbicos están dirigidos hacia dentro mientras que los grupos hidrofílicos se dirigen hacia fuera y se asocian con el agua. Las proteínas embebidas en la matriz tienen propiedades hidrofóbicas en la región que atraviesa la bicapa lipídica. Las proteínas hidrofílicas y otras sustancias cargadas, como los iones metálicos, pueden unirse a la superficie hidrofílica. Aunque existen algunas diferencias químicas, la estructura global de la membrana es similar tanto en procariotas como en eucariotas (no obstante, en la Figura 4.8*d* se muestra una excepción relativa al diseño de la bicapa).

unen a la membrana. Por lo general estas proteínas interaccionan con proteínas integrales de membrana que son importantes en procesos celulares relacionados con el metabolismo energético y el transporte.

En vez de estar distribuidas uniformemente, las proteínas se distribuyen por bloques en la membrana citoplasmática (Figura 4.5), agrupándose para formar conjuntos de proteínas que interaccionan o que tienen una función similar. El contenido global de proteínas en la membrana es muy elevado y se interpreta que la anchura de la bicapa lipídica varía entre 6 y 8 nm para acomodar tanto las agrupaciones densas como las más finas de las proteínas.

Agentes que refuerzan las membranas: esteroles y hopanoides

Una de las diferencias más significativas entre las membranas de procariotas y eucariotas es que las de éstos últimos poseen **esteroles** (**Figura 4.6*a***). Los esteroles están ausentes de las membranas de casi todos los procariotas (las bacterias metanótrofas y los micoplasmas son una excepción, *véanse* Secciones 15.6 y 16.3, respectivamente). Dependiendo del tipo celular, los esteroles pueden suponer del 5 al 25% del total de los lípidos de membrana de los eucariotas.

Los esteroles son moléculas rígidas y planas, mientras que los ácidos grasos son flexibles y su presencia en las membranas favorece su estabilización pero las hace menos flexibles. Los *hopanoides* son moléculas similares a los esteroles que están presentes en muchas especies del dominio *Bacteria* y es posible que desempeñen un papel parecido al de los esteroles en las membranas de los eucariotas. El hopanoide denominado *diplopteno* tiene 30 átomos de carbono y está ampliamente distribuido (Fi-

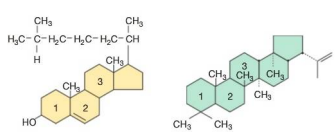


Figura 4.6 **Esteroles y hopanoides.** *(a)* Estructura del colesterol, un esterol típico. *(b)* Estructura del hopanoide diplopteno. Los esteroles se encuentran en las membranas de los eucariotas y los hopanoides en las de algunos procariotas. Los anillos marcados como 1, 2 y 3 resaltan la semejanza estructural entre esteroles y hopanoides.

gura 4.6*b*). Hasta ahora no se han encontrado hopanoides en las especies del dominio *Archaea*.

Membranas de arqueas

Los lípidos de las membranas de *Archaea* son diferentes a los de *Bacteria* y *Eukarya*. A diferencia de lo que sucede en *Bacteria* o *Eukarya*, donde los enlaces *éster* son los responsables de la unión entre el glicerol y los ácidos grasos (**Figura 4.7a**; *véase* Sección 3.4), los lípidos de *Archaea* poseen enlaces *éter* entre el glicerol y las cadenas laterales hidrofóbicas. Además, carecen de ácidos grasos y en su lugar tienen cadenas laterales compuestas de unidades repetitivas de isopreno, una molécula hidrocarbonada de 5 átomos de carbono (Figura 4.7*c*). Sin embargo, pese a estas diferencias químicas, la disposición general de la membrana citoplasmática de arqueas se mantiene como en bacterias y eucariotas, con superficies externas e internas hidrofílicas y con un interior hidrofóbico.

Los principales lípidos en *Archaea* son diéteres de glicerol, que tienen cadenas laterales de 20 átomos de carbono (denominadas grupo *fitano*), y tetraéteres de glicerol, que contienen cadenas laterales de 40 átomos de carbono (**Figura 4.8a,b**). En los lípidos con tetraéter, las cadenas de fitano de cada molécula de glicerol están covalentemente unidas (Figura 4.8*b*). Esto hace que se forme una *monocapa* en vez de una *bicapa* lipídica (Figura 4.8*c,d*). Las monocapas lipídicas son muy resistentes a la disgregación y por tanto no resulta extraño que este tipo de membrana sea habitual entre las *Archaea* hipertermófilas que se desarrollan a elevadas temperaturas

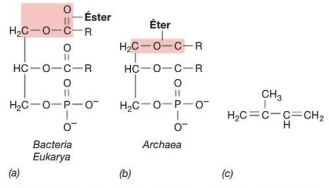
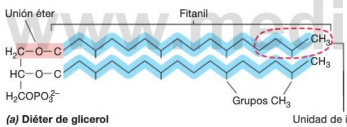
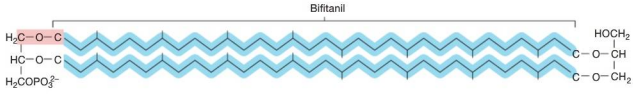


Figura 4.7 Estructura general de los lípidos. *(a)* Enlace éster. *(b)* Enlace éter. *(c)* Isopreno, la estructura básica de las cadenas laterales hidrofóbicas en los lípidos de *Archaea*. Por el contrario, en los lípidos de *Bacteria* y *Eukarya*, las cadenas laterales son ácidos grasos.

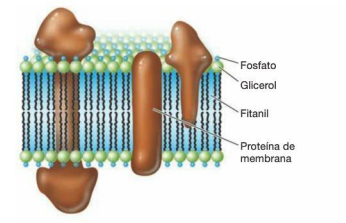


***(a)* Diéter de glicerol**

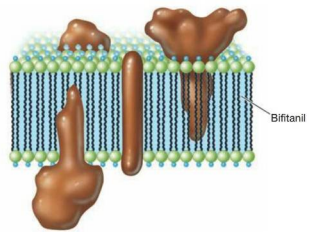


***(b)* Tetraéter de glicerol**

Figura 4.8 Principales lípidos y estructura de las membranas citoplasmáticas de arqueas. Tanto en *(a)* como en *(b)* la cadena hidrocarbonada del lípido se une al glicerol con un enlace éter. La cadena hidrocarbonada en *(a)* es fitanil (C_{20}) y en *(b)* bifitanil (C_{40}). *(c, d)* Estructura de membrana en *Archaea*. La estructura en monocapa es el resultado de la composición de la membrana con enlace tetraéter.



***(c)* Bicapa lipídica**



***(d)* Monocapa lipídica**

www.medilibros.com

(*véanse* Secciones 6.14 y 17-9-17.11) que podrían originar la disgregación de las bicapas y causar la lisis celular.

4.3 Minirrevisión

La membrana citoplásmica es una barrera de permeabilidad muy selectiva formada por lípidos y proteínas que se disponen en una bicapa con exterior hidrofílico e interior hidrofóbico. Otras moléculas, como los esteroles y los hopanoides, ayudan a reforzar la estructura. En arqueas, a diferencia de bacterias y eucariotas, se presentan lípidos unidos por enlace éter y algunas especies tienen membranas en monocapa en vez de la bicapa habitual.

- Dibuje un esquema con la estructura básica de una bicapa lipídica.
- ¿Por qué compuestos como los esteroles y hopanoides son tan eficaces en la estabilización de la membrana citoplásmica?
- Compare el tipo de unión que existe entre el glicerol y la porción hidrofóbica en los lípidos de bacterias y de arqueas.

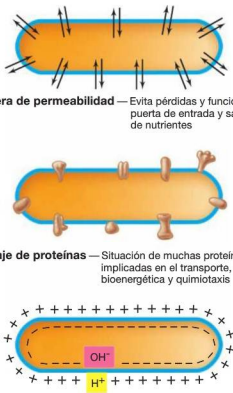


Figura 4.9 Principales funciones de la membrana citoplasmática. Aunque es estructuralmente débil, la membrana citoplasmática tiene muchas funciones importantes.

4.4 Funciones de la membrana citoplasmática

La membrana citoplásmática es algo más que una simple barrera que separa el interior y el exterior celular y lleva a cabo funciones celulares muy importantes. En primer lugar, funciona como una barrera de permeabilidad, evitando tanto la pérdida pasiva de componentes del citoplasma como la entrada indiscriminada de sustancias (**Figura 4.9**). Por otra parte, es el lugar donde se asientan muchas proteínas, que en muchos casos son enzimas que catalizan reacciones bioenergéticas o están implicadas en el transporte de sustancias. En el Capítulo 5 aprenderemos que la membrana citoplásmica es también el sitio donde se produce la energía de la célula. La membrana puede estar en una forma energéticamente cargada en la que existe una separación de los protones (H^+) y de los iones hidroxilo (OH^-) a través de su superficie (Figura 4.9). Esta separación de carga es una forma de energía similar a la energía potencial presente en una batería. Tal estado energético de la membrana, que se conoce como *fuerza motriz de protones*, es responsable del mantenimiento de muchas funciones celulares que requieren energía, como algunas formas de transporte, la movilidad y la biosíntesis de la «moneda energética» de la célula, es decir, del ATP.

La membrana citoplasmática como barrera de permeabilidad

El interior de la célula (citoplasma) contiene una solución en fase acuosa de sales, azúcares, aminoácidos, nucleótidos, vitaminas, coenzimas y otros materiales solubles. El carácter hidrofóbico de la porción interna de la membrana citoplasmática le permite funcionar como una barrera estricta. Aunque algunas moléculas hidrofóbicas pequeñas pueden pasar la membrana por difusión, las moléculas polares y con carga no la atraviesan y deben ser transportadas de modo específico. Debido a que la membrana citoplasmática presenta carga, ni siquiera una sustancia tan pequeña como el ión de hidrógeno (H^+) es capaz de atravesarla por difusión.

Una molécula que atraviesa libremente la membrana es el agua, por ser lo suficientemente pequeña como para pasar entre los fosfolípidos de la bicapa lipídica. (**Tabla 4.2**). Además, el transporte del agua a través de la membrana es acelerado mediante proteínas de transporte denominadas *aquaporinas*, que forman canales transmembranales que permiten de modo específico la entrada y salida del agua del citoplasma. Por ejemplo, la aquaporina AqpZ de *Escherichia coli* importa o exporta agua dependiendo de si la presión osmótica del citoplasma es alta o baja, respectivamente. La permeabilidad relativa de una serie de sustancias con importancia biológica se muestra en la Tabla 4.2. Puede apreciarse que la mayoría de las sustancias no penetran de modo pasivo en la célula y, por lo tanto, deben ser transportadas.

www.medilibros.com

Tabla 4.2 Permeabilidad comparada de las membranas para diferentes moléculas

Substancia	*Velocidad de permebilidad*[a]	*Difusión potencial en la célula*
Agua	100	Excelente
Glicerol	0,1	Buena
Triptófano	0,001	Buena/baja
Glucosa	0,001	Buena/baja
Ión cloruro (Cl^-)	0,000001	Muy baja
Ión potasio (K^+)	0,0000001	Extremadamente baja
Ión sodio (Na^+)	0,00000001	Extremadamente baja

[a]Escala relativa de permeabilidad respecto a la del agua tomada como 100. La permeabilidad de la membrana al agua puede estar influenciada por aquaporinas (ver texto).

Necesidad de proteínas transportadoras

Las proteínas transportadoras hacen algo más que transportar sustancias a través de la membrana, pues son capaces de *acumular* solutos dentro de la célula contra un gradiente de concentración. La necesidad de un transporte mediado por transportadores es fácil de entender. Si los solutos entraran únicamente por difusión, en las células nunca se alcanzaría la concentración intracelular necesaria para que las reacciones bioquímicas tengan lugar. Esto se debe a dos razones. Por una parte, como hemos visto, pocas sustancias difunden a través de la membrana citoplásmica. Por otro lado, incluso si los solutos pasaran la membrana por difusión, su velocidad de entrada y su concentración intracelular sería solamente proporcional a su concentración en el exterior (**Figura 4.10**), que en condiciones naturales es a menudo muy baja. Por tanto es necesario que la célula disponga de mecanismos para la acumulación de solutos que son nutrientes vitales, a niveles mucho mayores que los presentes en sus hábitats. Ésta es la función de los sistemas de transporte.

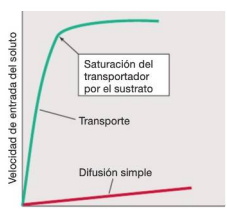


Figura 4.10 Transporte y difusión. En el transporte, la velocidad muestra saturación a concentraciones externas relativamente bajas.

Propiedades de las proteínas transportadoras

Los sistemas de transporte mediados por transportadores muestran varias propiedades características. A diferencia del transporte por difusión simple, muestran un *efecto de saturación*, es decir, si la concentración de sustrato es lo suficientemente alta como para saturar al transportador (lo que puede ocurrir incluso a las concentraciones muy bajas de sustrato que se encuentran en la naturaleza), la velocidad de entrada alcanza un máximo y la adición de más sustrato no incrementa la velocidad (Figura 4.10). Esta propiedad de las proteínas transportadoras favorece que las células concentren nutrientes a partir de ambientes en los que las sustancias se encuentran con frecuencia muy diluidas.

Otra característica importante del transporte mediado por transportadores es la naturaleza *altamente específica* del proceso. Muchas proteínas transportadoras reaccionan sólo con un tipo único de molécula, mientras que otras muestran distintas afinidades para moléculas relacionadas, como azúcares o aminoácidos. Esta economía funcional reduce la necesidad de transportadores diferentes para cada azúcar o aminoácido,

Una tercera propiedad importante de los sistemas de transporte es que la biosíntesis de las proteínas transportadoras suele estar *regulada* por la célula. Esto es, el equipamiento específico de transportadores presentes en la membrana depende de los nutrientes presentes en el medio y de su concentración. Este control biosintético es importante porque un nutriente determinado puede utilizar un transportador de baja afinidad cuando se presenta a altas concentraciones y otro tipo distinto de transportador de alta afinidad cuando está presente a bajas concentraciones.

4.4 Minirrevisión

Las principales funciones de la membrana citoplasmática son la permeabilidad, el transporte y la generación de energía. Para acumular nutrientes contra un gradiente de concentración, la célula utiliza mecanismos de transporte específico.

- Señale dos razones por las que una célula no puede depender sólo de la difusión para acumular nutrientes en su interior.
- ¿Por qué el daño físico a la membrana es un problema más importante que el daño en otros componentes celulares?

4.5 Transporte y sistemas de transporte

El transporte de nutrientes es un proceso esencial en la vida de la célula. En los procariotas existen diferentes mecanismos de transporte, cada uno de ellos con características propias. Trataremos aquí este tema.

Estructura y función de las proteínas transportadoras de membrana

En procariotas se presentan al menos tres sistemas de transporte: el **transporte simple**, la **translocación de grupo** y el **sistema ABC**. El transporte simple implica sólo una proteína transmembranal, la translocación de grupo requiere una serie de proteínas que cooperan en el sistema de transporte, y el sistema ABC consta de tres componentes (una proteína de unión al sustrato, un transportador integrado en la membrana y una proteína que hidroliza ATP) (**Figura 4.11**). Todos los sistemas de transporte necesitan alguna forma de energía, derivada de la fuerza motriz de protones, del ATP o de otro compuesto orgánico de alta energía.

La Figura 4.11 compara los sistemas de transporte de los procariotas. Cualquiera que sea el sistema, las proteínas transmembranales presentan generalmente notables similitudes en cuanto a secuencia de aminoácidos, lo que indica la existencia de raíces evolutivas comunes en todos los sistemas de transporte. Las proteínas transportadoras contienen 12 dominios con hélice α (*véase* Sección 3.7) que se pliegan a través de la membrana para formar un canal a través del cual el soluto penetra en la célula (**Figura 4.12**). El proceso del transporte conlleva un cambio en la conformación de la proteína transportadora tras su unión con el soluto y este cambio lleva al soluto al interior.

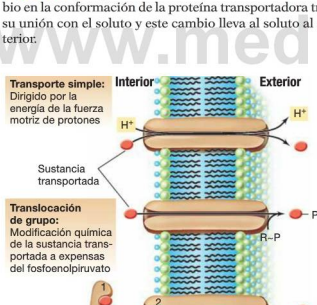


Figura 4.11 Las tres clases de sistemas de transporte de membrana. El transporte simple y el sistema ABC transportan sustancias sin modificarlas químicamente, mientras que la translocación de grupo ocasiona la modificación química (fosforilación) de la sustancia transportada. Las tres proteínas del sistema ABC se marcan como 1, 2 y 3.

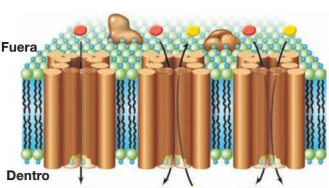


Figura 4.12 Estructura de transportadores transmembranales y tipos de procesos de transporte. En los procariotas, los transportadores transmembranales contienen por lo general 12 moléculas proteicas (mostradas aquí como un cilindro) que se agregan formando un canal a través de la membrana. Se presentan tres transportadores con diferentes tipos de transporte. Para los antiportadores y los simportadores, la sustancia co-transportada se indica en amarillo.

Pueden ocurrir tres tipos de procesos de transporte: uniportador, simportador y antiportador (Figura 4.12). Los sistemas uniportadores son proteínas que transportan una molécula en un solo sentido a través de la membrana. Los simportadores son proteínas que funcionan transportando una sustancia junto con otra, que suele ser un protón (H^+). Los antiportadores son proteínas que transportan una molécula a través de la membrana y simultáneamente transportan otra en sentido opuesto (Figura 4.12).

Transporte simple: la permeasa *Lac* de *Escherichia coli*

La bacteria *Escherichia coli* metaboliza el disacárido lactosa. Las células de *E. coli* incorporan la lactosa mediante un transportador simple llamado *permeasa Lac* que es un simportador. La **Figura 4.13** compara la actividad de la permeasa Lac con la de otros transportadores simples, incluyendo uniportadores y antiportadores. Más adelante veremos que la permeasa Lac es una de las tres proteínas que *E. coli* necesita para metabolizar la lactosa y que la síntesis de estas proteínas está bajo un estricto control regulatorio de la célula (*véase* Sección 9.9).

La actividad de la permeasa Lac requiere energía. A medida que las moléculas de lactosa entran en la célula, la energía de la fuerza motriz de protones (Figura 4.9) va disminuyendo por el co-transporte de protones al citoplasma. La potencia de la fuerza motriz de protones se reestablece mediante reacciones que producen energía y que serán descritas en capítulos posteriores (*véanse* Capítulos 5 y 21). El resultado final de la actividad de la permeasa Lac es la acumulación de lactosa en el interior celular a expensas de un consumo de energía.

www.medi

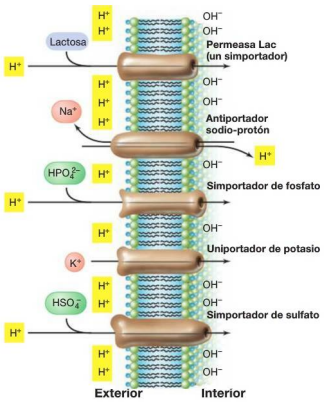


Figura 4.13 **Función de la permeasa Lac de *Escherichia coli* (un simportador) y de otros transportadores simples bien caracterizados.** Aunque, por simplicidad, las proteínas transmembranales se representan aquí de forma globular, su estructura real es la indicada en la Figura 4.12.

Translocación de grupo: el sistema fosfotransferasa

La translocación de grupo es un tipo de transporte en el que la sustancia transportada resulta químicamente modificada durante el transporte. Los casos mejor estudiados de este tipo de transporte son los que se refieren al transporte de los azúcares glucosa, manosa y fructosa en *E. coli*. Estos compuestos son modificados por fosforilación mediante el *sistema de la fosfotransferasa* durante el transporte.

El sistema de la fosfotransferasa está formado por una familia de proteínas, de las cuales se necesitan cinco para llevar a cabo el transporte de un azúcar determinado. Antes de que el azúcar sea transportado, las mismas proteínas del sistema de la fosfotransferasa se fosforilan y defosforilan alternativamente en cascada hasta que el transportador real, que es la enzima IIc, fosforila al azúcar durante el proceso del transporte (**Figura 4.14**). Una pequeña proteína llamada *HPr*, la enzima que la fosforila (enzima I) y la enzima IIa son proteínas citoplasmáticas. Por el contrario, la enzima IIb se sitúa sobre la superficie interior de la membrana y la enzima IIc es una proteína integral de membrana (Figura 4.14). Tanto HPr como la enzima I son componentes inespecíficos del sistema fosfotransferasa y participan en el transporte de varios azúcares. En cambio, la enzima II es específica para cada azúcar individual (Figura 4.14).

La energía requerida por el sistema fosfotransferasa deriva del fosfoenol piruvato, que es un compuesto con alta energía (*véase* Sección 5.8). Aunque en el proceso del transporte de una molécula de glucosa se consume la energía equivalente a un enlace fosfato de alta energía (Figura 4.14), la fosforilación de la glucosa a glucosa-6-P es el primer paso requerido para su metabolismo (glucólisis, *véase* Sección 5.10). Por tanto, el sistema fosfotransferasa prepara a la glucosa para su entrada inmediata en una importante ruta metabólica central.

Proteínas periplásmicas de unión y el sistema ABC

Veremos más adelante en este capítulo que las bacterias gramnegativas presentan un espacio llamado *periplasma*

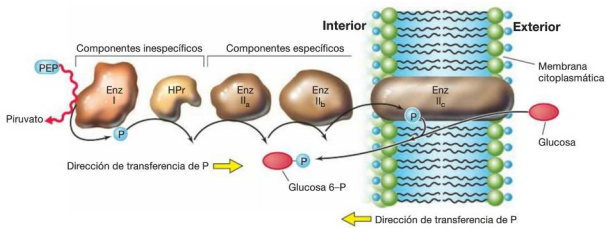


Figura 4.14 **Mecanismo del sistema fosfotransferasa en *Escherichia coli*.** Para el transporte de glucosa, el sistema consta de cinco proteínas: enzima (Enz) I, enzimas IIa, IIb y IIc, y HPr. La transferencia secuencial del fosfato tiene lugar desde el fosfoenolpiruvato (PEP), a través de las proteínas que se indican, hasta la enzima IIc, que es la auténtica responsable del transporte y fosforilación del azúcar. Las proteínas HPr y Enz I son inespecíficas y transportan cualquier azúcar, mientras que los componentes de EnzII son específicos para cada azúcar particular.

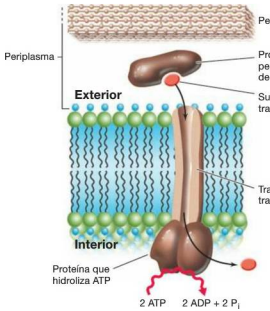


Figura 4.15 Mecanismo de un transportador de tipo ABC. La proteína periplásmica de unión tiene una elevada afinidad por el sustrato, las proteínas transmembranales forman el canal de transporte, y las proteínas citoplasmáticas que hidrolizan ATP suministran la energía requerida para el proceso.

entre la membrana citoplasmática y otra capa denominada *membrana externa* (Sección 4.7). El periplasma contiene diversas proteínas, muchas de las cuales funcionan en sistemas de transporte y se denominan *proteínas periplásmicas de unión*. Los sistemas de transporte que utilizan proteínas periplásmicas de unión junto con un transportador de membrana y con proteínas capaces de hidrolizar ATP se denominan *sistemas de transporte ABC* (derivado del inglés, *ATP-binding casette*) (**Figura 4.15**). En procariotas se han identificado más de 200 sistemas diferentes de transporte ABC que están relacionados con la entrada de compuestos orgánicos tales como azúcares o aminoácidos, y de nutrientes inorgánicos como sulfato, fosfato y trazas de metales.

Una de las características propias de los transportadores ABC es la alta afinidad de sustrato que presentan las proteínas periplásmicas de unión. Estas proteínas pueden unir sus sustratos incluso cuando están presentes a concentraciones extremadamente bajas, como por ejemplo a 1 micromolar (10^{-6} M). Una vez que han atrapado el sustrato correspondiente, el complejo interacciona con el respectivo componente transmembranal que transporta el sustrato gracias a la energía liberada por la hidrólisis del ATP (Figura 4.15).

Es interesante señalar que aunque las bacterias grampositivas carecen de periplasma, también poseen sistemas ABC. Sin embargo, en este caso las proteínas específicas de unión al sustrato se anclan en la cara externa de la membrana citoplasmática. Como en las gramnegativas, una vez que ocurre la unión con su sustrato, estas proteínas interaccionan con los elementos transmembranales y tiene lugar el transporte a través de la membrana a expensas del gasto de ATP (Figura 4.15).

Transporte de proteínas al exterior

Hasta ahora hemos considerado el transporte de moléculas pequeñas. ¿Cómo se realiza el transporte de moléculas grandes, como las proteínas? Para su correcto funcionamiento, muchas proteínas necesitan ser transportadas fuera de la membrana citoplasmática o insertarse en ella de modo específico. En las células procarióticas esto se lleva a cabo gracias a la actividad de proteínas llamadas *translocasas*; unas de las más importantes constituyen el sistema Sec (de sistema de secreción). Este sistema actúa tanto para exportar proteínas como para insertarlas en la membrana. Las proteínas destinadas al transporte son reconocidas por el sistema Sec porque están marcadas de una manera específica que consideraremos más adelante (*véase* Sección 7.17).

El sistema Sec de translocación consta de siete proteínas y SecYEG es el verdadero transportador transmembranal. Otros componentes del sistema Sec son SecA, que es una enzima que suministra energía necesaria para el proceso mediante la hidrólisis de ATP, SecB, que es una proteína que evita el plegamiento de las proteínas en el citoplasma, y SecD y F, que son proteínas que ayudan al proceso de translocación mientras consumen energía de la fuerza motriz de protones.

El transporte de proteínas al exterior es muy importante para las bacterias porque muchas enzimas funcionan fuera de la célula (exoenzimas). Por ejemplo, muchas enzimas hidrolíticas como la amilasa o la celulasa se excretan directamente al exterior donde rompen el almidón o la celulosa para producir glucosa que puede ser utilizada por la célula como fuente de carbono y energía (*véase* Figura 3.6*b*). En las bacterias gramnegativas muchas enzimas se localizan en el periplasma y por tanto deben atravesar la membrana citoplasmática para alcanzar su destino y poder funcionar. Además, muchas bacterias patógenas producen toxinas proteicas y otras proteínas perjudiciales para el hospedador durante la infección. Muchas toxinas se excretan por un segundo sistema de translocación llamado *sistema de secreción de tipo III*, que difiere del sistema Sec en que la proteína secretada se transloca directamente de la bacteria al hospedador, como por ejemplo a una célula humana. No obstante, todas estas grandes moléculas necesitan pasar la membrana citoplasmática, y las translocasas del tipo SecYEG y el sistema de secrección tipo III participan en estos procesos de transporte.

4.5 Minirrevisión

Existen al menos tres tipos de transportadores: los simples, los de tipo fosfotransferasa y los sistemas ABC. El transporte requiere energía procedente de la fuerza motriz de protones o del ATP.

- Compare los transportadores simples, el sistema fosfotransferasa y los transportadores ABC en cuanto a (1) fuente de energía, (2) alteraciones químicas del sustrato transportado y (3) número de proteínas implicadas.
- ¿Qué sistema de transporte es el más adecuado para nutrientes que se encuentran en el medio externo a concentraciones extremadamente bajas? Comente la razón.
- ¿Cómo salen las proteínas de la célula?

III PAREDES CELULARES DE PROCARIOTAS

4.6 La pared celular de bacterias: el peptidoglicano

Debido a las actividades de los sistemas de transporte, el citoplasma de las células bacterianas contiene una alta concentración de solutos disueltos, lo que origina una notable presión osmótica equivalente a unas 2 atmósferas en una célula como *Escherichia coli*. Esto equivale a una presión similar a la de un neumático de coche. Para resistir estas presiones y evitar la *lisis* celular, las bacterias poseen paredes celulares. Además de evitar la lisis osmótica, las paredes celulares son las responsables de la forma y rigidez de la célula.

Las bacterias se dividen en dos grandes grupos, las **grampositivas** y las **gramnegativas**. La distinción inicial entre estos dos tipos se basa en la **tinción de Gram** (*véase* Sección 2.2), pero la diferente reacción a esta tinción se basa en las diferencias que existen en la estructura de las paredes celulares. Las paredes celulares de las grampositivas y de las gramnegativas muestran diferencias notables por microscopía electrónica, como se indica en la **Figura 4.16**. En las gramnegativas la pared celular es una estructura compuesta por varias capas y bastante compleja, mientras que en las grampositivas es generalmente más ancha y está formada fundamentalmente por un solo tipo de molécula.

En esta sección nos centraremos en los componentes polisacarídicos de las paredes celulares de especies de *Bacteria*, tanto grampositivas como gramnegativas. En la Sección 4.7 se estudiarán los componentes específicos que se encuentran en las bacterias gramnegativas y, finalmente, en la Sección 4.8 se describirán los tipos de pared celular de *Archaea*.

Peptidoglicano

Las paredes celulares de bacterias presentan una capa rígida que es la responsable de la resistencia de la pared celular. En especies gramnegativas existen capas adicionales que se sitúan en el exterior de ésta. La capa rígida, denominada **peptidoglicano**, es un polisacárido formado por dos derivados de azúcares —*N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico*— y un pequeño grupo de aminoácidos que incluye L-alanina, D-alanina, D-glutámico y lisina o en su lugar ácido diaminopimélico (DAP) (**Figura 4.17**). Estos componentes se unen entre sí para formar una estructura repetitiva que constituye el *tetrapéptido del glicano* (**Figura 4.18**).

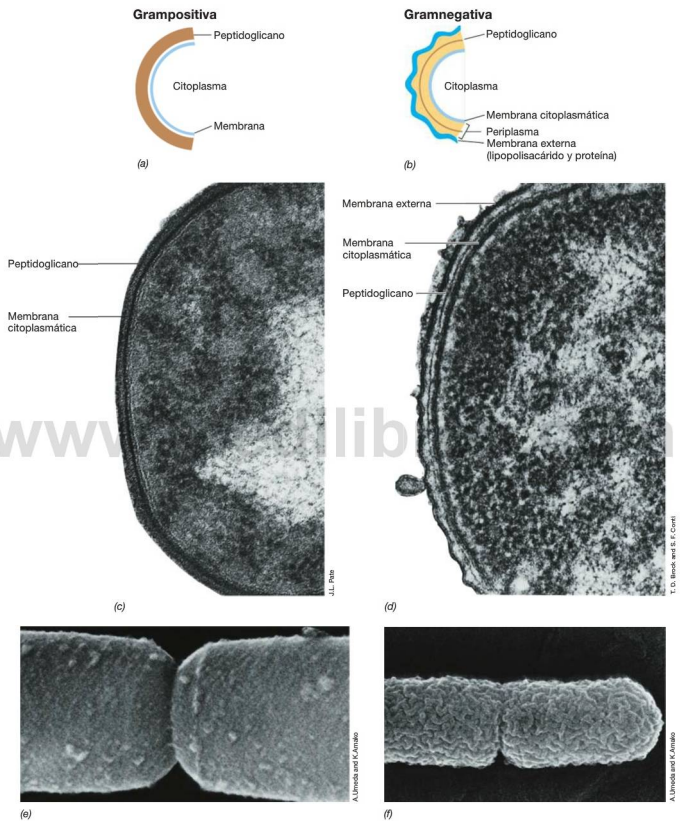
Durante su biosíntesis se generan largas cadenas adyacentes de peptidoglicano formando una lámina que rodea la célula (*véase* Seccion 6.4). Las distintas cadenas se conectan entre sí por puentes peptídicos que se establecen a través de los aminoácidos.del tetrapéptido. Los enlaces glicosídicos que unen los azúcares en las cadenas del glicano son enlaces covalentes que proporcionan rigidez a la estructura solamente en una dirección del espacio, de modo que tan solo tras el entrecruzamiento mediante los puentes peptídicos se logra la rigidez bidimensional característica de la capa de peptiglicano (**Figura 4.19**). El número de puentes peptídicos no es igual en todas las especies de bacterias, y las paredes más rígidas son aquellas que presentan mayor número de puentes intercatenarios.

En las bacterias gramnegativas los puentes se establecen, por lo general, mediante enlace peptídico directo entre el grupo amino del diaminopimélico de una cadena y el grupo carboxilo de la D-alanina terminal de otra cadena adyacente (Figura 4.19). En las bacterias grampositivas el entrecruzamiento se establece mediante un puente interpeptídico cuya composición varía en cuanto a tipo y número de aminoácidos de un organismo a otro. Por ejemplo, en una de las bacterias grampositivas mejor conocidas, *Staphylococcus aureus*, el puente interpeptídico está formado por cinco glicinas (Figura 4.19*b*). La estructura global de una molécula de peptidoglicano se indica en la Figura 4.19*c*.

Diversidad del peptidoglicano

El peptidoglicano se presenta solamente en especies de *Bacteria*. Entre los constituyentes de las paredes celulares de arqueas y eucariotas nunca se ha encontrado el ácido N-acetilmurámico ni el aminoácido diaminopimélico. Sin embrago, no todas las bacterias tienen DAP en su peptidoglicano. Este aminoácido se encuentra en todas las gramnegativas y en algunas grampositivas, pero la mayoría de los cocos grampositivos poseen lisina en lugar de DAP y otras bacterias grampositivas contienen otros aminoácidos. Otra característica poco común del peptidoglicano es la presencia de dos aminoácidos con configuración D, la D-alanina y el ácido D-glutámico. Como vimos en el Capítulo 3, los aminoácidos de las proteínas presentan siempre la configuración L (*véase* Sección 3.6).

Se conocen más de 100 tipos distintos de peptidoglicano cuyas variaciones más importantes se refieren a los puentes interpeptídicos. En cada peptidoglicano diferente, la porción de glicano es constante, presentando solamente N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico



www.elibro.net

Figura 4.16 **Paredes celulares de bacterias.**
(a, b) Diagramas esquemáticos de paredes celulares grampositivas y gramnegativas. *(c)* Micrografía electrónica de la pared celular de una bacteria grampositiva, *Arthrobacter crystallopoietes*. *(d)* Bacteria gramnegativa, *Leucothrix mucor*. *(e, f)* Micrografías electrónicas de barrido de bacterias grampositivas *(Bacillus subtilis)* y gramnegativas *(Escherichia coli)*. Obsérvese la diferente textura superficial en las células mostradas en *(e)* y *(f)*. Las células de *B. subtilis* o de *E. coli* tienen una anchura aproximada de 1 μm.

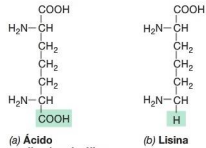


Figura 4.17 Aminoácidos de enlace de entrecruzamiento en el peptidoglicano. Se resalta la única diferencia entre las dos moléculas. Además de estos dos aminoácidos, se encuentran otros aminoácidos en las uniones de entrecruzamiento (Figura 4.18).

conectados siempre a través de enlace β-1,4 (Figura 4.18). El tetrapéptido de la unidad repetitiva sólo varía en un aminoácido, o bien lisina o alternativamente DAP. No obstante, en algunos microorganismos el ácido D-glutámico en posición 2 puede estar hidroxilado y en otros pueden darse sustituciones de aminoácidos en las posiciones 1 y 3. Cualquier aminoácido presente en el tetrapéptido también puede presentarse en el puente, pero además pueden estar presentes otros aminoácidos, como glicina, serina, treonina y ácido aspártico. Sin embargo, hay ciertos aminoácidos que nunca se presentan en los puentes interpeptídicos, como los aminoácidos ramificados, los aromáticos, los azufrados, ni tampoco histidina, arginina o prolina (*véase* Figura 3.12).

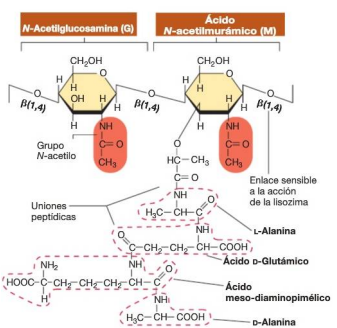


Figura 4.18 Estructura de la unidad repetitiva del peptidoglicano de la pared celular con el tetrapéptido. La estructura mostrada corresponde a *Escherichia coli* y a muchas otras bacterias gramnegativas. En algunas bacterias se encuentran otros aminoácidos.

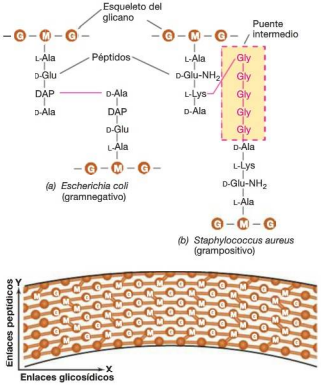


Figura 4.19 Peptidoglicano en *Escherichia coli* y en *Staphylococcus aureus*. (*a*) En *E. coli* y otras *Bacteria* gramnegativas no se forma puente intermedio. (*b*) El puente intermedio de pentaglicina en *S. aureus* (grampositivo). (*c*) Estructura global del peptidoglicano (G = N-acetilglucosamina; M = ácido N-acetilmurámico). Adviértase que los enlaces glicosídicos refuerzan la estructura en la dirección X mientras que los enlaces peptídicos lo hacen en la dirección Y.

En resumen, aunque existen variaciones en el componente peptídico del peptidoglicano, el esqueleto del peptidoglicano que está formado por unidades repetitivas y alternantes de N-acetilglucosamina y N-acetilmurámico es el mismo en todas las especies de *Bacteria*.

La pared celular grampositiva

En las bacterias grampositivas el peptidoglicano representa hasta el 90% del material de la pared celular y aunque algunas bacterias tienen sólo una capa de peptidoglicano rodeando a la célula, muchas otras tienen varias láminas (hasta 25) apiladas unas sobre otras.

Muchas bacterias grampositivas presentan embebidos en su pared polisacáridos ácidos denominados **ácidos teicoicos**. El término de ácidos teicoicos se refiere a polímeros de la pared, de la membrana o de la cápsula que contienen unidades de glicerolfosfato o de ribitolfosfato. Estos polialcoholes están unidos por ésteres fosfato y, a menudo, presentan también unidos otros azúcares y D-alanina (**Figura 4.20a**). Los ácidos teicoicos de la pared se unen covalentemente a residuos de ácido murámico del peptidoglicano y, como están cargados negativa-

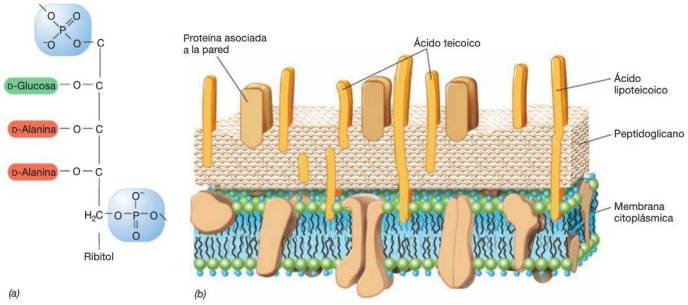


Figura 4.20 **Ácidos teicoicos y estructura global de la pared celular grampositiva.** *(a)* Estructura del ácido ribitolteicoico de *Bacillus subtilis*. El ácido teicoico es un polímero de unidades repetitivas de ribitol como las que se muestran. *(b)* Diagrama global de la pared celular grampositiva.

mente, son en parte responsables de la carga negativa neta de la superficie celular. Los ácidos teicoicos también intervienen uniendo Ca^{2+} y Mg^{2+} para su eventual transporte. Algunos ácidos teicoicos están unidos a los lípidos de la membrana y entonces se denominan ácidos *lipoteicoicos*.

La Figura 4.20 resume la estructura de la pared celular de bacterias grampositivas y muestra el modo en que se disponen los ácidos teicoicos y lipoteicoicos en la estructura global.

Lisozima y protoplastos

El peptidoglicano puede ser destruido por la acción de algunos agentes. Uno de ellos es la *lisozima*, una enzima que rompe los enlaces β-1,4 glicosídicos entre la N-acetilglucosamina y el ácido N-acetilmurámico del peptidoglicano (Figura 4.18), y que por consiguiente debilita la pared celular. El agua entonces entra en la célula, que se hincha y finalmente explota (lisis celular) (**Figura 4.21*a***). La lisozima se encuentra en algunas secreciones animales, como las lágrimas, la saliva y otros fluidos corporales, y representa una importante línea de defensa contra la infección por bacterias (*véase* Sección 28.3).

Si se añade lisozima a una suspensión celular que contenga un soluto que no penetra en la célula, como por ejemplo la sacarosa, la concentración de soluto externa a la célula puede equilibrar la presión osmótica interior (condiciones isotónicas). En estas condiciones, la lisozima puede digerir el peptidoglicano pero el agua no entra en la célula y no ocurre por tanto la lisis. En su lugar, se forma entonces un **protoplasto** (es decir, una bacteria que ha perdido su pared celular) (Figura 4.21*b*). Si los protoplastos estabilizados con sacarosa se pasan a un medio con agua se lisan inmediatamente. A menudo se usa la palabra *esferoplasto* como sinónimo de protoplasto, aunque ambas palabras tienen un significado ligeramente distinto. Los protoplastos son formas libres de cualquier material residual de la pared celular mien-

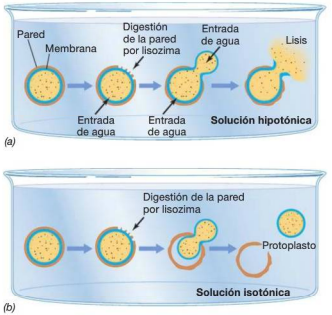


Figura 4.21 **Protoplastos y su formación.** La lisozima rompe los enlaces β-1,4 glicosídicos del peptidoglicano (Figura 4.18). *(a)* En una solución diluida la rotura de la pared libera el protoplasto que es inmediatamente lisado al ser muy débil la membrana citoplasmática. *(b)* En una solución que contenga una concentración isotónica de un soluto, como sacarosa, el agua no penetra en el protoplasto y permanece estable sin lisarse.

tras que los esferoplastos contienen restos de la pared unidos a la membrana.

Células sin paredes celulares

Aunque la mayoría de los procariotas no puede sobrevivir en la naturaleza sin sus paredes celulares, algunos son capaces de hacerlo. Entre éstos últimos están los micoplasmas, que constituyen un grupo de bacterias patógenas que causan diversas enfermedades infecciosas en el hombre y en otros animales (*véase* Sección 16.3), y el grupo de *Thermoplasma*, que son especies de *Archaea* que carecen de pared celular (*véase* Sección 17.5). En esencia, estos procariotas son protoplastos naturales de vida libre, capaces de sobrevivir sin paredes celulares debido a que tienen membranas citoplásmicas muy gruesas poco comunes o a que viven en ambientes osmóticamente protegidos, como el interior del cuerpo humano. La mayoría de los micoplasmas tienen esteroles en sus membranas citoplasmáticas que probablemente funcionan como elementos de fuerza y rigidez, de modo similar a la función que desarrollan en las membranas de las células eucarióticas (Sección 4.3).

4.6 Minirrevisión

Las paredes celulares de las bacterias presentan un polisacárido llamado peptidoglicano que está constituido por unidades alternantes y repetitivas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico y que forma cadenas que se entrecruzan por medio de pequeños péptidos. Dependiendo del organismo, se pueden presentar una o varias capas de peptidoglicano. La lisozima es una enzima que destruye el peptidoglicano originando la lisis celular

- ¿Por qué necesitan las células bacterianas pared celular? ¿Todas las bacterias tienen pared celular?
- ¿Por qué es el peptidoglicano una molécula resistente?
- ¿Cuál es la acción de la enzima lisozima?

4.7 La membrana externa de bacterias gramnegativas

En las bacterias gramnegativas, como *Escherichia coli*, el peptidoglicano sólo representa cerca del 10% del total de la pared celular. En cambio, la mayor parte de la pared celular está representada por la **membrana externa**. Esta capa es, de hecho, una segunda bicapa lipídica, pero a diferencia de la membrana citoplasmática, no está compuesta sólo por fosfolípidos y proteínas (Figura 4.15), sino que también contiene polisacáridos. Los lípidos y los polisacáridos están unidos en la membrana externa y se presentan formando un complejo, por cuyo motivo esta membrana también se denomina capa de **lipopolisacárido**, o simplemente **LPS**.

Composición química del LPS

Se conoce la composición del LPS de varias bacterias. Como se muestra en la **Figura 4.22**, la porción polisacarídica del LPS consta de dos porciones: el *núcleo del polisacárido* y el *polisacárido O*. En especies de *Salmonella*, donde se ha estudiado con cierto detalle, el núcleo del polisacárido está compuesto por cetodesoxioctonato (KDO), azúcares de siete átomos de carbono (heptosas), glucosa, galactosa y N-acetilglucosamina. El polisacárido O está unido al núcleo y consta generalmente de galactosa, glucosa, ramnosa y manosa (hexosas), así como uno o más didesoxiazúcares poco frecuentes como abecuosa, colitosa, paratosa o tivelosa. Estos azúcares se unen entre sí formando secuencias de cuatro o cinco unidades que a menudo están ramificadas. La repetición de esta secuencia de azúcares da lugar a la formación de un largo polisacárido O.

La **Figura 4.23** muestra la relación del polisacárido O con el resto del LPS. La porción lipídica del LPS, conocida como *lípido A* (Figura 4.7*a*), no es un lípido derivado del glicerol sino que los ácidos grasos se unen por un enlace éster con los grupos amino de un disacárido compuesto por N-acetilglucosamina-fosfato (Figura 4.22). El disacárido se une al núcleo del polisacárido a través de KDO (Fi-

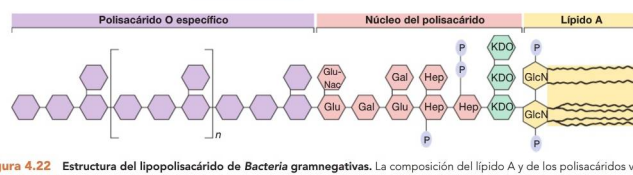
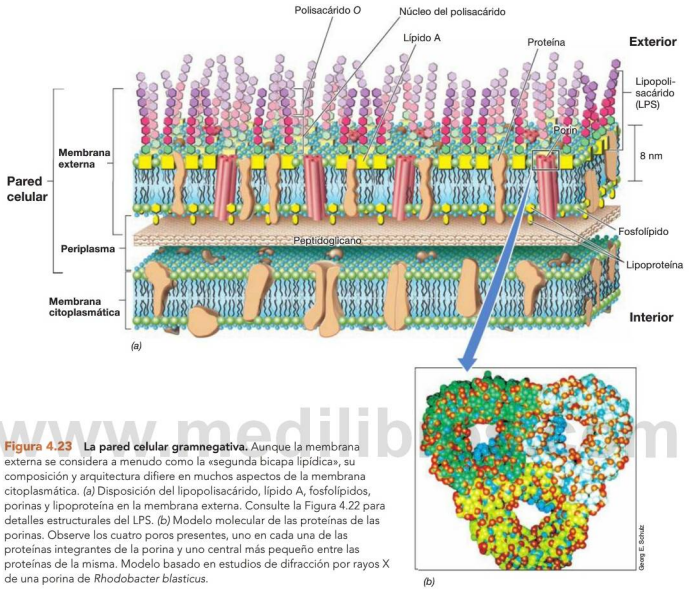


Figura 4.22 Estructura del lipopolisacárido de *Bacteria* gramnegativas. La composición del lípido A y de los polisacáridos varía entre las diferentes especies de *Bacteria* gramnegativas pero los componentes principales (lípido A- KDO-núcleo-antígeno O específico) suelen ser los mismos. El polisacárido O es muy variable entre especies. KDO, cetodesoxioctonato; Hep, heptosa; Glu, glucosa; Gal, galactosa; GluNac, N-acetilglucosamina; GlcN, glucosamina; P, fosfato. La glucosamina se une a los ácidos grasos del lípido A por el grupo amino. La porción del lípido A del LPS puede ser tóxica para los animales y constituye el complejo de la endotoxina. Compare esta figura con la Figura 4.23 respecto a los colores que codifican las diferentes porciones del LPS.



www.medilibros.com

Figura 4.23 **La pared celular gramnegativa.** Aunque la membrana externa se considera a menudo como la «segunda bicapa lipídica», su composición y arquitectura difiere en muchos aspectos de la membrana citoplasmática. *(a)* Disposición del lipopolisacárido, lípido A, fosfolípidos, porinas y lipoproteína en la membrana externa. Consulte la Figura 4.22 para detalles estructurales del LPS. *(b)* Modelo molecular de las proteínas de las porinas. Observe los cuatro poros presentes, uno en cada una de las proteínas integrantes de la porina y uno central más pequeño entre las proteínas de la misma. Modelo basado en estudios de difracción por rayos X de una porina de *Rhodobacter blasticus*.

gura 4.22). Los ácidos grasos que se encuentran normalmente en el lípido A son el ácido caproico (C_6), laúrico (C_{12}), mirístico (C_{14}), palmítico (C_{16}) y esteárico (C_{18}).

El LPS reemplaza a la mayoría de los fosfolípidos en la cara externa de la membrana externa, mientras la cara interna tiene una estructura semejante a la de la membrana citoplasmática. Sin embargo, también está presente un complejo lipoproteico en la cara interna de la membrana externa (Figura 4.23*a*). Esta lipoproteína funciona como un anclaje entre la membrana externa y el peptidoglicano. Por tanto, aunque se considera que la membrana externa es una bicapa lipídica, su estructura difiere de la de la membrana citoplasmática, especialmente en lo que se refiere a la cara externa que está en contacto con el medio (comparar las Figuras 4.5 y 4.23*a*).

Endotoxina

Aunque la principal función de la membrana externa es estructural, una importante propiedad biológica es que resulta tóxica para los animales. Entre las bacterias gramnegativas que son patógenas para el hombre y otros mamíferos se encuentran especies de los géneros *Salmonella*, *Shigella* y *Escherichia*, y algunos de los síntomas intestinales típicos que provocan estos patógenos se deben al efecto tóxico de la membrana externa.

Las propiedades tóxicas se asocian con la capa LPS, y en particular con el lípido A. Como se verá en la Sección 28.12, se usa el término **endotoxina** para referirse a este componente tóxico. Algunas endotoxinas causan síntomas muy fuertes en el hombre que incluyen dolores gastrointestinales (gas, diarreas, vómitos). Las endotoxinas son responsables de varias enfermedades bacterianas, como por ejemplo las infecciones alimenticias por *Salmonella* (*véase* Sección 37.7). Es interesante destacar que el LPS de algunas bacterias no patógenas también tiene propiedades tóxicas. Por tanto, no es necesario que el organismo sea patógeno para que su pared celular contenga elementos tóxicos.

Porinas

A diferencia de la membrana citoplasmática, la membrana externa de las bacterias gramnegativas es relativamente permeable a pequeñas moléculas pese a que es básicamente una bicapa lipídica. Esto se debe a la presencia en la membrana externa de unas proteínas llamadas **porinas**, que actúan como canales para la entrada y salida de sustancias hidrofílicas de bajo peso molecular (Figura 4.23). Existen varios tipos de estas porinas y se conocen tanto porinas específicas como inespecíficas.

Las porinas inespecíficas forman canales rellenos de agua a cuyo través puede pasar cualquier tipo de sustancia pequeña. Por el contrario, las porinas específicas contienen una zona de unión para sólo una sustancia o un grupo de ellas estructuralmente relacionadas. Las porinas son proteínas transmembranales que constan de tres subunidades idénticas (Figura 4.23*a*). Además del canal presente en cada proteína que forma la porina, las proteínas constituyentes se asocian de tal modo que forman un pequeño agujero central de cerca de 1 nm (10^{-9} m) de diámetro en la membrana externa por el que las sustancias muy pequeñas pueden viajar (Figura 4.23*b*).

El periplasma

Aunque la membrana externa es permeable a pequeñas moléculas, no lo es para enzimas o moléculas de mayor tamaño. De hecho, una de las funciones de la membrana externa es precisamente retener proteínas que están situadas fuera de la membrana citoplasmática evitando su difusión al medio. Estas proteínas se localizan en una región denominada **periplasma** (*véanse* Figura 4.23 y **Figura 4.24**). Este espacio, situado entre la membrana citoplasmática y la cara interna de la membrana externa, tiene unos 15 nm de anchura y un contenido gelatinoso, probablemente debido a la abundancia de proteínas periplásmicas.

El periplasma puede contener diversas clases de proteínas, entre ellas enzimas hidrolíticas que llevan a cabo la degradación inicial de algunos nutrientes, proteínas de unión implicadas en el proceso de transporte de sustratos (Sección 4.5) y quimiorreceptores, que son proteínas relacionadas con las respuestas quimiotácticas (Sección 4.15 y Sección 9.7). La mayoría de estas proteínas alcanzan el periplasma por el sistema Sec de exportación de proteínas situado en la membrana citoplasmática (Sección 4.5).

Figura 4.24 Pared celular de *Escherichia coli* observada por microscopía electrónica. Ampliación de la micrografía electrónica de transmisión de un corte fino de la envoltura celular de *E. coli* mostrando el espacio periplásmico delimitado por la membrana externa y la membrana citoplasmática.

Relación entre la estructura de la pared celular y la tinción de Gram

Las diferencias estructurales entre las paredes celulares de *Bacteria* grampositivas y gramnegativas son las responsables del diferente comportamiento de las células en la tinción de Gram. En dicha tinción, se forma dentro de las células un complejo insoluble cristal violeta-yodo que en el caso de las gramnegativas puede extraerse con alcohol, pero no en las grampositivas (*véase* Sección 2.2). Como hemos visto, las bacterias grampositivas tienen paredes celulares muy gruesas compuestas por varias capas de peptidoglicano (Figura 4.20). Éstas se deshidratan por el alcohol, provocando el cierre de los poros de las paredes e impidiendo la salida del complejo cristal violeta-yodo. Por el contrario, en las gramnegativas el alcohol penetra rápidamente en la capa externa que es rica en lípidos y la fina capa de peptidoglicano no impide el paso del solvente y la extracción del complejo. Después del tratamiento con alcohol, las bacterias gramnegativas son casi invisibles a menos que reciban una tinción de contraste con un segundo colorante en la tinción de Gram (*véase* Figura 2.4).

4.7 Minirrevisión

Las bacterias gramnegativas, además del peptidoglicano, tienen una membrana externa compuesta por LPS, proteína y lipoproteína. Las proteínas llamadas porinas facilitan la permeabilidad a través de la membrana externa. El espacio entre la membrana citoplasmática y la membrana externa es el periplasma, que contiene varias proteínas importantes para diversas funciones celulares.

- ¿Qué componentes forman la capa de LPS en las bacterias gramnegativas?
- ¿Cuál es la función de las porinas y su localización en una pared gramnegativa?
- ¿Qué componente específico de la célula tiene propiedades de endotoxina?
- ¿Por qué el alcohol decolora rápidamente las *bacterias* gramnegativas?

4.8 Paredes celulares de arqueas

El peptidoglicano es una especie de firma molecular en las paredes celulares de las bacterias que está ausente en las paredes celulares de arqueas. Estas últimas también carecen de una membrana externa típica. En cambio, las paredes celulares de arqueas presentan una amplia variedad de composición química que incluye la presencia de polisacáridos, proteínas y glicoproteínas.

Pseudomureína

Las paredes celulares de algunas arqueas metanogénicas (especies que producen el metano, gas natural) contienen un polisacárido muy similar al peptidoglicano que se llama *pseudomureína* (el término «mureína», que es la designación antigua del peptidoglicano, tiene raíces latinas y significa «pared»; **Figura 4.25**). El esqueleto de pseudomureína lo forman unidades alternativas de N-acetilglucosamina y ácido N-acetiltalosaminurónico, que reemplaza al ácido N-acetilmurámico en el verdadero peptidoglicano (comparar Figuras 4.18 y 4.25). Otra diferencia respecto al peptidoglicano es que los enlaces glicosídicos entre las unidades son de tipo β-1,3 en vez de β-1,4 y que todos los aminoácidos se presentan en forma de estereosiómeros L.

Aunque son químicamente distintas, el peptidoglicano y la pseudomureína son moléculas notablemente similares. Es probable que hayan surgido por evolución convergente después de que los dos dominios de los seres vivos se separaran o que existan por divergencia a partir de un polisacárido común presente en las paredes de las células procarióticas antes de la separación evolutiva de los dominios *Archaea* y *Bacteria*.

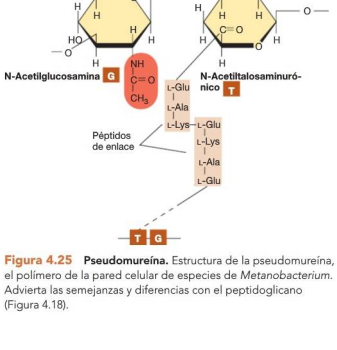


Figura 4.25 Pseudomureína. Estructura de la pseudomureína, el polímero de la pared celular de especies de *Metanobacterium*. Advierta las semejanzas y diferencias con el peptidoglicano (Figura 4.18).

Otros polisacáridos de las paredes celulares

Las paredes celulares de otras arqueas carecen de pseudomureína y contienen otros polisacáridos. Por ejemplo, las especies de *Methanosarcina* poseen paredes celulares gruesas compuestas por glucosa, ácido glucurónico, galactosamina y acetato. Las arqueas halófilas extremas, como *Halococcus*, tienen paredes celulares semejantes a las de *Methanosarcina* pero contienen además sulfato (SO_4^{2-}) (**Figura 4.26**). La carga negativa de los grupos sulfato establece enlaces con el Na^+ presente en altas concentraciones en los hábitats de *Halococcus*, que son estanques de evaporación de sal y mares y lagos salinos (*véase* Sección 17.3). Esto favorece la estabilización de la pared celular en ambientes tan polares. Veremos más adelante que *Methanosarcina* y los halófilos extremos están filogenéticamente relacionados, de modo que las similitudes en la estructura de sus paredes celulares no resultan sorprendentes.

Capas S

El tipo más común de pared entre las *Archaea* es la capa superficial paracristalina o **capa S**, que está compuesta por proteína o glicoproteína y que muestra un aspecto ordenado cuando se observa por microscopía electrónica (**Figura 4.27**). La estructura paracristalina de las capas S se dispone siguiendo varias simetrías: hexagonal, tetragonal o trimérica, dependiendo del número y tipo de subunidades proteicas o glicoproteicas que las componen. Las capas S se han encontrado en prácticamente todos

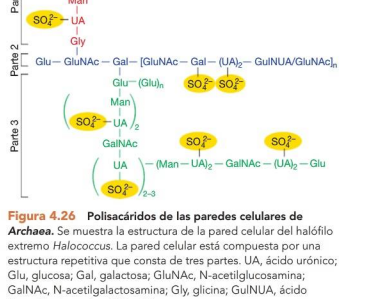


Figura 4.26 Polisacáridos de las paredes celulares de *Archaea*. Se muestra la estructura de la pared celular del halófilo extremo *Halococcus*. La pared celular está compuesta por una estructura repetitiva que consta de tres partes. UA, ácido urónico; Glu, glucosa; Gal, galactosa; GluNAc, N-acetilglucosamina; GalNAc, N-acetilgalactosamina; Gly, glicina; GulNUA, ácido N-acetilgulosaminurónico; Man, manosa.

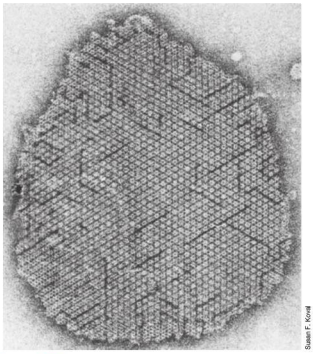


Figura 4.27 **Capa S.** Micrografía por microscopía electrónica de transmisión mostrando la estructura paracristalina de la capa S de *Aquaspirillum serpens*, una especie de *Bacteria*; esta capa S muestra una simetría hexagonal que también es frecuente en las capas S de *Archaea*.

los grupos de arqueas, como los halófilos extremos, los metanógenos y los hipertermófilos. Algunas especies del dominio *Bacteria* también presentan capas S en sus superficies más externas (Figura 4.27).

Las paredes celulares de algunas *Archaea*, como en el caso del metanógeno *Metanococcus jannaschii*, están únicamente compuestas de una sola capa S. Por tanto, las capas S, por sí mismas, son lo suficientemente resistentes como para evitar la lisis osmótica. Sin embargo, en muchos organismos se presentan capas S, normalmente compuestas por polisacáridos, además de los componentes de la pared celular. Por ejemplo, en la especie *Bacillus brevis*, del dominio *Bacteria*, aparece una capa S junto con el peptidoglicano. Siempre que se presenta una capa S además de pared celular, aquella es la estructura más externa. Además de actuar como un refuerzo estructural, las capas S pueden tener otras funciones. Como interfases entre la célula y el medio, es probable que actúen como filtros selectivos que permiten el paso de sustancias de bajo peso molecular y que excluyen grandes moléculas y estructuras (como virus). Las capas S también pueden tener la función de retener a proteínas cerca de la superficie celular, de modo semejante a como hace la membrana externa en las bacterias gramnegativas (Sección 4.7).

Otras paredes celulares de Arqueas

Natrococcus es una especie haloalcalofílica de arqueas que vive en ambientes muy alcalinos y salados, como lagos carbonatados. Este organismo contiene una pared celular glicoproteica que no es una capa S típica porque contiene como esqueleto sólo un tipo de aminoácido, el L-glutamato, al que se unen glucosa y otros azúcares derivados. Resulta interesante que en bacterias también existen capas superficiales de proteína formada por poliglutamato, como en el caso del agente causal del carbunco *Bacillus anthracis*. Pero una glicoproteína con ácido glutámico como único aminoácido sólo se ha encontrado en *Natrococcus*.

Por tanto, en especies de arqueas podemos encontrar paredes celulares de diversa composición, que varía desde aquellas con moléculas que presentan una estrecha semejanza con el peptidoglicano a otras que carecen de componente polisacarídico. Pero con raras excepciones, todas las arqueas contienen pared celular de algún tipo que, como en bacterias, evita la lisis osmótica y define la forma celular. Además, como carecen de peptidoglicano en las paredes celulares, las arqueas presentan una resistencia natural a la acción de la lisozima (Sección 4.6) y del antibiótico penicilina, agentes que destruyen el peptidoglicano o evitan su síntesis correcta, respectivamente (*véase* Sección 6.2).

4.8 Minirrevisión

Las paredes celulares de arqueas son de varios tipos y pueden contener pseudomureína, varios tipos de polisacáridos, capas S y proteínas o glicoproteínas.

- ¿En qué se parecen la pseudomureína y el peptidoglicano? ¿En qué se diferencian?
- ¿Cuál es la composición de una capa S?
- ¿Por qué son las arqueas insensibles a la penicilina?

IV OTRAS ESTRUCTURAS SUPERFICIALES E INCLUSIONES CELULARES

Además de las paredes celulares, las células procarióticas pueden tener otras capas o estructuras más externas en contacto con el medio. Además, contienen a menudo uno o más tipos de inclusiones celulares. En esta Sección examinaremos algunas de estas estructuras.

4.9 Capas superficiales, pelos y fimbrias

Muchas células procarióticas secretan materiales viscosos en su superficie que son polisacáridos o proteínas. Estos materiales no se consideran parte de la pared celular porque no aportan ninguna resistencia estructural signi-

ficativa para la célula. Para describir estas formaciones se utilizan los términos «cápsula» y «capa mucosa».

Cápsulas y capas mucosas

Las cápsulas y las capas mucosas pueden ser gruesas o finas, rígidas o flexibles, dependiendo de su composición y su grado de hidratación. Si el material se organiza como una matriz gruesa que no deja penetrar pequeñas partículas, como la tinta china, se denomina **cápsula** (**Figura 4.28**). Si el material es fácilmente deformable no excluirá a las pequeñas partículas y resultará más difícilmente observable; entonces se denomina *capa mucosa*. Además, las cápsulas suelen estar unidas firmemente a la pared celular, mientras que las capas mucosas están menos fijadas y pueden desprenderse de la superficie celular.

En las bacterias, las capas polisacarídicas pueden tener varias funciones relacionadas con la fijación de los microorganismos a superficies sólidas. Como veremos más adelante, los microorganismos patógenos que penetran en el cuerpo de los animales por rutas específicas se unen primero de modo selectivo a componentes superficiales de los tejidos del hospedador (*véase* Sección 28.6). A menudo, esta interacción está mediada por los polisacáridos superficiales de la célula bacteriana. Muchas bacterias no patógenas también se unen en la naturaleza a superficies sólidas formando a veces una gruesa capa de células que se llama *biofilm*. Los polisacáridos extracelulares desempeñan un papel esencial en el establecimiento de biofilms (*véase* Información adicional en el Capítulo 6, «Crecimiento microbiano en el mundo real: biofilms»; Secciones 23.4 y 23.5).

Las capas externas de polisacáridos tienen también otras funciones. Por ejemplo, las bacterias patógenas con cápsula son más difícilmente fagocitadas por las células del sistema inmune que las reconocen y destruyen (*véase* Sección 29.2). Por otra parte, como las capas polisacarídicas externas retienen una significativa cantidad de agua, es probable que tengan alguna función en la resistencia de las células frente a la desecación.

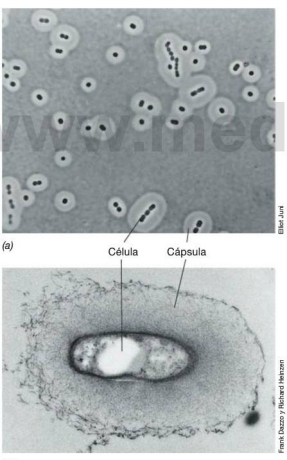


Figura 4.28 **Cápsulas bacterianas.** *(a)* Cápsulas de *Acinetobacter* observadas por tinción negativa con tinta china y microscopía de contraste de fases. La tinta china no penetra en la cápsula y resalta esta estructura como un área clara que rodea a la célula, que aparece más oscura. *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de un corte fino de una célula de *Rhizobium trifolii* teñida con rojo de rutenio para revelar la cápsula. El diámetro de la célula sin la cápsula es de 0,7 μm aproximadamente.

Fimbrias y pelos

Las fimbrias y los pelos bacterianos (pili) son estructuras filamentosas formadas por proteínas que se prolongan desde la superficie celular y pueden desempeñar varias funciones. Las *fimbrias* (**Figura 4.29**) ayudan a los microorganismos a fijarse sobre superficies, como las de los tejidos animales en el caso de las bacterias patógenas, y a formar películas (finas capas de células sobre la superficie de un medio líquido) o biofilms. Entre los patógenos humanos, hay casos destacables en los que estas estructuras favorecen el desarrollo de la enfermedad; esto ocurre, por ejemplo, en especies de *Salmonella* (salmonelosis), *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrea) y *Bordetella pertussis* (tos ferina).

Los **pelos** o **pili** son similares a las fimbrias pero típicamente son estructuras más largas, y se presentan sólo uno o unos pocos sobre la superficie celular. Como los pe-

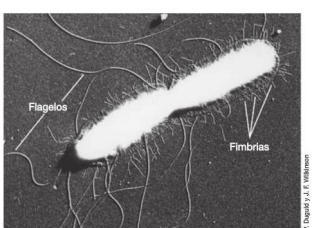


Figura 4.29 **Fimbrias.** Micrografía electrónica de una célula de *Salmonella typhi* en división, mostrando flagelos y fimbrias. Una célula aislada tiene 0,9 μm de diámetro.

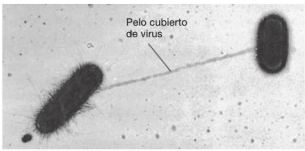


Figura 4.30 Pelos (pili). Presencia de pelos en una célula de *Escherichia coli* que está en proceso de transferencia genética con otra. Esta estructura se evidencia más fácilmente mediante los virus que se han adherido a ella. La célula tiene unos 0,8 µm de diámetro.

los pueden ser receptores para algunos tipos de virus, su visualización por microscopía electrónica resulta más fácil cuando están recubiertos por las partículas víricas (**Figura 4.30**). Además de unirse a superficies, como hacen las fimbrias, los pelos tienen funciones adicionales. Una función muy importante es facilitar el intercambio genético entre células procarióticas en el proceso de conjugación, como se verá en la Sección 11.12.

Se conocen muchas clases distintas de pelos según su estructura y función. Una clase, llamada *pelos de tipo IV*, lleva a cabo una forma poco común de movilidad denominada *movilidad a tirones*. Los pelos de tipo IV tienen 6 nm de diámetro y se pueden extender hasta varios micrómetros de la superficie celular. La movilidad a tirones es una variedad de la movilidad por deslizamiento sobre una superficie sólida (Sección 4.14) y consiste en que se logra el desplazamiento de la célula mediante la extensión y retracción de los pelos. La energía para esta movilidad se obtiene de la hidrólisis de ATP. Algunas especies de *Pseudomonas* y *Moraxella* presentan este tipo de movilidad.

A diferencia de otros pelos, los pelos de tipo IV sólo aparecen en los polos de células bacilares. Estos pelos se han considerado como factores de colonización muy importantes para algunos patógenos humanos, como *Vibrio cholerae* (cólera) y *Neisseria gonorrhoeae*. La especial movilidad de estos patógenos favorece posiblemente su desplazamiento por los tejidos del hospedador. Se supone también que los pelos de tipo IV están implicados en procesos de transferencia genética durante la conjugación (Sección 11.12).

4.9 Minirrevisión

Muchas células procarióticas contienen cápsulas, capas mucosas, pelos o fimbrias. Estas estructuras tienen funciones relacionadas con la adhesión, el intercambio genético y la movilidad.

- ¿Podría una célula vivir sin pared celular pero con cápsula? Razone la respuesta.
- Señale diferencias estructurales y funcionales entre las fimbrias y los pelos.

4.10 Inclusiones celulares

A menudo las células procarióticas presentan gránulos y otras inclusiones que actúan como reservas de energía o como depósitos de precursores para los componentes macromoleculares y estructurales. Las inclusiones pueden a veces verse directamente por microscopía óptica y suelen estar encerradas en membranas atípicas que las separan del resto de la célula. El almacenamiento de carbono y de otras sustancias en una forma insoluble es ventajoso para la célula porque no contribuye al estrés osmótico que se crearía si la misma cantidad de sustancia se encontrara en forma soluble en el citoplasma.

Polímeros carbonados de reserva

Una de las inclusiones más comunes entre los procariotas consta de **ácido poli-β-hidroxibutírico (PHB),** un compuesto lipídico formado por unidades de ácido β-hidroxibutírico (**Figura 4.31***a*). Los monómeros del PHB se unen por enlace éster formando largos polímeros cuyas moléculas se agregan formando gránulos (Figura 4.31*b*). La longitud de estos polímeros varía considerablemente de 4 a 18

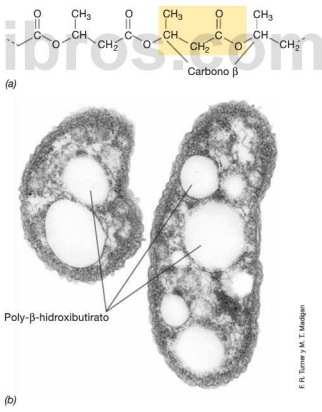


Figura 4.31 Poli-β-hidroxibutirato (PHB). *(a)* Estructura química del PHB, un poli-β-hidroxialcanoato frecuente. Se indica cada unidad monomérica. En otros polímeros de alcanoatos, el grupo $-CH_3$ sobre el carbono β se sustituye por cadenas hidrocarbonadas más largas. *(b)* Micrografía electrónica de un corte fino de la bacteria fotótrofa *Rhodovibrio sodomensis* mostrando gránulos de PHB.

unidades en algunos microorganismos. Se ha acuñado el término general de poli-β-hidroxialkanoatos (PHA) para describir esta clase colectiva de polímeros que pueden actuar como reserva de carbono y energía. Los PHA se sintetizan cuando en el medio hay un exceso de carbono y se hidrolizan para su utilización en la biosíntesis de esqueletos carbonados o para fabricar ATP cuando las condiciones lo requieren. Muchos procariotas, tanto pertenecientes al dominio bacterias como a arqueas, producen PHA.

Otro producto de reserva es el **glucógeno**, un polímero de glucosa (*véase* Sección 3.3). Como los PHA, el glucógeno es un depósito de carbono y energía que se acumula cuando la fuente de carbono está en exceso en el medio y se consume en condiciones de limitación de carbono. El glucógeno se parece al almidón, que es la principal reserva en plantas, pero se diferencian en la manera en que se unen los monómeros de glucosa (*véase* Figura 3.6*b*).

Polifosfato y azufre

Muchos microorganismos acumulan fosfato inorgánico (PO_4^{2-}) en forma de gránulos de *polifosfato*, los cuales pueden ser degradados y usados como fuente de fosfato para la biosíntesis de ácidos nucleicos y de fosfolípidos y en algunos organismos para elaborar ATP. Con frecuencia, el fosfato es un nutriente limitante en medios naturales, de modo que si una célula crece en exceso de fosfato resulta beneficioso acumularlo para futuros usos en forma de polifosfato.

Muchos procariotas gramnegativos pueden oxidar compuestos reducidos del azufre, como sulfuro de hidrógeno (H_2S). La oxidación del sulfuro está ligada a reacciones de producción de energía (quimiolitotrofía; *véanse* Secciones 20.8 y 20.10) o a la fijación fototrófica de CO_2 (autotrofía; *véase* Sección 20.6). En ambos casos se puede acumular azufre elemental dentro de la célula en glóbulos fácilmente visibles (**Figura 4.32**) que persisten mientras esté disponible la fuente de azufre reducido. Sin embargo, cuando la fuente de azufre reducido es limitante, estos gránulos de azufre desaparecen gradualmente a medida que el azufre es oxidado a sulfato (SO_4^{2-}).

Se ha demostrado que los gránulos de azufre se forman en realidad en el periplasma de la célula más que en el citoplasma. El periplasma se expande primero hacia fuera para acomodar los glóbulos de S^0 resultantes de la oxidación del H_2S. Luego, el periplasma se contrae hacia dentro cuando el S^0 se oxida a SO_4^{2-}. Es probable que alguna otra inclusión «citoplásmica» que se forma en las gramnegativas siga un proceso similar. Por ejemplo, los gránulos de PHA en células gramnegativas se localizan probablemente en el periplasma (Figura 4.31).

Inclusiones magnéticas: magnetosomas

Algunas bacterias se orientan en un campo magnético porque poseen **magnetosomas**. Estas estructuras son partículas intracelulares del mineral férrico magnetita, Fe_3O_4 (**Figura 4.33**), que convierten a las células que los poseen en un dipolo magnético permanente sometido a la

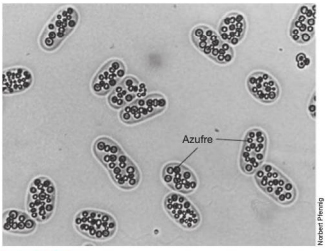


Figura 4.32 **Glóbulos de azufre.** Micrografía en campo claro de células de la bacteria roja del azufre *Isochromatium buderi*. Las inclusiones intracelulares son gránulos de azufre que se forman por oxidación de sulfuro de hidrógeno (H_2S). Una célula individual mide aproximadamente 4 × 7 μm.

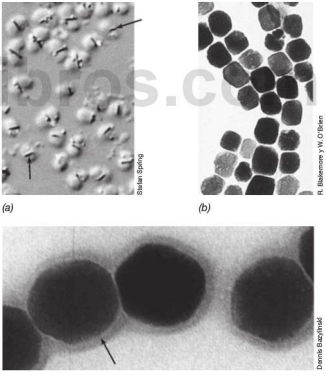


Figura 4.33 **Bacterias magnetotácticas y magnetosomas.** *(a)* Micrografía de contraste interferencial de bacterias magnetotácticas cocoides con magnetosomas. Los magnetosomas se indican con flechas. Cada célula mide 2,2 μm de diámetro. *(b)* Magnetosomas aislados de la bacteria *Magnetospirillum magnetotacticum*. Cada partícula tiene una longitud de unos 50 nm. *(c)* Micrografía electrónica de transmisión de los magnetosomas de un coco magnetotáctico. La flecha indica la membrana que rodea cada magnetosoma. Un magnetosoma aislado mide aquí 90 nm de ancho.

www.libros.com

influencia de cualquier campo magnético. Las bacterias que tienen magnetosomas exhiben *magnetotaxis*, proceso mediante el cual se orientan y se desplazan siguiendo las líneas de un campo magnético. Aunque en el término magnetotaxis se incluye el sufijo *–taxis*, no hay pruebas de que las bacterias magnetotácticas utilicen los sistemas sensores propios de las bacterias quimiotácticas o fototácticas (Sección 4.15). El alineamiento de los magnetosomas en la célula les confiere simplemente propiedades magnéticas que permiten su orientación en una dirección particular de movimiento.

La función de los magnetosomas es desconocida. Se ha descrito su presencia en varios organismos acuáticos que, en condiciones de cultivo de laboratorio, crecen mejor a concentraciones bajas de O_2. Esto parece indicar que probablemente una de sus funciones sea la de guiar a las células acuáticas hacia el fondo (la dirección del campo magnético terrestre), donde los niveles de O_2 son menores.

Los magnetosomas están rodeados por una membrana que contiene fosfolípidos, proteínas y glicoproteínas (Figura 4.33*b,c*). Esta membrana no es una unidad de membrana, como la membrana citoplasmática (Figura 4.5), sino una membrana atípica como la que envuelve a los gránulos de PHB (Figura 4.31). Es probable que la membrana del magnetosoma tenga como función precipitar el Fe^{3+} (introducido en la célula en forma soluble por agentes quelantes) en forma de Fe_3O_4 cuando se forma el magnetosoma. La morfología de los magnetosomas parece específica para cada especie, y varían de forma, presentando aspecto cuadrado, rectangular o puntiagudo, formando cadenas dentro de la célula (Figura 4.33).

4.10 Minirrevisión

Con frecuencia, las células procarióticas contienen inclusiones de azufre, polifosfatos, polímeros carbonados o magnetosomas. Estas sustancias funcionan como materiales de reserva o en la magnetotaxis.

- ¿En qué condiciones se produce acumulación de PHA o de glucógeno?
- ¿Porqué resultaría imposible que una bacteria grampositiva acumulara azufre como lo hacen los quimiolitótrofos oxidantes del azufre?
- ¿Qué forma de hierro está presente en los magnetosomas?

4.11 Vesículas de gas

Algunos procariotas son *planctónicos*, es decir, viven flotando en las columnas de agua de los lagos y los océanos porque poseen **vesículas de gas**. Estas estructuras confieren flotabilidad a las células, permitiendo que se posicionen en las columnas de agua a diferentes alturas en función de las condiciones ambientales.

T.D. Brock

Figura 4.34 Cianobacterias flotantes. Flotación de cianobacterias con vesículas de gas en un lago rico en nutrientes, Lago Mendota, Madison, Winconsin, USA.

Los ejemplos más llamativos de bacterias con vacuolas gaseosas son las cianobacterias, que forman acumulaciones masivas en los lagos y otros ambientes acuáticos (**Figura 4.34**). Estas células suben a la superficie y son arrastradas por los vientos en grandes masas. Varias bacterias fotótrofas rojas y verdes poseen también vesículas gaseosas (*véanse* Secciones 15.2 y 16.15), así como algunas bacterias no fotótrofas que viven en lagos y estanques. Algunas arqueas también presentan vacuolas de gas, pero estas formaciones están ausentes en los eucariotas.

Estructura general de las vesículas de gas

Las vesículas de gas son estructuras fusiformes llenas de gas y formadas por proteínas. Son estructuras huecas, pero rígidas, y de longitud y diámetro variable. En organismos diferentes la longitud alcanza de 300 a más de 1.000 nm, y la anchura varía de 45 a 120 nm, pero en un organismo determinado las dimensiones son más o menos constantes (**Figura 4.35**).

A.E. Konopka y J.T. Staley

Figura 4.35 Vesículas de gas. Micrografía electrónica de transmisión de vesículas de gas aisladas de la bacteria *Ancyclobacter aquaticus* y observadas mediante tinción negativa. Cada vesícula gaseosa tiene un diámetro aproximado de 100 nm. (reproducido con permiso de *Archives of Microbiology 112:* 133-140 (1977)).

El número de vesículas puede variar de unas cuantas a varios cientos por célula. La membrana de estas vesículas de gas se compone de proteína, tiene una anchura de cerca de 2 nm y es impermeable al agua y a los solutos pero permeable a gases. La presencia de vesículas puede detectarse por microscopía óptica, donde los grupos de vesículas se denominan *vacuolas de gas* y aparecen como inclusiones irregulares y brillantes, o bien por microscopía electrónica (**Figura 4.36*a*** y ***b***).

Estructura molecular de las vesículas de gas.

Cada vesícula de gas se compone de dos proteínas diferentes (**Figura 4.37**). La proteína principal se denomina *GvpA* y es una proteína pequeña, muy hidrofóbica y muy rígida. La rigidez es esencial para que la estructura de las vesículas de gas resista las presiones que se ejercen sobre ella desde fuera. GvpA es la proteína estructural y constituye hasta el 97% de la proteína total de la vesícula. La proteína minoritaria, llamada *GvpC*, sirve para reforzar las vesículas de gas.

Las vesículas de gas se forman cuando varias copias de GvpA se alinean en paralelo formando una superficie compacta e impermeable al agua. Esta capa se presenta reforzada por GvpC, que entrelaza y mantiene unidas a las moléculas de GvpA, como si fuera una grapa, en una estructura reticulada (Figura 4.37). La forma final de la vesícula de gas depende de cómo se dispongan exactamente GpvA y GpvC para formar la vesícula, pudiendo variar desde un aspecto largo y fino a una forma corta y achatada (compárense las Figuras 4.35 y 4.36*b*).

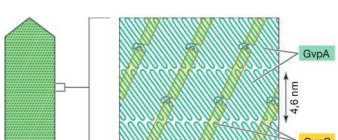
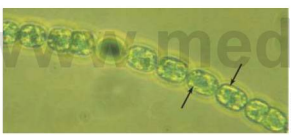
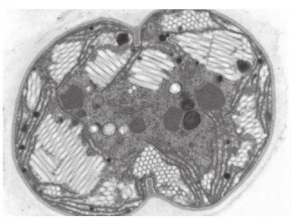


Figura 4.37 **Proteínas de las vesículas de gas.** Modelo de interacción de las dos proteínas que forman las vesículas de gas, GvpA y GvpC, para originar una estructura impermeable al agua pero permeable al gas. GvpA forma los ejes y presenta una disposición rígida en hoja β mientras GvpC actúa como un elemento de entrecruzamiento y presenta una disposición en hélice α.



(a)



(b)

Figura 4.36 **Vesículas de gas de las cianobacterias *Anabaena* y *Microcystis*.** *(a) Anabaena flosaquae*. La célula oscura del centro es un heterocisto que carece de vacuolas de gas. En las otras células, las vesículas se agrupan como objetos brillantes que dispersan la luz (flechas). *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de la cianobacteria *Microcystos*. Las vesículas forman agrupaciones que aquí aparecen seccionadas transversal y longitudinalmente.

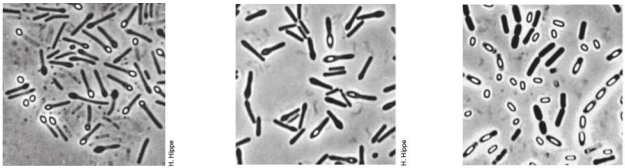
¿Cómo influyen las vesículas gaseosas en la densidad de flotación y cual es su ventaja ecológica? La composición y la presión del gas que las vesículas gaseosas encierran es la misma que la del gas del medio en el que está suspendido el organismo. Sin embargo, como las vesículas hinchadas de gas presentan una densidad aproximada del 5-20% de la que posee el resto de las células, disminuyen la densidad celular y, por tanto, aumentan su flotabilidad. En el caso de organismos fotótrofos esta estrategia es muy beneficiosa, ya que en una columna de agua les permite ajustar verticalmente su posición a regiones donde la intensidad de la luz sea óptima para la fotosíntesis.

4.11 Minirrevisión

Las vesículas gaseosas son estructuras intracelulares llenas de gas y formadas por proteínas, cuya función es permitir la flotabilidad de las células. Contienen dos proteínas diferentes que se disponen formando una estructura reticular permeable a gases pero impermeable al agua.

- ¿En qué benefician las vesículas de gas a las células fotótrofas?
- ¿Cómo se disponen las dos proteínas que forman las vesículas de gas, GvpA y GvpC, para dar lugar a una membrana proteica impermeable al agua?

www.medilibros.com



(a) **Esporas terminales** *(b)* **Esporas subterminales** *(c)* **Esporas centrales**

Figura 4.38 La endospora bacteriana. Micrografías de contraste de fases que ilustran tipos morfológicos de endosporas y su localización intracelular.

4.12 Endosporas

Algunas especies del dominio *Bacteria* producen intracelularmente unas estructuras especiales llamadas **endosporas** (**Figura 4.38**) durante un proceso denominado *esporulación*. Las endosporas son células diferenciadas, extraordinariamente resistentes al calor, a agentes químicos agresivos y a la radiación, que funcionan como estructuras de supervivencia, capacitando así al organismo para resistir condiciones adversas como temperaturas extremas, desecación, limitación de nutrientes y muchas más. Las endosporas representan el estado durmiente de un ciclo de vida bacteriano del tipo: célula vegetativa → endospora → célula vegetativa. Las endosporas son también una estructura ideal de dispersión por el viento, el agua y el intestino de animales. Las bacterias que forman endosporas se encuentran habitualmente en el suelo y los géneros endosporulantes mejor estudiados son *Bacillus* y *Clostridium*.

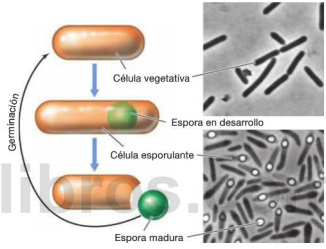


Figura 4.39 Ciclo de vida de una bacteria formadora de endosporas. Las micrografías de contraste de fases corresponden a *Clostridium pascui*. Cada célula tiene unos 0,8 µm de ancho.

Formación de endosporas y germinación

Durante la formación de la endospora, una célula vegetativa se convierte en una estructura inerte y termorresistente (**Figura 4.39**). Las células no esporulan cuando están en crecimiento sino cuando cesa el crecimiento debido a la desaparición de un nutriente esencial. Por ejemplo, las células de *Bacillus*, una bacteria típica formadora de endosporas, cesan el crecimiento vegetativo y comienzan la esporulación cuando un nutriente carbonado o nitrogenado llega a ser un factor limitante.

Una bacteria es capaz de permanecer en estado latente durante muchos años (*véase* el recuadro Información adicional: «¿Cuánto tiempo puede sobrevivir una endospora?»), pero también puede dar lugar a una célula vegetativa de un modo relativamente rápido. Este proceso ocurre en tres pasos: *activación*, *germinación* y *crecimiento* (**Figura 4.40**). La activación se logra fácilmente por calentamiento de las endosporas recién formadas, a una temperatura subletal pero elevada. Las endosporas activadas quedan así condicionadas a germinar cuando se colocan en presencia de nutrientes adecuados, como algunos aminoácidos (la alanina es particularmente activa en poner en marcha la germinación). La germinación es normalmente un proceso rápido que ocurre en cuestión de minutos y supone la pérdida de refringencia de la espora, un aumento en la capacidad de tinción por colorantes, y la pérdida de resistencia al calor y a compuestos químicos. El estado final o fase de crecimiento se caracteriza por un hinchamiento visible de la célula debido a la acumulación de agua y a la síntesis de RNA, proteínas y DNA. A continuación, la célula emerge una vez rota la cubierta de la endospora y comienza a crecer (Figura 4.40), manteniendo el estado vegetativo hasta que nuevamente detecta señales ambientales que ponen en marcha la esporulación.

Estructura de la endospora

Las endosporas aparecen por microscopía óptica como estructuras muy refráctiles (Figuras 4.38-4.40). Estas formaciones son impermeables a la mayoría de los colorantes, de modo que con frecuencia se observan como

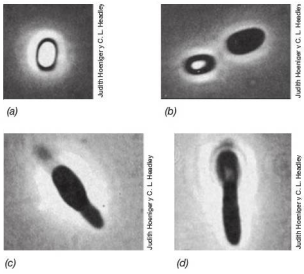


Figura 4.40 **Germinación de la endospora en *Bacillus*.** Conversión de una endospora a célula vegetativa. La serie de micrografías muestra la secuencia del proceso que comienza con una espora madura muy refringente *(a)* cuya activación origina una pérdida de refractibilidad *(b)* y la emergencia de nuevas células vegetativas *(c, d)*.

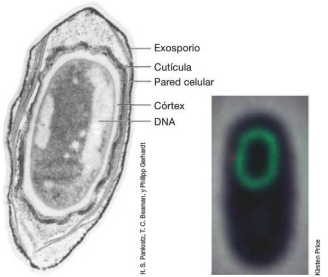


Figura 4.41 **Estructura de la endospora bacteriana.** *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de un corte fino de una endospora de *Bacillus megatherium*. *(b)* Micrografía de fluorescencia de una célula de *Bacillus subtilis* en proceso de esporulación. La zona verde se debe a un colorante que tiñe específicamente a una proteína que forma la cutícula de la endospora.

regiones no teñidas dentro de las células que han sido teñidas con colorantes básicos como el azul de metileno. Para teñir las endosporas se deben usar procedimientos especiales utilizando un protocolo clásico con el colorante verde malaquita suministrado en caliente.

La estructura de la endospora por microscopía electrónica es muy diferente de la de la célula vegetativa (**Figura 4.41**). En particular, la estructura es muy compleja y presenta muchas capas que están ausentes en la célula vegetativa. La capa más externa es el *exosporio*, una fina cubierta compuesta por proteína. Por debajo se encuentra la *cutícula* o *cubierta de la espora*, formada por proteínas específicas (Figura 4.41*b*). Por debajo de ésta, se localiza el *córtex*, que es una capa de peptidoglicano con uniones laxas, y más internamente se presenta el *núcleo*, que contiene la pared, la membrana citoplasmática, el citoplasma, el nucleoide, los ribosomas y otros orgánulos celulares esenciales. Por tanto, en esencia, la endospora se diferencia estructuralmente de la célula vegetativa en el tipo de estructuras situadas fuera de la pared del núcleo de la espora.

Un compuesto químico característico de las endosporas, y ausente en las células vegetativas, es el **ácido dipicolínico** (**Figura 4.42***a*). Este compuesto se ha encontrado en todas las endosporas examinadas y se localiza en el núcleo de la espora. Las endosporas son también muy ricas en iones Ca^{2+}, que en gran parte se combinan con el ácido dipicolínico (Figura 4.42*b*). Los complejos de dipicolinato cálcico suponen alrededor del 10% del peso seco de la endospora. Estos complejos reducen la disponibilidad de agua dentro de las endosporas, favoreciendo su deshidratación. Además, los complejos se intercalan en el DNA, insertándose entre las bases, estabilizando de este modo el DNA frente a la desnaturalización por el calor.

El núcleo de la endospora y las pequeñas proteínas ácido-solubles (SASP)

Aunque en uno y otro caso contienen una copia del cromosoma y otros componentes celulares esenciales, el núcleo de una endospora madura es muy distinto de la célula vegetativa de la que procede. Además de los elevados niveles de dipicolinato cálcico (Figura 4.42) que ayudan a reducir el contenido en agua del núcleo de la endospora, éste se deshidrata de modo notable durante el proceso de esporulación y presenta sólo el 10-25% del contenido de agua de una célula vegetativa, haciendo que la consistencia del citoplasma sea la de un gel denso. La

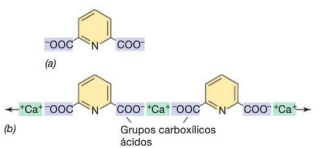


Figura 4.42 **Ácido dipicolínico (DPA).** *(a)* Estructura del DPA. *(b)* Unión del Ca^{2+} con las moléculas de DPA para formar un complejo.

¿Cuánto tiempo puede sobrevivir una espora?

En este capítulo hemos considerado la latencia y la resistencia de las endosporas bacterianas y se ha señalado que pueden vivir durante mucho tiempo en estado latente. ¿Pero cuánto tiempo exactamente?

Los datos publicados sobre la longevidad de las esporas indican que pueden permanecer viables (es decir, capaces de germinar para dar células vegetativas) como mínimo durante varias décadas y probablemente durante mucho más. En 1981 se colocó en un medio de cultivo estéril una suspensión de esporas de *Clostridium aceticum* (**Figura 1a**) preparada en 1947 y, 34 años después, comenzó a crecer en menos de 12 horas dando lugar a un cultivo. *Clostridium aceticum* fue aislado originalmente por el holandés K.T. Wieringa en 1940 y se creyó que el vial con las esporas se había perdido, hasta que fue encontrado en un almacén de la Universidad de California y posteriormente reactivado[1]. *C. aceticum* es una bacteria acetogénica que forma acetato a partir de CO_2 + H_2 o de glucosa (véase Sección 21.9)

Existen otro ejemplos documentados sobre la longevidad de las endosporas. Las bacterias termófilas del género *Thermoactinomyces* forman endosporas y

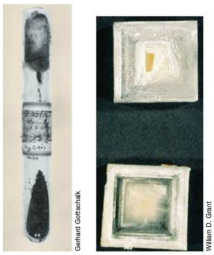


Figura 1 **Longevidad de las endosporas.** *(a) Fotografía de un tubo conteniendo esporas de* Clostridium aceticum, *preparado el 7 de mayo de 1947. Tras permanecer en estado latente por más de 30 años, las esporas se sembraron en un medio de cultivo y el crecimiento ocurrió en 12 horas (b) Bacterias halófilas atrapadas en cristales de sal. Estos cristales se obtuvieron artificialmente en el laboratorio estando presentes células de* Halobacterium *(color naranja), que permanecieron viables en el interior. Se han descrito cristales similares a éstos, procedentes del período Pérmico (hace unos 250 millones de años), conteniendo endosporas viables.*

tienen una amplia distribución en el suelo, humus y materia vegetal en descomposición. El análisis microbiológico de los restos arqueológicos romanos hallados en el Reino Unido, y datados hace unos 2000 años, permitieron descubrir un gran número de esporas viables de *Thermoactinomyces* en distintas muestras de residuos. Además, se recuperaron esporas de *Thermoactinomyces* en fracciones de estratos de sedimentos en un lago de Minessota con una antigüedad de unos 7000 años. Aunque siempre es posible una contaminación, en estos estudios las muestras se procesaron de tal modo que se descartó la contaminación por esporas actuales[2]. Por tanto, es posible que las endosporas resistan durante varios miles de años, pero ¿es éste el límite?

¿Qué factores podrían limitar la edad de una espora? Uno de los factores más importantes que se ha tenido en cuenta es la radiación cósmica, que puede producir mutaciones en el DNA[2]. Se ha supuesto que, durante miles de años, los efectos acumulativos de la radiación cósmica podrían producir multitud de mutaciones en el genoma de un organismo, capaces de afectar incluso a estructuras tan resistentes como las endosporas; éstas terminarían por morir

deshidratación del núcleo incrementa la termorresistencia de las macromoléculas dentro de la endospora. Algunas endosporas bacterianas sobreviven a tratamientos térmicos de 150 °C, aunque 121°C, que es la temperatura estándar para la esterilización en un autoclave (*véase* Sección 27.1) mata a las endosporas de la mayoría de las especies. La ebullición no tiene efectos negativos sobre la viabilidad de la endospora. Al mismo tiempo, la deshidratación también confiere resistencia frente a compuestos químicos como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y causa que las enzimas del núcleo de la endospora estén en estado inactivo. Junto al bajo contenido hídrico de la endospora, el pH intracelular es casi una unidad más bajo que el del citoplasma de la célula vegetativa.

El núcleo de la endospora contiene elevados niveles de *pequeñas proteínas ácido-solubles* (SASP; del inglés *small acid-soluble proteins*) que tienen al menos dos funciones durante el proceso de esporulación. Estas proteínas se unen fuertemente al DNA y lo protegen del daño potencial de la radiación ultravioleta, la desecación y el calor seco. La resistencia a la luz ultravioleta se adquiere cuando las SASP cambian la estructura molecular del DNA de la forma normal «B» a la forma más compacta «A», que es más resistente a la formación de dímeros de

¿Cuánto tiempo puede sobrevivir una espora? *(continuación)*

debido a las lesiones genéticas producidas. Sin embargo, las extrapolaciones efectuadas a partir de auténticas valoraciones experimentales sobre los efectos de la radiación natural en las endosporas sugieren que, si se protegen parcialmente, por ejemplo embebidas en estratos de materia orgánica como en las excavaciones arqueologicas romanas o los sedimentos lacustres referidos anteriormente, pueden seguir siendo viables durante períodos de hasta varios cientos de miles de años y quizás aún más. Asombroso, pero ¿es éste el límite máximo?

En 1995 un grupo de científicos publicó la resurrección de endosporas bacterianas cuya edad se estimaba en 25-40 millones de años[3]. Supuestamente, estas endosporas fueron preservadas en los intestinos de una abeja extinguida atrapada en el ámbar de una era geológica conocida. La presencia de bacterias formadoras de endosporas en estas abejas se había sospechado ya en estudios de microscopía electrónica del intestino de insectos que tenían estructuras parecidas a las endosporas (Figura 4.41*a*) y en los que se había recuperado DNA parecido al de *Bacillus*. Las muestras de tejido de abeja se incubaron en un medio de cultivo estéril que rápidamente permitió el desarrollo de bacterias formadoras de endosporas. Se tomaron rigurosas precauciones para demostrar que la bacteria capaz de formar endosporas, revivida a partir de la abeja incrustada en el ámbar, no era debida a una contaminación. Un hecho incluso más sorprendente fue el aislamiento de bacterias halófilas formadoras de endosporas a partir de inclusiones en cristales salinos procedentes del período Pérmico (hace más de 250 millones de años)[4]. Estas bacterias quedaron atrapadas dentro del cristal de salmuera cuando se formó (Figura 1*b*) y han permanecido viables durante tantos años. Experimentos moleculares sobre un material de halita todavía más antiguo (unos 450 millones de años) presentan así mismo evidencias sobre células procarióticas[5].

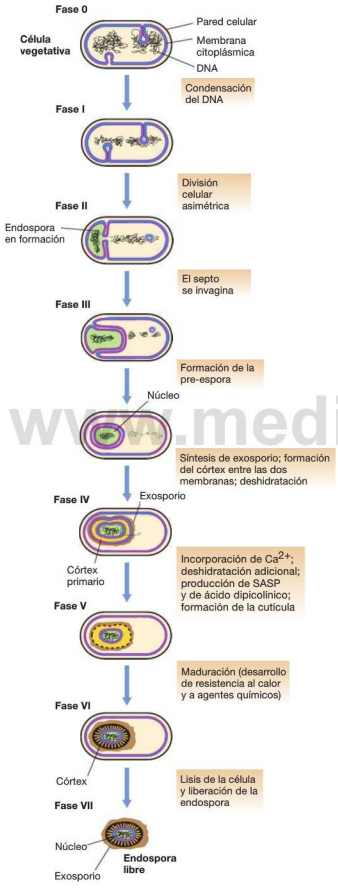
Si estas afirmaciones sobre la increíble longevidad de las endosporas se confirman mediante la repetición de los mismos resultados en laboratorios independientes (lo que es decisivo para aceptar hallazgos tan controvertidos), significaría que las endosporas almacenadas en condiciones adecuadas pueden permanecer viables indefinidamente. Esto es un testimonio notable de que la endospora, una estructura que apareció evolutivamente para ayudar a las células a mantener su viabilidad durante períodos relativamente cortos, ha sido tan bien diseñada que incluso puede permanecer en estado latente y en estado viable por cientos de miles o millones de años.

[1]Braun, M., F. Mayer y G. Gottschalk. 1981. «*Clostridium aceticum* (Wieringa), a microorganism producing acetic acid from molecular hydrogen and carbon dioxide». *Arch. Microbiol. 128*:288-293.
[2]Gest, H., y J. Mandelstam. 1987. «Longevity of microorganisms in natural environments». *Microbiol. Sci. 4*:69-71.
[3]Cano, R.J., y M.K. Borucki. 1995. «Revival and identification of bacterial spores in 25-to 40-million-year-old Dominican amber». *Science 286:* 1060-1064.
[4]Vreeland, R.H, W.D. Rosenzweig y D.W. Powers. 2000. «Isolation of a 250million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal». *Nature 407:* 897-900.
[5]Fish, S.A., T.J. Shepherd, T.J. MacGenity y W.D. Grant. 2002. «Recovery of 16S ribosomal RNA gene fragments from ancient halite». *Nature 417:* 432-436.

pirimidina por radiación UV que originan mutaciones (*véase* Sección 11.7), y más resistente también a los efectos desnaturalizantes del calor seco. Además, las SASP sirven como una fuente de carbono y energía durante la formación de una nueva célula vegetativa a partir de la endospora durante la germinación.

El proceso de esporulación

La esporulación comprende una serie de procesos complejos de diferenciación. La conversión de una célula vegetativa a endospora se basa en muchos cambios que están genéticamente dirigidos. Los principales cambios estructurales que ocurren en células de *Bacillus* durante la esporulación se indican en la **Figura 4.43**. La esporulación puede dividirse en varias fases. En el caso de *Bacillus subtilis*, donde se han llevado a cabo estudios muy detallados, todo el proceso dura 8 horas y comienza con la división asimétrica de la célula vegetativa (Figura 4.43). Diversos estudios genéticos con mutantes de *Bacillus*, cada uno de ellos bloqueado en una de las fases de la esporulación que se muestra en la Figura 4.43, indican que hay más de 200 genes implicados en el proceso. La esporulación requiere el cese de la síntesis de algunas proteínas funcionales en la célula vegetativa y la síntesis



de nuevas proteínas específicas. Esto se lleva a cabo mediante la activación de varias familias de genes específicos para la endoesporulación que codifican proteínas que catalizan la serie de procesos que conducen a la formación de una endospora deshidratada y metabólicamente inerte, pero muy resistente, a partir de una célula vegetativa hidratada y funcionalmente activa (**Tabla 4.3** y Figura 4.43). En la Sección 9.12 volveremos a tratar este tema y examinaremos algunos procesos moleculares que controlan la esporulación.

Aspectos filogenéticos de la formación de endosporas

Cerca de 20 géneros de bacterias son capaces de formar endosporas, aunque el proceso sólo se ha estudiado con detalle en unas cuantas especies de *Bacillus* y *Clostridium*. Sin embargo, muchos de los secretos de la supervivencia de la endospora, como la formación de dipicolinato cálcico (Figura 4.42) y la producción de proteínas específicas, parecen universales. Es decir, aunque algunos de los detalles de la esporulación pueden variar de un organismo a otro, los principios generales parecen ser los mismos en todas las bacterias formadoras de endosporas.

Desde una perspectiva filogenética, la capacidad de producir endosporas se encuentra solamente en una rama particular de las bacterias grampositivas (*véanse* Secciones 2.9 y 16.2). Pese a esto, las fisiologías de las bacterias formadoras de endosporas son muy diversas y comprenden anaerobios, aerobios, fotótrofos y quimiolitótrofos. Considerando esta diversidad fisiológica, los inductores reales de la endosporulación pueden variar en las distintas especies y podrían incluir señales distintas al simple agotamiento de nutrientes que dispara la formación de endosporas en especies de *Bacillus* y *Clostridium*. Resulta interesante que no se haya encontrado ninguna *Archaea* formadora de endosporas, lo que sugiere que esta capacidad apareció en la evolución algún tiempo después de la divergencia de las dos principales líneas procarióticas hace miles de millones de años (*véanse* Sección 2.3 y Figura 2.7).

4.12 Minirrevisión

La endospora es una célula bacteriana muy resistente y diferenciada producida por algunas bacterias grampositivas. Las endosporas están fuertemente deshidratadas y contienen las macromoléculas esenciales junto a sustancias protectoras, como el dipicolinato cálcico y las pequeñas proteínas ácido-solubles, que están ausentes en células vegetativas.

Figura 4.43 Fases en la formación de la endospora. Las fases numeradas de 0 a VII han sido definidas a partir de estudios genéticos y análisis microscópicos de la esporulación en *Bacillus subtilis*.

Tabla 4.3 Diferencias entre células vegetativas y endosporas

Características	*Célula vegetativa*	*Endospora*
Estructura	Célula grampositiva típica; unas pocas gramnegativas	Córtex grueso, cutícula, exosporio
Apariencia microscópica	No refráctil	Refráctil
Contenido en calcio	Bajo	Elevado
Ácido dipicolínico	Ausente	Presente
Actividad enzimática	Elevada	Baja
Metabolismo (consumo de O_2)	Elevado	Bajo o ausente
Síntesis macromolecular	Presente	Ausente
mRNA	Presente	Bajo o ausente
DNA y ribosomas	Presente	Presente
Resistencia al calor	Baja	Elevada
Resistencia a la radiación	Baja	Elevada
Resistencia a compuestos químicos (por ejemplo, H_2O_2) y ácidos	Baja	Elevada
Tinción por colorantes	Teñible	Sólo se tiñe mediante métodos especiales
Acción de la lisozima	Sensible	Resistente
Contenido en agua	Elevado, 80-90%	Bajo, 10-25% en el centro
Pequeñas proteínas solubles en ácido (producto de los genes *ssp*)	Ausentes	Presente
pH citoplasmático	Alrededor de pH 7	pH 5.5-6.0 (en el núcleo)

www.medilibros.com

Las endosporas pueden estar indefinidamente en estado durmiente pero pueden germinar rápidamente cuando las condiciones lo permiten.

- ¿Qué es el ácido dipicolínico y dónde se encuentra?
- ¿Qué son las SASP y cuál es su función?
- ¿Qué ocurre cuando una endospora germina?

V MOVIMIENTO MICROBIANO

Terminaremos nuestra visión de la estructura y función en microorganismos examinando el movimiento celular. Muchas células pueden moverse por sí mismas, y la movilidad les permite desplazarse hasta alcanzar diferentes partes de su medio. En la lucha por la supervivencia, una distinta localización puede ofrecer a la célula nuevos recursos y oportunidades que suponen la diferencia entre la vida y la muerte.

Tratamos aquí los dos tipos más importantes de movimiento, la natación y el deslizamiento, para considerar luego cómo las células móviles son capaces de dirigirse a estímulos particulares o alejarse de ellos (fenómenos denominados *tactismos*), con ejemplos particulares de estas respuestas de comportamiento.

4.13 Flagelos y movilidad

Muchos procariotas son móviles mediante natación y esta propiedad se debe a una estructura llamada **flagelo** (Figura 4.44). Como veremos, el flagelo funciona por rotación, impulsando a las células a través de un medio líquido.

Flagelos de *Bacteria*

Los flagelos bacterianos son apéndices largos y finos que se encuentran libres por un extremo y unidos a la célula por el otro. Como son tan finos (15-20 nm de grosor dependiendo de las especies), un flagelo individual sólo es

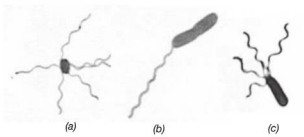


Figura 4.44 Flagelos bacterianos. Micrografías ópticas de procariotas con diferente disposición flagelar. Las células se tiñeron con la tinción de Leifson para flagelos. *(a)* Peritrica. *(b)* Polar. *(c)* Lofotrica.

visible por microscopía óptica después de una tinción especial que aumenta su diámetro (Figura 4.44). Sin embargo, los flagelos se observan fácilmente por microscopía electrónica (**Figura 4.45**).

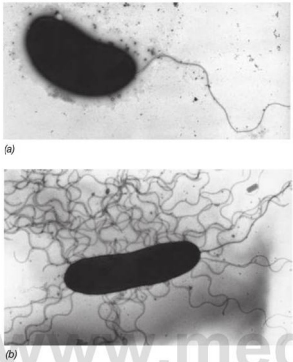


Figura 4.45 Flagelos bacterianos observados por tinción negativa en un microscopio electrónico de transmisión. *(a)* Flagelo polar aislado. *(b)* Flagelos perítricos. Ambas micrografías corresponden a células de la bacteria fotótrofa *Rhodospirillum centenum*, que normalmente presenta flagelación polar, pero que bajo ciertas condiciones de crecimiento forma células con flagelación peritrica. Ver también Figura 5.55b.

La disposición de los flagelos varía según las bacterias. En la **flagelación polar**, los flagelos se localizan en uno o ambos extremos de la célula (Figuras 4.44*b* y 4.45*a*). En ocasiones, de un extremo de la célula puede surgir un penacho de flagelos, disposición que se llama *flagelación lofotrica* (de *lofos*, pocos, y *tricos*, pelos) (Figura 4.44*c*). Este tipo de flagelación se puede observar en células vivas por microscopía de campo oscuro (**Figura 4.46*a***), donde los flagelos aparecen claros y unidos a las células sobre un fondo oscuro. En procariotas de gran tamaño se pueden ver también penachos de flagelos por microscopía de contraste de fases (Figura 4.46*b*). Cuando los penachos de flagelos aparecen en los dos polos la flagelación se llama *anfitrica*. Por otra parte, en la **flagelación peritrica** (Figuras 4.44*a* y 4.45*b*) los flagelos se distribuyen por varios lugares de la superficie celular (*peri*, alrededor). El tipo de flagelación, polar o peritrica, se utiliza a menudo como criterio de clasificación bacteriana.

Estructura flagelar

La forma de los flagelos no es recta sino helicoidal y muestra una distancia constante entre cada dos vueltas o curvaturas adyacentes que se denomina *longitud de onda* y es constante para cada organismo (Figuras 4.44-4.46). El filamento de los flagelos bacterianos se compone de subunidades de una proteína llamada **flagelina**. La forma y la longitud de onda de un flagelo están determinadas en parte por la estructura de la flagelina y también por la dirección de rotación del filamento. La secuencia de aminoácidos de la flagelina está muy conservada en las especies de bacterias, indicando que la movilidad flagelar tiene raíces evolutivas muy profundas en este dominio.

Un flagelo consta de varios componentes y se mueve por rotación. La base del flagelo presenta una estructura diferente a la del filamento (**Figura 4.47*a***). En la base del

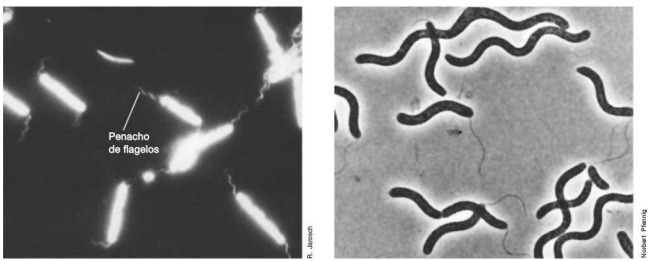


Figura 4.46 Flagelos bacterianos observados en células vivas. *(a)* Micrografía en campo oscuro de bacilos con un penacho de flagelos en cada polo. Cada célula tiene 2 µm de ancho. *(b)* Micrografía de contraste de fases de células de la bacteria fotótrofa roja *Rhodospirillum photometricum* con flagelos lofotricos en uno de sus polos. Cada célula mide cerca de 3 x 30 µm.

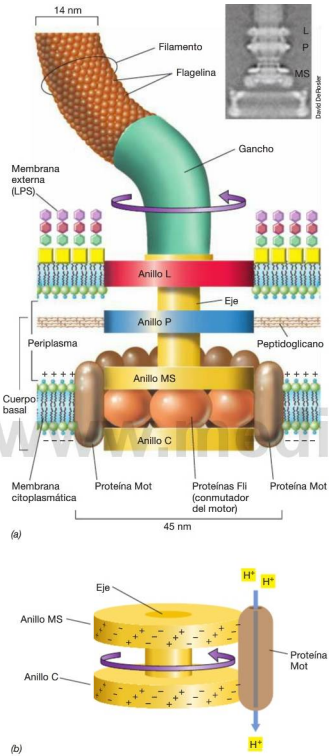


Figura 4.47 Estructura y función del flagelo en bacterias gramnegativas. *(a)* Estructura. El anillo L se inserta en la capa de LPS y el anillo P en el peptidoglicano. El anillo MS se ancla en la membrana citoplasmática y el anillo C en el citoplasma. En el filamento existe un estrecho canal a través del cual la flagelina alcanza su destino durante la síntesis del flagelo. Las proteínas Mot funcionan como motor flagelar y las proteínas Fli constituyen el conmutador del motor. El motor flagelar determina el giro del filamento para propulsar a la célula a través del medio. Inserto: micrografía electrónica de transmisión de un cuerpo basal flagelar de *Salmonella enterica* con los anillos marcados. *(b)* Función. Para explicar la rotación del flagelo se ha propuesto un modelo de «turbina de protones». El flujo de protones a través de la proteína Mot puede ejercer fuerza sobre las cargas presentes en los anillos C y MS, haciendo girar el rotor. Micrografía electrónica tomada de *J. Bacteriol. 183*:6404-6412 (2001).

filamento existe una región más ancha que se llama *gancho*, que consta de un tipo único de proteína y cuya función es unir el filamento a la parte motora del flagelo.

El *motor* del flagelo se ancla en la membrana citoplasmática y en la pared celular y está constituido por un eje central que atraviesa una serie de anillos. En bacterias gramnegativas existe un anillo externo que está anclado en la capa de lipopolisacárido (*anillo L*), otro en la capa de peptidoglicano de la pared celular (*anillo P*), y una tercera serie de anillos internos (llamados *anillos MS y C*) que se localizan en la membrana citoplasmática y en el citoplasma, respectivamente (Figura 4.47*a*). En bacterias grampositivas, que carecen de membrana externa, sólo se presenta el par de anillos internos. Alrededor del anillo más interno, y ancladas en la membrana citoplasmática existen una serie de proteínas llamadas *proteínas Mot*. Finalmente, otro conjunto de proteínas, llamadas *proteínas Fli*, funcionan como un conmutador del motor flagelar, invirtiendo la rotación del flagelo en respuesta a señales intracelulares.

www.medilibros.com

Movimiento flagelar

El flagelo es un pequeño motor rotatorio que funciona de la siguiente manera. Los motores rotatorios tienen típicamente dos componentes principales: el *rotor* y el *estator*. En el motor flagelar, el rotor está compuesto por el eje central y los anillos L, P, C y MS. En conjunto, estos elementos componen el cuerpo basal. El estator está representado por las proteínas Mot que rodean al cuerpo basal y que funcionan generando un par de torsión.

El movimiento rotatorio del flagelo lo proporciona el cuerpo basal. La energía requerida para la rotación procede de la fuerza motriz de protones (*véase* Sección 5.12). El flujo de protones a través de la membrana citoplasmática se realiza por el complejo Mot (Figura 4.47) que impulsa la rotación del flagelo. Se estima que por cada rotación del flagelo se translocan aproximadamente 1000 protones. Se desconoce en realidad cómo ocurre esto con detalle. Sin embargo, se ha propuesto un modelo de «turbina de protones» para explicar experimentos sobre la función flagelar según el cual los protones que fluyen por canales a través del estator ejercen fuerzas electrostáticas sobre cargas de las proteínas del rotor que están dispuestas helicoidalmente. Las atracciones entre las cargas positivas y negativas originan que el cuerpo basal rote a medida que los protones pasan por el estator (Figura 4.47*b*). **www.microbioloyplace.com Tutorial online 4.1: El flagelo procariótico.**

Flagelos de arqueas

La movilidad por flagelos está también muy extendida entre las arqueas y hay representantes de todos los grupos fisiológicos y filogenéticos más importantes que son capaces de este tipo de desplazamiento (*véase* Capítulo 17). Los flagelos de arqueas son llamativamente más finos que los bacterianos, con sólo 10-14 nm de grosor (**Figura 4.48**). Estos flagelos claramente rotan como en *Bacteria*, pero la estructura de su motor flagelar no se conoce todavía. Hay que recordar que los componentes de la pared celular que tienen un importante papel en el anclaje del flagelo en las bacterias gramnegativas (el peptidoglicano y en particular la membrana externa, Figura 4.47*a*) no existen en arqueas (Sección 4.8), y por tanto es de esperar que existan notables diferencias estructurales.

A diferencia de lo que suele ocurrir en *Bacteria*, donde sólo existe una única proteína en el filamento flagelar, en *Archaea* existen varias flagelinas diferentes. Además, otra diferencia es que en algunas arqueas las flagelinas son glicoproteínas. Por otra parte, la secuencia de aminoácidos de las flagelinas de arqueas no tiene ninguna relación con las de las flagelinas de bacterias, aunque comparten algunas similitudes moleculares con los pelos bacterianos de tipo IV que funcionan en otro tipo de movilidad (Secciones 4.9 y 4.14). Varios estudios sobre el movimiento de las células del halófilo extremo *Halobacterium* muestran que la velocidad del desplazamiento es tan solo equivalente a la décima parte del de células de *Escherichia coli*. Se desconoce si esto es una característica generalizada en arqueas, pero el pequeño diámetro de los filamentos presentes en este dominio en comparación con el flagelo bacteriano probablemente reduce el par de tensión y, en definitiva, la potencia del motor flagelar, de tal modo que las velocidades más lentas no resultan sorprendentes.

Figura 4.48 Flagelos de arqueas. Micrografía electrónica de transmisión de flagelos aislados de células del metanógeno *Methanococcus maripaludis*. Un flagelo aislado presenta un grosor de 12 nm.

Síntesis del flagelo

La síntesis del flagelo en bacterias y, por lo tanto, la movilidad, depende de varios genes. Los estudios realizados con *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* indican que hay más de 50 genes relacionados con el movimiento. Estos genes realizan varias funciones y codifican tanto las proteínas estructurales del aparato flagelar, como la salida de los componentes del flagelo a través de la membrana, y están implicados en la regulación de muchos procesos bioquímicos que tienen lugar durante la síntesis de nuevos flagelos.

Un flagelo individual no crece desde su base como lo hace un pelo de un animal, sino que crece por su punta. El anillo MS se sintetiza inicialmente y se inserta en la membrana. Luego se sintetizan otras proteínas de anclaje junto con el gancho antes de que se inicie la formación del filamento flagelar (**Figura 4.49**). Las moléculas de flagelina se sintetizan en el citoplasma y pasan a través de un canal de 3 nm situado en el interior del filamento hasta situarse por aposición en su extremo. En el extremo de un flagelo en crecimiento existe una proteína terminal (proteína «cap») que ayuda a las moléculas de proteína que difunden por el canal interior a distribuirse de forma organizada en el extremo terminal para formar la nueva porción de filamento (Figura 4,49). Para hacer un filamento se necesitan aproximadamente 20.000 moléculas de flagelina. El flagelo crece de modo continuo hasta que alcanza su longitud final. Los flagelos rotos son todavía capaces de rotar y pueden ser reparados por nuevas unidades de flagelina que llegan a través del canal del filamento para reemplazar las unidades proteicas que se han perdido.

Velocidad celular y movimiento

Los flagelos no rotan a una velocidad constante sino que pueden aumentar o disminuir su velocidad en función de la potencia de la fuerza motriz de protones. Pueden girar hasta a 300 revoluciones por segundo y desplazar a las células en medios líquidos a velocidades superiores a 60 veces la longitud de la célula por segundo. Aunque esto representa solamente 0,00017 kilómetros por hora, cuando se compara esta velocidad con la de organismos superiores en cuanto al número de longitudes de desplazamiento por segundo, la velocidad relativa es enorme. El animal más rápido, el guepardo, alcanza una velocidad máxima de 110 km/h, pero esto representa solamente un desplazamiento equivalente a 25 veces la longitud de su cuerpo por segundo. Por tanto, cuando se tiene en cuenta el tamaño, las células procarióticas se desplazan en realidad más rápidamente que los organismos de mayor tamaño.

Los movimientos de organismos con flagelación polar o lofotrica son diferentes a los de flagelación peritrica, y

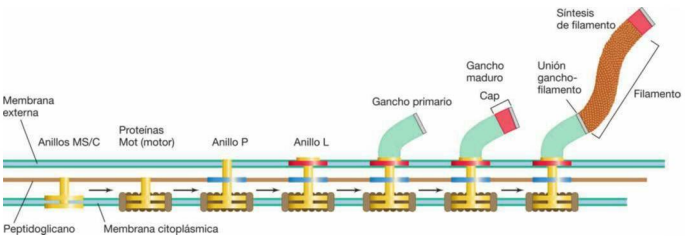


Figura 4.49 **Biosíntesis del flagelo.** La síntesis comienza con el ensamblaje de los anillos MS y C en la membrana citoplasmática seguida de la formación de los otros anillos, el gancho y la proteína terminal. A continuación, las moléculas de flagelina se desplazan hasta el gancho para hacer el filamento y se sitúan en su posición correcta mediante proteínas terminales (cap) que aseguran el desarrollo uniforme del filamento que está en crecimiento.

se pueden distinguir por observación microscópica (**Figura 4.50**). Los organismos con flagelación peritrica se mueven por lo general lentamente y en línea recta mientras que los que poseen flagelación polar se mueven más rápidamente y dan giros periódicos. Este diferente comportamiento entre ambos tipos y las diferencias en la reversibilidad del flagelo se ilustran en la Figura 4.50.

La velocidad del movimiento está determinada genéticamente porque especies móviles distintas, incluso cuando tienen el mismo tamaño, desarrollan velocidades máximas diferentes. Hay que tener en cuenta que, cuando se observa la capacidad de un organismo para moverse y se mide su velocidad máxima de desplazamiento, deben emplearse cultivos jóvenes, pues las células procedentes de cultivos viejos a menudo carecen de movimiento y pueden aparecer como inmóviles.

4.13 Minirrevisión

En la mayoría de los microorganismos la movilidad se debe a la presencia de flagelos. El flagelo de los procariotas es una estructura compleja compuesta por varias proteínas, muchas de las cuales se anclan en la pared celular y en la membrana citoplasmática. El filamento flagelar, que está formado por un solo tipo de proteína, gira a expensas de la fuerza motriz de protones que impulsa al motor flagelar.

- Compare los flagelos de bacterias y de arqueas.
- ¿Cómo logra el flagelo bacteriano que una célula se mueva hacia atrás? ¿Qué es la flagelina y dónde se encuentra?
- ¿En qué se diferencia la flagelación polar de la peritrica?

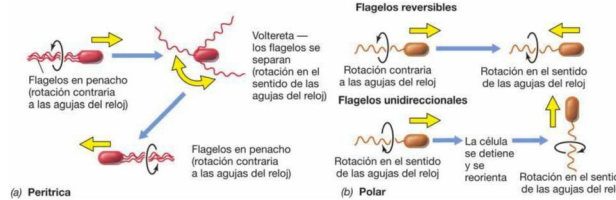


Figura 4.50 **Tipos de movimiento en procariotas con flagelación peritrica y polar.** *(a)* Peritrica. El movimiento hacia delante se debe a la rotación de los flagelos en sentido contrario a las agujas del reloj. La rotación inversa, en el sentido de las agujas del reloj, origina una voltereta, y luego, cuando vuelve a producirse una nueva rotación contraria a las agujas del reloj, la célula se desplaza en una nueva dirección. *(b)* Polar. Las células cambian de sentido invirtiendo la rotación flagelar o bien, en el caso de flagelos unidireccionales, mediante paradas periódicas que permiten la reorientación y luego el movimiento hacia delante. La flecha amarilla indica la dirección del desplazamiento de la célula.

4.14 Movilidad por deslizamiento

Algunos procariotas son móviles aunque carecen de flagelos. Estas bacterias se mueven sobre superficies sólidas mediante un mecanismo de *deslizamiento*. A diferencia de la movilidad debida a los flagelos, en la que las células pueden detenerse e iniciar una nueva dirección, la movilidad por deslizamiento es una forma más lenta de desplazamiento que normalmente ocurre de manera lineal siguiendo el eje mayor de la célula. Este tipo de movimiento está muy distribuido en el dominio *Bacteria* pero sólo se ha estudiado con detalle en unos cuantos grupos. Aunque la movilidad por deslizamiento es considerablemente más lenta (hasta 10 µm/segundo en algunas bacterias deslizantes) que la propulsada por flagelos, supone para la célula un medio que le permite explorar su hábitat.

Los procariotas que se mueven por deslizamiento suelen ser células filamentosas o bacilares (**Figura 4.51**) y el proceso requiere que exista contacto entre las células y una superficie sólida. La morfología típica de una colonia de bacterias deslizantes es peculiar porque las células se mueven y se desplazan del centro de la colonia (Figura 4.51*c*). Recuérdese que una colonia es una masa de células bacterianas que se originan por la división sucesiva de una célula inicial (*véase* Sección 5.3). Las bacterias deslizantes más conocidas son las cianobacterias (Figura 4.51*a*, *b*; *véase* Sección 16.7), algunas *Bacteria* gramnegativas como *Myxococcus* y otras mixobacterias (*véase* Sección 15.17), así como especies de *Cytophaga* y de *Flavobacterium* (Figura 4.51*c*,*d*; *véanse* Secciones 16.12 y 16.14).

Mecanismo de la movilidad por deslizamiento

Aunque no se han identificado por completo los mecanismos de deslizamiento, puede que exista más de un mecanismo para el proceso. Las células fotótrofas de las cianobacterias (Figura 4.51*a*,*b*) que se mueven por deslizamiento, secretan un polisacárido mucoso sobre la superficie externa de la célula, que contacta tanto con la superficie celular como con la superficie sólida por la que la célula se desplaza. A medida que este polisacárido se va adhiriendo a la superficie, la célula se desplaza por tracción. Esta hipótesis se apoya en la observación de que existen poros secretores de esta sustancia viscosa en la superficie de varias cianobacterias filamentosas. La bacteria deslizante no fotótrofa *Cytophaga* también se desplaza debido a una secreción mucosa, pero en este caso la célula va girando en torno a su eje mayor según se desplaza.

Como ya se mencionó al hablar de algunas células que exhiben una movilidad a tirones, tal tipo de desplazamiento se puede considerar como un deslizamiento mediante un mecanismo en el que la extensión y retracción repetida de los pelos de tipo IV impulsa a la célula a lo largo de una superficie (*véase* Sección 4.9). La mixobacteria *Myxococcus xanthus* presenta dos formas de movilidad por deslizamiento. Una forma está basada en los pelos de tipo IV y la otra es diferente, sin intervención de estas estructuras ni tampoco de secreción mucosa. En esta segunda forma, se forma un complejo proteico de adhesión en un polo de las células bacilares, que permanece en una posición fija de la superficie mientras la célula se mueve hacia delante.

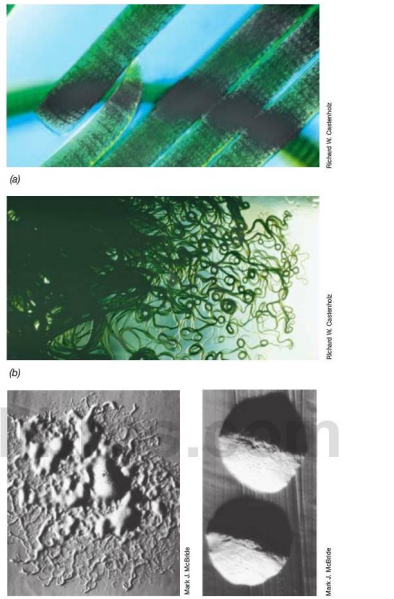


Figura 4.51 Bacterias deslizantes. *(a)* La bacteria filamentosa de gran tamaño *Oscillatoria princeps*. Una célula tiene unos 35 µm de anchura. *(b)* Filamentos de *O. princeps* deslizándose sobre una superficie de agar. *(c)* Colonia de la bacteria deslizante *Flavobacterium johnsoniae*; las masas de células se desplazan desde el centro de la colonia (la colonia mide unos 2,7 mm de diámetro) *(d)* Cepa mutante de *F. johnsoniae* mostrando la típica morfología colonial de una bacteria no deslizante (las colonias tienen 0,7-1 mm de diámetro). Ver también Figura 4.52.

Esto significa que el complejo de adhesión se mueve en dirección opuesta a la célula, probablemente impulsada por algún tipo de movilidad citoplasmática relacionada con el citoesqueleto de la célula (*véase* Sección 6.3). Estas dos formas de movilidad se pueden expresar simultáneamente y están de alguna manera coordinadas en respuesta a distintas señales ambientales (Sección 4.15).

En otra bacteria deslizante, *Flavobacterium johnsoniae* (Figura 4.51*c*), el mecanismo es distinto, pues las células no secretan sustancia mucosa y carecen de pelos de tipo IV. El mecanismo de deslizamiento probablemente se deba al movimiento de proteínas de la superficie de la célula. En *F. johnsoniae* existen proteínas específicas ancladas en la membrana citoplasmática y en la membrana externa que se piensa que impulsan a la célula hacia delante por un mecanismo semejante a una cadena continua (**Figura 4.52**). El movimiento de las proteínas específicas de la membrana citoplasmática puede deberse a la energía de la fuerza motriz de protones (*véase* Sección 5.12) que de algún modo se transmite también a las proteínas de la membrana externa implicadas en el proceso. Se interpreta que el movimiento de estas proteínas sobre la superficie sólida mueve la célula hacia delante (Figura 4.52).

Como otros modos de movilidad, el deslizamiento tiene una importante significación ecológica, pues permite a las células explotar nuevos recursos e interaccionar con otras células. A este respecto, es interesante destacar que algunas mixobacterias, como *Myxococcus xanthus*, tienen un modo de vida muy social y cooperativo. En estas bacterias, la movilidad por deslizamiento puede jugar un papel esencial para establecer las relaciones célula-a-célula que son necesarias para completar un ciclo de vida muy elaborado (*véase* Sección 15.17).

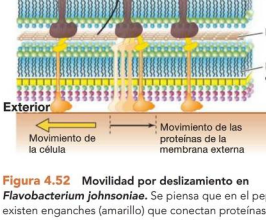


Figura 4.52 Movilidad por deslizamiento en *Flavobacterium johnsoniae*. Se piensa que en el peptidoglicano existen enganches (amarillo) que conectan proteínas del citoplasma (marrón) con proteínas de la membrana externa (naranja) y las impulsan a lo largo de una superficie sólida. Adviértase que los sentidos de movimiento de las proteínas de la membrana externa y el de la propia célula son opuestos.

4.14 Minirrevisión

Las bacterias que se desplazan por deslizamiento no emplean flagelos sino que se mueven sobre superficies sólidas por varios mecanismos posibles.

- ¿Qué mecanismos y requisitos diferencian la movilidad por flagelos de la movilidad por deslizamiento?
- Compare el mecanismo de deslizamiento de una cianobacteria filamentosa con el de *Flavobacterium*.

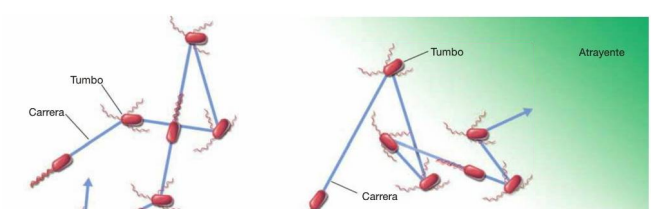
4.15 El movimiento celular como respuesta sensorial: tactismos microbianos

En la naturaleza los procariotas se encuentran a menudo en presencia de gradientes de agentes físicos y químicos y han evolucionado para responder de modo positivo o negativo a estas variables, dirigiendo el movimiento hacia la molécula que actúa como señal o en sentido contrario. Estos movimientos dirigidos se denominan *tactismos*. La **quimiotaxis** es la respuesta a agentes químicos y la **fototaxis** es la respuesta a la luz; ambas respuestas son ejemplos bien conocidos de tactismos. Aquí estudiaremos las tactismos de un modo general. En la Sección 9.7 examinaremos el mecanismo de quimiotaxis y su regulación en *Escherichia coli*, que es un modelo de estudio para los tactismos de los procariotas.

La quimiotaxis se ha estudiado con detalle en bacterias flageladas y se conoce bastante a nivel genético acerca de cómo se transmite el estado del medio ambiental externo al conjunto flagelar. Nuestra exposición aquí tratará solamente de bacterias flageladas, aunque algunas bacterias deslizantes (Sección 4.14) son también quimiotácticas y hay cianobacterias filamentosas que son fototácticas (Figura 4.51*b*). Además, aunque pertenecen a un dominio evolutivo distinto, muchas especies de *Archaea* son también quimiotácticas, y muchas proteínas que controlan la quimiotaxis en *Bacteria* están también presentes en *Archaea*.

Quimiotaxis

Gran parte de la investigación realizada sobre quimiotaxis se ha llevado a cabo con la bacteria *E. coli*, que tiene flagelación perítrica. Para comprender cómo afecta la quimiotaxis a *E. coli* debemos centrarnos en el comportamiento de una célula enfrentada a un gradiente químico de una sustancia (**Figura 4.53**). En ausencia de un gradiente, las células de *E. coli* se mueven al azar y realizan *carreras* mediante las cuales se desplazan hacia delante de una forma suave, y también *tumbos*, mediante los cuales la célula se para y cambia de dirección girando



(a) **Sin atrayente: movimiento al azar.** *(b)* **En presencia de atrayente: movimiento hacia él.**

Figura 4.53 **Quimiotaxis en una bacteria con flagelación perítrica como *Escherichia coli*.** *(a)* En ausencia de una sustancia atrayente, la célula se desplaza al azar mediante carreras y cambia de dirección mediante tumbos. *(b)* En presencia de un atrayente, las carreras se favorecen y la célula se mueve en la dirección del gradiente positivo de la sustancia atrayente.

al azar (Figura 4.53*a*). Durante el movimiento hacia delante en una carrera, el motor flagelar rota en el sentido contrario a las agujas del reloj. En cambio, cuando los flagelos giran en el sentido de las agujas del reloj, el movimiento hacia delante cesa y tiene lugar un tumbo (Figura 4.50).

Tras un tumbo, la dirección de la siguiente carrera ocurre al azar. De este modo, mediante sucesivas carreras y tumbos, la célula se desplaza aleatoriamente por su entorno sin ir a ninguna parte concreta. Sin embargo, la presencia de un gradiente de una sustancia atrayente cambia este comportamiento de movimiento sin sentido. A medida que el organismo capta concentraciones más altas de la sustancia quimiotáctica, las carreras son más frecuentes y los tumbos más escasos. El resultado neto de este comportamiento es que el organismo se desplaza por el gradiente hacia concentraciones más elevadas de la sustancia atrayente (Figura 4.53*b*). Si lo que el organismo detecta es una sustancia repelente opera el mismo mecanismo, pero en este caso es la disminución de la concentración del repelente (en vez del aumento de la sustancia atrayente) lo que estimula la frecuencia de las carreras y favorece su alejamiento.

Las células de los procariotas son demasiado pequeñas como para sentir gradientes de concentración a lo largo de una célula aislada. En vez de eso, mientras se mueven, deben comparar el estado físico o químico de su entorno con el que existía unos segundos antes. Por tanto, las bacterias son capaces de responder al gradiente *temporal*, más que al *espacial*, de las moléculas señalizadoras. Esta información se logra mediante una elaborada cascada de proteínas que afectan a la dirección de rotación del motor flagelar. Las sustancias atrayentes y repelentes son detectadas por una serie de proteínas de membrana llamadas quimiorreceptores. Estas proteínas captan las sustancias y ponen en marcha el proceso de transducción sensorial hasta el flagelo (*véase* Sección 9.7). En cierto modo, la quimiotaxis podría considerarse como un sistema de respuesta sensorial análogo al de las respuestas del sistema nervioso de los animales.

www.medicos.com

Quimiotaxis en bacterias con flagelación polar

La quimiotaxis en células con flagelación polar muestra semejanzas y diferencias respecto al fenómeno en células con flagelos perítricos como *E. coli*. Muchas bacterias con flagelación polar, como especies de *Pseudomonas*, pueden invertir la dirección de rotación de sus flagelos e invertir así el sentido del movimiento (Figura 4.50*b*). Sin embargo, otras con flagelación también polar, como la bacteria fotótrofa *Rhodobacter sphaeroides*, poseen flagelos que giran solamente en el sentido de las agujas del reloj. Cabe preguntarse si tales células pueden cambiar su trayectoria y si son quimiotácticas.

La respuesta es afirmativa. *R. sphaeroides* posee un único flagelo con inserción subpolar que detiene periódicamente su rotación y durante ese breve momento la célula se reorienta al azar por movimiento browniano. Cuando el flagelo comienza a girar de nuevo, la célula se desplaza en una nueva dirección. De hecho, las células de *R. sphaeroides* son muy quimiotácticas frente a diversos compuestos carbonados y también muestran tactismos en respuesta al oxígeno y a la luz. Aunque *R. sphaeroides* no puede invertir el sentido de giro de los flagelos como hace *E. coli*, su quimiotaxis es en cierto modo similar. Cuando el gradiente de una sustancia atrayente aumenta, *R. sphaeroides* tiende a mantener sus flagelos rotando; pero cuando el gradiente de una sustancia atrayente dis-

minuye o aumenta el gradiente de una repelente, las células se paran y reorientan su movimiento. Mediante reorientaciones aleatorias, una célula puede finalmente seguir una trayectoria hacia la sustancia atrayente y mantener la carrera hasta que sus quimiorreceptores estén saturados o comiencen a sentir que desciende el nivel de concentración de la sustancia atrayente.

Medida de la quimiotaxis

La demostración de la quimiotaxis bacteriana puede llevarse a cabo sumergiendo un pequeño capilar de vidrio, que contenga una sustancia quimiotáctica, en una suspensión de bacterias móviles que no contenga dicha sustancia. A partir de la punta del capilar se establece un gradiente en el medio, de tal modo que la concentración disminuye gradualmente a medida que se aumenta la distancia a la punta del capilar (**Figura 4.54a**). Cuando el capilar contiene una sustancia atrayente, las bacterias se moverán hacia el capilar formando un enjambre alrededor del extremo abierto y, posteriormente, muchas de las bacterias móviles se introducirán en el capilar. Algunas bacterias se desplazarían dentro del capilar incluso si contuviera una solución de la misma composición que el medio, debido a movimientos al azar (Figura 4.54*b*). Sin embargo, si se trata de un compuesto atrayente, la concentración de bacterias dentro del capilar será varias veces mayor que la de fuera. Cuando se extrae el capilar después de un cierto período de tiempo, se cuentan las células y se compara el resultado con el de un control, se pueden identificar fácilmente sustancias atrayentes y repelentes (Figura 4.54*e*).

Si el capilar que se inserta contiene una sustancia repelente, la concentración de bacterias en el capilar será considerablemente menor que la del control (Figura 4.54*d*). En este caso, las células percíben un aumento en la concentración del repelente y los quimiorreceptores correspondientes influyen sobre el motor flagelar para que la rotación permita el alejamiento del repelente (Figura 4.54*d*). Utilizando el método del capilar, es posible analizar si las sustancias son atractivas o repelentes para una bacteria determinada.

La quimiotaxis también puede estudiarse microscópicamente. Utilizando una cámara de vídeo que capte la posición de las bacterias a distintos tiempos y marque la trayectoria de cada célula, es posible visualizar este fenómeno (Figura 4.54*f*). Este método ha sido adaptado a estudios de bacterias quimiotácticas en medios naturales. Se piensa que en la naturaleza los principales agentes quimiotácticos para las bacterias son los nutrientes secretados por células microbianas de mayor tamaño o por otros microorganismos vivos o muertos (Figura 4.54*f*).

Fototaxis

Muchos microorganismos fotótrofos se mueven hacia la luz en un proceso que se llama *fototaxis*. La fototaxis

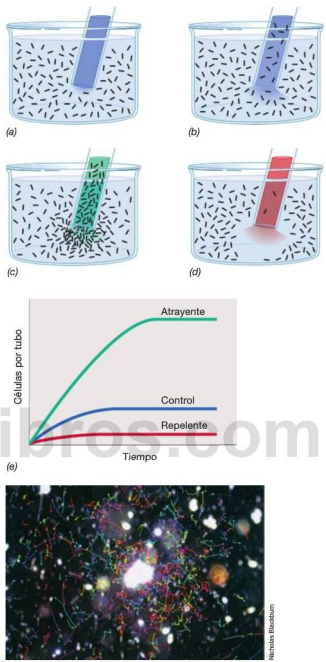
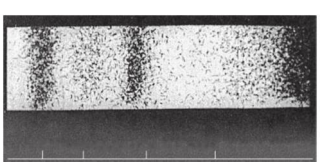


Figura 4.54 Medida de la quimiotaxis mediante el ensayo en tubo capilar. *(a)* Inserción de un capilar en la suspensión bacteriana. Cuando se inserta el capilar comienza la formación del gradiente. *(b)* Capilar control que contiene una solución salina que ni atrae ni repele. *(c)* Acumulación de bacterias en el capilar que contiene una sustancia atrayente. *(d)* Repulsión de bacterias por una sustancia repelente. *(e)* Cinética de la acumulación de bacterias en capilares con varias sustancias. *(f)* Huellas de bacterias móviles en agua marina al desplazarse por las proximidades de una célula de un alga (mancha blanca en el centro) que fueron detectadas mediante un sistema de videocámara acoplado a un microscopio. Adviértase que las células responden positivamente al oxígeno (aerotaxis) que el alga produce por fotosíntesis. La velocidad media de las células fue de 25 µm/segundo. El alga tiene unos 60 µm de diámetro.

www.libros.com



(a)

(b)

Figura 4.55 Fototaxis en bacterias fotótrofas. *(a)* Acumulación escotofóbica de la bacteria fototrofa roja *Thiospirillum jenense* a longitudes de onda de luz en que sus pigmentos absorben la energía luminosa. Un espectro de luz se proyectó sobre un porta con una suspensión densa de bacterias y, al cabo de un tiempo, se fotografió la acumulación selectiva de las células. Las longitudes de onda a las que se producen los acúmulos coinciden con aquellas a las que absorbe luz la bacterioclorofila a (comparar con Figura 20.3b). *(b)* Fototaxis de una colonia completa de la bacteria roja fotótrofa *Rhodospirillum centenum*. Estas células, que son intensamente fototácticas, se desplazan de modo simultáneo hacia la fuente luminosa colocada arriba. Véase en la Figura 4.45 una micrografía electrónica de células de *R. centenum*.

tiene la ventaja de permitir que un microorganismo fotótrofo se oriente adecuadamente para realizar una fotosíntesis eficaz. Esto puede verse con facilidad si se hace incidir un espectro de luz a través de una preparación microscópica sobre un porta donde existen bacterias fotótrofas móviles. Las bacterias se acumulan en aquellas longitudes de onda en las que sus pigmentos fotosintéticos son capaces de captar la energía de la luz (**Figura 4.55*a***; los pigmentos fotosintéticos se estudian en las Secciones 20.1-20.5).

En las bacterias fotótrofas existen dos tactismos distintos relacionados con la luz. Uno, denominado *escotofobotaxis*, sólo puede observarse microscópicamente y se produce cuando una bacteria fotótrofa se desplaza por azar fuera del campo de iluminación del microscopio hacia la oscuridad. La entrada en la zona de oscuridad afecta al estado energético de la célula y esto determina que realice un tumbo, invierta la dirección y se desplace de nuevo en una carrera, volviendo a entrar otra vez en la luz.

La verdadera fototaxis difiere de la escotofobotaxis y es análoga a la quimiotaxis excepto en que el atrayente es en este caso la luz en vez de una sustancia química. En algunas especies, como el fotótrofo *Rhodospirillum centenum* (Figura 4.45), que es muy móvil, las colonias enteras muestran fototaxis y todas las células se desplazan al unísono hacia la luz (Figura 4.55*b*).

Algunos componentes del sistema de regulación que controla la quimiotaxis participan también del control de la fototaxis. Esta evidencia deriva de estudios realizados con mutantes de bacterias fotótrofas deficientes en la fototaxis, que muestran también deficiencias en la quimiotaxis. El sensor inicial en la respuesta fototáctica es un *fotorreceptor*, una proteína análoga al quimiorreceptor pero que detecta un gradiente de luz en vez de un gradiente químico. Dicho fotorreceptor establece luego contactos con las mismas proteínas citoplasmáticas que controlan la rotación flagelar en la quimiotaxis, manteniendo a la célula en un movimiento de carrera si se desplaza hacia una intensidad de luz creciente. Por tanto, aunque el estímulo sea diferente en la fototaxis y en la quimiotaxis, se utiliza la misma maquinaria molecular en el citoplasma para procesar ambas señales. En la Sección 9.7 presentamos esta maquinaria citoplasmática con detalle.

Otros tactismos

Entre los procariotas con movimiento se conocen otros tactismos, como el acercamiento o alejamiento al oxígeno (*aerotaxis*, *véase* Figura 4.54*f*), o la aproximación o huida de condiciones de elevada fuerza iónica (*osmotaxis*). Como la quimiotaxis y la fototaxis, éstas son formas de comportamiento que obedecen a un mecanismo molecular común que controla cada una de las respuestas. Las células muestrean periódicamente su microambiente para detectar compuestos químicos, luz, oxígeno, sal u otras sustancias, y procesan después el resultado a través de un cadena de proteínas que controla la dirección de la rotación del flagelo. En algunas cianobacterias deslizantes (Figura 4.51*a*,*b*) ocurre un tactismo poco común, la *hidrotaxis*, que permite a las células que están en medios desecados, como suelos, desplazarse por un gradiente de hidratación creciente.

Tras el tratamiento dedicado a las taxias microbianas se llega a la conclusión de que los procariotas móviles no se desplazan por sus medios de modo aleatorio, sino que están finamente ajustados al estado físico y químico de su hábitat. Los análisis regulares y periódicos que reali-

www.medi

zan de su medio son probablemente esenciales para entender el éxito ecológico de los procariotas. Por su capacidad de respuesta a varios estímulos, los procariotas tienen la posibilidad de competir con éxito para adquirir recursos y evitar los efectos perjudiciales de sustancias que pueden dañarlos o eliminarlos.

4.15 Minirrevisión

Las bacterias móviles pueden responder a gradientes físicos o químicos en su medio. En los procariotas flagelados el movimiento incluye la aproximación o el alejamiento del estímulo por medio del control de carreras y tumbos. Éstos últimos dependen del sentido de rotación de los flagelos, que a su vez está controlado por una serie de proteínas sensoriales de respuesta.

- Defina el término quimiotaxis. ¿En qué se diferencian la quimiotaxis y la aerotaxis?
- ¿Cuál es la causa de una carrera y de un tumbo?
- ¿En qué se diferencian la escotofobotaxis y la fototaxis?

Glosario de términos

Ácido dipicolínico: sustancia específica de las endosporas que confiere termorresistencia a estas estructuras.

Ácido teicoico: polialcohol fosforilado de la pared celular de algunas especies de *Bacteria* grampositivas.

Capa S: capa superficial más externa de la célula formada por proteínas y glicoproteínas que aparece en algunas *Bacteria* y *Archaea*.

Cápsula: capa externa polisacarídica o proteica, normalmente viscosa, de algunas bacterias.

Cuerpo basal: la porción motora del flagelo bacteriano que está insertada en la membrana citoplasmática y en la pared celular.

Endospora: estructura diferenciada de algunas *Bacteria* grampositivas, muy resistente al calor y con cubierta gruesa.

Esterol: molécula hidrofóbica de naturaleza heterocíclica que refuerza la membrana citoplasmática de las células eucarióticas y de unas pocas procarióticas.

Flagelación peritrica: flagelos localizados alrededor de la superficie celular.

Flagelación polar: flagelos localizados en uno o ambos polos de la célula.

Flagelo: apéndice celular largo y fino capaz de girar y responsable de la movilidad en muchos procariotas.

Fototaxis: movimiento de un organismos hacia la luz.

Gramnegativa: célula procariótica cuya pared celular contiene pequeñas cantidades de peptidoglicano y una membrana externa compuesta por lipopolisacárido, lipoproteína y otras macromoléculas complejas.

Grampositiva: célula procariótica cuya pared celular contiene fundamentalmente peptidoglicano y carece de la membrana externa de las células gramnegativas.

Lipopolisacárido (LPS): complejo de lípido y polisacárido junto con proteína que forma la principal región de la membrana externa de las bacterias gramnegativas.

Magnetosoma: partícula de magnetita (Fe_3O_4) rodeada por una membrana no unitaria en las *Bacteria* magnetotácticas.

Membrana citoplasmática: barrera de permeabilidad celular que separa el citoplasma del medio.

Membrana externa: unidad de membrana que contiene fosfolípidos y polisacáridos y que se encuentra por fuera de la capa de peptidoglicano en *Bacteria* gramnegativas.

Morfología: la forma de una célula, coco, bacilo, espirilo, etc.

Pelos (Pili): estructuras finas y filamentosas que se extienden desde el cuerpo celular y que, dependiendo del tipo, facilitan la adhesión, el intercambio genético o el movimiento.

Peptidoglicano: polisacárido formado por unidades alternantes de N-acetilglucosamina y ácido N-acetilmurámico que se dispone en capas adyacentes unidas por pequeños péptidos.

Periplasma: región gelatinosa entre la capa externa de la membrana citoplasmática y la superficie interna de la capa de lipopolisacárido de *Bacteria* gramnegativas.

Poli-β-hidroxibutirato (PHB): material de reserva presente en procariotas compuesto por un polímero de β-hidroxibutirato o de otro tipo de β-alcanoato.

Protoplasto: célula desprovista de pared celular y osmóticamente estabilizada.

Quimiotaxis: movimiento dirigido de un organismo hacia (quimiotaxis positiva) o en contra (quimiotaxis negativa) de un gradiente químico.

Sistema de transporte ABC: sistema de transporte de membrana que comprende tres proteínas, una de las cuales hidroliza ATP, que introduce nutrientes específicos en la célula.

Sistema de transporte simple: transportador que consiste solamente en una proteína transmembranal y que por lo general depende de la energía de la fuerza motriz de protones.

Tinción de Gram: tinción diferencial que tiñe las células de color morado (células grampositivas) o de color rosa (células gramnegativas).

Translocación de grupo: mecanismo de transporte dependiente de energía, en el cual la molécula transportada es modificada químicamente durante el transporte.

Vesículas de gas: estructuras citoplasmáticas llenas de gas y limitadas por proteínas que permiten la flotabilidad de las células.

www.medicalbook.com

Preguntas de repaso

1. ¿Cuales son las principales morfologías de los procariotas? Para cada morfología que cite, dibuje algunas células (Sección 4.1).
2. ¿Qué tamaños máximos y mínimos se encuentran entre los procariotas? ¿Por qué probablemente conocemos con mayor exactitud el límite inferior de tamaño que el superior? ¿Cuáles son las dimensiones de la bacteria *Escherichia coli* (Sección 4.2)?
3. Describa en una sola frase la estructura de la membrana citoplasmática (Sección 4.3).
4. Señale una diferencia química importante entre las membranas de bacterias y de arqueas (Sección 4.3).
5. Explique en una sola frase porqué las moléculas ionizadas no atraviesan con facilidad la membrana citoplasmática de una célula. ¿Cómo pueden atravesarla (Secciones 4.4 y 4.5)?
6. Las células de *Escherichia coli* incorporan la lactosa por medio de la permeasa Lac, la glucosa por el sistema de la fosfotransferasa y la maltosa a través de un transportador de tipo ABC. Para cada uno de estos azúcares describa: (1) los componentes de su sistema de transporte; y (2) la fuente de energía que sustenta el proceso del transporte (Sección 4.5).
7. ¿Por qué se denomina peptidoglicano a la capa rígida de la pared celular bacteriana? ¿Cuáles son las razones químicas que explican la rigidez que confiere el peptidoglicano a la pared celular (Sección 4.6)?
8. ¿Por qué la sacarosa es capaz de estabilizar las células bacterianas sin que se lisen después de tratarlas con lisozima (Sección 4.6)?
9. Enumere varias funciones de la membrana externa de la pared en bacterias gramnegativas. ¿Cual es la composición química de la membrana externa (Sección 4.7)?
10. ¿Qué polisacárido de la pared celular es común en bacterias y está ausente en arqueas? ¿Cual es la singularidad de las capas S en comparación con otras paredes celulares de procariotas? ¿Qué tipos de paredes celulares se presentan en arqueas (Sección 4.8)?
11. ¿Qué funciones llevan a cabo en los procariotas los polisacáridos que no forman parte de la pared celular (Sección 4.9)?
12. ¿Qué tipos de inclusiones citoplasmáticas forman los procariotas? ¿En qué difieren en cuanto a composición y papel metabólico una inclusión de poli-β-hidroxibutirato y un magnetosoma (Sección 4.10)?
13. ¿Cuál es la función de las vesículas de gas? ¿Cómo es la estructura que permite retener gas en su interior (Sección 14.11)?
14. Indique brevemente las diferencias entre una célula vegetativa y una endospora en cuanto a estructura, composición química y capacidad para resistir condiciones ambientales extremas (Sección 4.12).
15. Defina los siguientes términos: endospora madura, célula vegetativa y germinación (Sección 4.12).
16. Describa la estructura y función de un flagelo bacteriano. ¿Cuál es la fuente de energía para el movimiento flagelar (Sección 4.13)? ¿Cuáles son las diferencias en tamaño y composición entre los flagelos de bacterias y los de arqueas?
17. ¿En qué se diferencia la movilidad de *Flavobacterium* de la que presenta *Escherichia coli* con respecto al tipo de mecanismo y al requerimiento energético (Secciones 4.13 y 4.14)?
18. Explique sucintamente el modo por el que una bacteria móvil percibe la dirección en que se encuentra una sustancia atrayente y se mueve hacia ella (Sección 4.15).

Ejercicios prácticos

1. Calcule la relación superficie/volumen de una célula esférica de 15 µm de diámetro y de otra de 2 µm de diámetro. ¿Qué consecuencias tienen estas diferencias en dicha relación para la función celular?
2. Suponga que se le proporcionan dos cultivos, uno de una especie de bacterias gramnegativa y otro de una especie de arqueas. Sin recurrir al análisis filogenético, exponga al menos cuatro formas de diferenciar cada cultivo.
3. Calcule el tiempo que tardaría una célula de *Escherichia coli* en llegar hasta un tubo capilar a 3 cm de distancia conteniendo un atrayente y moviéndose a su máxima velocidad (60 longitudes celulares por segundo).
4. Suponga que se le proporcionan dos cultivos de bacilos, uno grampositivo y otro gramnegativo.¿Cómo podría diferenciarlos usando (a) microscopía óptica (b) microscopía electrónica (c) análisis químico de las paredes celulares y (d) análisis filogenético?

Vadillo.com

5

Nutrición, cultivo y metabolismo microbiano

I NUTRICIÓN Y CULTIVO DE MICROORGANISMOS 118
5.1 Nutrición microbiana 118
5.2 Medios de cultivo 121
5.3 Cultivo de microorganismos en el laboratorio 123

II ENERGÉTICA Y ENZIMAS 124
5.4 Bioenergética 125
5.5 Catálisis y enzimas 126

III OXIDACIÓN-REDUCCIÓN Y COMPUESTOS DE ALTA ENERGÍA 129
5.6 Oxidación y reducción: donadores y aceptores de electrones 129
5.7 El NAD como un transportador redox de electrones 131
5.8 Compuestos de alta energía y almacenamiento de energía 132

IV BASES DEL CATABOLISMO 133
5.9 Conservación de la energía 134
5.10 La glucólisis como ejemplo de fermentación 134
5.11 La respiración y los sistemas de membrana transportadores de electrones 137
5.12 Respiración y fuerza motriz de protones 140
5.13 Flujo del carbono en la respiración: el ciclo del ácido cítrico 142
5.14 Diversidad catabólica 144

V BASES DEL ANABOLISMO 146
5.15 Biosíntesis de azúcares y polisacáridos 146
5.16 Biosíntesis de aminoácidos y nucleótidos 147
5.17 Biosíntesis de ácidos grasos y lípidos 148
5.18 Regulación de la actividad de enzimas biosintéticas 149

Para estudiar los microorganismos es necesario cultivarlos en el laboratorio y para comprender cómo viven las células microbianas en sus hábitats naturales se precisa conocer su nutrición y su bioenergética.

www.medilibros.com

I NUTRICIÓN Y CULTIVO DE MICROORGANISMOS

Antes de que una célula se divida, deben ocurrir muchas reacciones químicas en la misma y que las moléculas se organicen para formar estructuras específicas. Estas reacciones se denominan colectivamente **metabolismo**. Las reacciones metabólicas o bien *liberan energía*, y se llaman **reacciones catabólicas (catabolismo)**, o bien *consumen energía*, y se llaman **reacciones anabólicas (anabolismo)**. En las células ocurren varios tipos de reacciones catabólicas y anabólicas, y en éste y otros capítulos examinaremos algunas de las más importantes. Sin embargo, antes de considerar algunas reacciones clave del metabolismo, expondremos cómo se cultivan los microorganismos en el laboratorio y los nutrientes que necesitan para crecer. Por supuesto, la mayor parte de lo que se conoce acerca de las actividades metabólicas de los microorganismos deriva del estudio de cultivos en el laboratorio. Nos centraremos aquí en el estudio de los microorganismos quimioorganótrofos, también llamados **heterótrofos**, es decir, de aquellos microorganismos que utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono y energía (*véase* Sección 2.8). Posteriormente en este capítulo consideraremos otros mecanismos que generan energía distintos de la quimioorganotrofía, como la quimiolitotrofía y la fototrofía.

5.1 Nutrición microbiana

Recordemos lo dicho en el Capítulo 3 acerca de que las células están compuestas fundamentalmente por macromoléculas y agua, y de que las macromoléculas se componen de unidades más pequeñas denominadas monómeros. La nutrición microbiana es un aspecto de la fisiología microbiana que trata sobre los monómeros (o ingredientes precursores de los monómeros) que la célula necesita para crecer. Estos compuestos químicos son los *nutrientes*.

Organismos diferentes necesitan tipos diferentes de nutrientes y no todos se necesitan en la misma cantidad. Algunos, llamados *macronutrientes*, se requieren en grandes cantidades, mientras que otros, llamados *micronutrientes*, se necesitan en menores cantidades, y a veces sólo como trazas. Todos los nutrientes se originan a partir de elementos químicos, pero solamente unos cuantos de estos elementos son los que predominan en biología (**Figura 5.1**). Aunque las células constan fundamentalmente de H, C, O, N, P y S, los microorganismos son capaces de metabolizar de algún modo al menos 50 elementos. Comenzaremos considerando los macronutrientes más importantes, el *carbono* y el *nitrógeno* (Figura 5.1 y **Tabla 5.1**).

Carbono y nitrógeno

Todas las células necesitan carbono y la mayoría de los procariotas requieren compuestos orgánicos como fuente de carbono. En términos de peso seco, una célula típica contiene aproximadamente 50% de carbono. Las bacterias pueden asimilar varios compuestos orgánicos carbonados y usarlos para hacer nuevo material celular. Los aminoácidos, los ácidos grasos, los ácidos orgánicos, los azúcares, las bases nitrogenadas, los compuestos aromáticos y un sinfín de compuestos orgánicos de otro tipo pueden ser usados por una u otra bacteria. Por el contrario, algunos procariotas son *autótrofos*, es decir, capaces de construir todas sus estructuras orgánicas a partir de dióxido de carbono (CO_2) con la energía obtenida de la luz o de compuestos inorgánicos.

Después del carbono, el nitrógeno es el siguiente elemento más abundante en la célula. En una bacteria típica

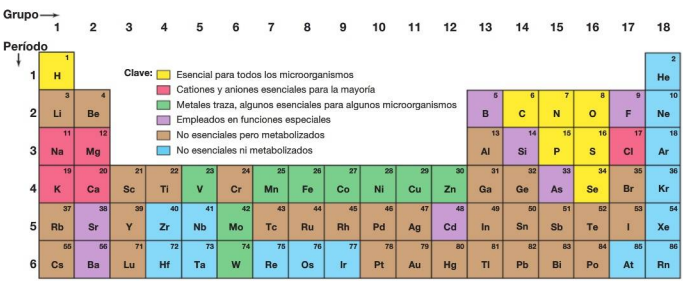


Figura 5.1 Tabla periódica de los elementos microbianos. Excepto el uranio, que puede ser metabolizado por algunos procariotas, ningún elemento del período 7 o superior resulta metabolizado. El número atómico de cada elemento se muestra en la esquina superior derecha de cada recuadro.

Tabla 5.1 Macronutrientes

Elemento	*Forma normal del nutriente en el ambiente*
Carbono (C)	CO_2, compuestos orgánicos
Hidrógeno (H)	H_2O, compuestos orgánicos
Oxígeno (O)	H_2O, O_2, compuestos orgánicos
Nitrógeno (N)	NH_3, NO_3^-, compuestos orgánicos nitrogenados
Fósforo (P)	PO_4^{3-}
Azufre (S)	H_2S, SO_4^{2-}, compuestos orgánicos con S, sulfuros metálicos (FeS, CuS, ZnS, NiS, etc.)
Potasio (K)	K^+ en solución, o como sales de K
Magnesio (Mg)	Mg^{2+} en solución, o como sales de Mg
Sodio (Na)	Na^+ en solución, o como NaCl y otras sales de Na
Calcio (Ca)	Ca^{2+} en solución, o como $CaSO_4$ y otras sales de Ca
Hierro (Fe)	Fe^{2+} o Fe^{3+} en solución, o como FeS, $Fe(OH)_3$ y otras sales de Fe

alrededor del 12% de su peso seco es nitrógeno, que es un elemento importante en las proteínas, en los ácidos nucleicos y en otros constituyentes celulares. En la naturaleza, el nitrógeno se presenta en forma inorgánica y orgánica (Tabla 5.1). Sin embargo, la mayor parte del nitrógeno natural disponible está en forma inorgánica, como amoníaco (NH_3), nitratos (NO_3^-) o N_2. La mayor parte de las bacterias son capaces de usar amoníaco como única fuente de nitrógeno, y otras muchas pueden usar nitratos. El nitrógeno gaseoso (N_2) puede ser usado como fuente de nitrógeno por algunas bacterias, las *bacterias fijadoras de nitrógeno*, que estudiaremos más adelante.

Otros macronutrientes: P, S, K, Mg, Ca, Na

Otros elementos esenciales se requieren en menores cantidades que el C y el N. El fósforo se presenta en la naturaleza en forma de fosfatos orgánicos e inorgánicos y la célula lo necesita fundamentalmente para la síntesis de los ácidos nucleicos y los fosofolípidos. El azufre se requiere porque es un componente estructural de los aminoácidos cisteína y metionina (ver Sección 3.6) y porque se presenta en ciertas vitaminas, como la tiamina, la biotina y el ácido lipoico, así como en el coenzima A. La mayoría del azufre celular procede de fuentes inorgánicas, ya sean sulfatos (SO_4^{2-}) o sulfuros (HS^-) (Tabla 5.1).

El potasio es necesario en todos los organismos. Una gran diversidad de enzimas, incluyendo varias implicadas en la síntesis de proteínas, lo requieren específicamente. El magnesio funciona como estabilizador de los ribosomas, las membranas celulares y los ácidos nucleicos, y también se necesita para la actividad de muchas enzimas. El calcio (que no es un nutriente esencial para el crecimiento de la mayoría de microorganismos) ayuda a estabilizar la pared celular bacteriana y juega un papel importante en la termorresistencia de las endosporas (*véase* Sección 4.12). El sodio es necesario para algunos microorganismos, aunque no para todos, y su necesidad suele ser un reflejo del hábitat del microorganismo. Por ejemplo, el agua de mar tiene un elevado contenido en sodio y los microorganismos marinos normalmente lo precisan para su crecimiento. En cambio, especies muy relacionadas, pero de agua dulce, suelen crecer bien en ausencia de este elemento.

Hierro y elementos traza

Los microorganismos necesitan varios metales para crecer (Figura 5.1). El hierro juega un papel fundamental en la respiración celular y representa un elemento clave de los citocromos y de las proteínas implicadas en el transporte de electrones que contienen hierro y azufre. En condiciones anóxicas, el hierro se encuentra por lo general en el estado de oxidación +2 y es soluble. Sin embargo, bajo condiciones aerobias suele estar en el estado de oxidación +3 y forma varios minerales insolubles. Para obtener hierro de tales minerales, las células producen agentes quelantes de hierro llamados **sideróforos** que solubilizan el hierro y lo transportan dentro de la célula. Un grupo importante de sideróforos son derivados del ácido hidroxámico, que quelan muy fuertemente el hierro férrico (Fe^{+3}) (**Figura 5.2a**). Una vez que el complejo hierro-hidroxamato pasa a la célula, el hierro se libera y el hidroxamato puede salir y ser reutilizado de nuevo para el transporte del hierro.

Se conocen muchos otros agentes capaces de unir hierro. Algunas bacterias producen sideróforos fenólicos que son estructuralmente complejos llamados *enterobactinas* (Figura 5.2*b*). Estos sideróforos derivan del compuesto aromático catecol y tienen una elevada afinidad de unión al hierro. El hierro está presente en los océanos a concentraciones muy bajas, a nivel de picogramos por mililitro (1 picogramo es 10^{-12} g). Para obtener este hierro, las bacterias marinas producen sideróforos peptídicos como la aquachelina (Figura 5.2*c*) para secuestrar el hierro presente a tan bajas concentraciones. Estos sideróforos contienen una región peptídica que compleja el Fe^{3+} y una región lipídica que se asocia con la membrana celular. Una vez que unen hierro, la porción lipídica favorece su transporte a través de la membrana citoplasmática y su entrada en la célula.

Algunos procariotas pueden crecer en ausencia total de hierro. Por ejemplo, las bacterias *Lactobacillus plantarum* y *Borrelia burgdorferi* (ésta última es la causante de la enfermedad de Lyme, *véase* Sección 35.4) no contienen hierro. El Mn^{2+} sustituye en estas bacterias al hierro como componente metálico de los enzimas que normalmente contienen Fe^{2+}.

Se necesitan muchos otros metales en el metabolismo de los microorganismos (Figura 5.1). Como el hierro, estos micronutrientes se denominan elementos traza. Los micronutrientes desempeñan un papel estructural en varias enzimas, que son los catalizadores de las células (Sección 5.5). La **Tabla 5.2** resume los principales micronutrientes y contienen ejemplos de enzimas en las que intervienen.

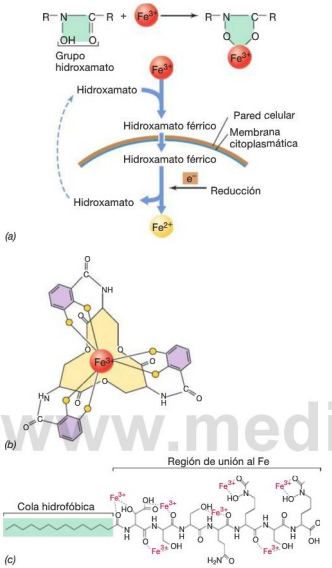


Figura 5.2 Agentes quelantes de hierro producidos por microorganismos. (*a*) Hidroxamato. El hierro se enlaza como Fe^{3+} y se libera dentro de la célula como Fe^{2+}. El hidroxamato sale luego de la célula y reanuda el ciclo. (*b*) Enterobactina férrica de *Escherichia coli*. Los átomos de oxígeno de cada molécula de catecol se indican en amarillo. (*c*) El sideróforo aquachelina mostrando la unión con Fe^{3+}. La porción hidrofóbica favorece la inserción de la aquachelina en la membrana.

Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento son compuestos *orgánicos* que, como los micronutrientes, se necesitan en muy pequeñas cantidades y sólo en el caso de algunas células. Los factores de crecimiento incluyen vitaminas, aminoácidos, purinas y pirimidinas. Aunque la mayor parte de los microorganismos son capaces de sintetizar estos compuestos, algunos requieren uno o más preformados en el medio, y en consecuencia deben estar presentes cuando se cultivan en el laboratorio.

Tabla 5.2 Micronutrientes (elementos traza) necesarios para los microorganismos[a]

Elemento	*Función celular*
Boro (B)	Presente como inductor en bacterias del *quorum sensing*; también en la estructura de algunos antibióticos.
Cromo (Cr)	Requerido por los mamíferos para el metabolismo de la glucosa; posible requerimiento por microorganismos, pero no demostrado.
Cobalto (Co)	Vitamina B_{12}; transcarboxilasa (bacterias del ácido propiónico).
Cobre (Cu)	En la respiración, citocromo *c* oxidasa; en fotosíntesis, plastocianina; algunas superóxido dismutasas.
Hierro (Fe)[b]	Citocromos, catalasas, peroxidasas, proteínas con Fe y S, oxigenasas, todas las nitrogenasas
Manganeso (Mn)	Activador de muchas enzimas; presente en algunas superóxido dismutasas y en la enzima que rompe el agua en fotótrofos oxigénicos (fotosistema II).
Molibdeno (Mo)	Algunas enzimas que contienen flavinas; algunas nitrogenasas, nitrato reductasa, sulfito oxidasa, DMSO-TMAO reductasas, algunas formato deshidrogenasas.
Níquel (Ni)	La mayoría de las hidrogenasas; coenzima F_{430} de metanógenos; deshidrogenasa del monóxido de carbono; ureasa.
Selenio (Se)	Formato deshidrogenasa; algunas hidrogenasas; el aminoácido selenocisteína.
Tungsteno (W)	Algunas formato deshidrogenasas; oxotransferasas de los hipertermófilos.
Vanadio (V)	Vanadio nitrogenasa; bromoperoxidasa.
Zinc (Zn)	Anhidrasa carbónica, alcohol deshidrogenasa, RNA y DNA polimerasas, y muchas proteínas que se unen al DNA.

[a]No todos los micronutrientes indicados son requeridos por todas las células; algunos se necesitan sólo en microorganismos muy específicos.
[b]Necesario en mayores cantidades que otros metales.

Las vitaminas son los factores de crecimiento que se necesitan más frecuentemente. Muchas vitaminas funcionan formando parte de coenzimas y esto se indica en la **Tabla 5.3**. Los requerimientos vitamínicos varían mucho entre los microorganismos, desde ninguno a varios. Las bacterias lácticas, que incluyen los géneros *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y otros (*véase* Sección 16.1), destacan por sus requerimientos vitamínicos complejos, que son aún más amplios que los humanos (*véase* Tabla 5.4).

5.1 Minirrevisión

Las células se componen fundamentalmente de H, O, C, N, P y S, aunque también pueden estar presentes otros elementos. Los centenares de compuestos que existen dentro de una célula viva se forman a partir de

www.medilibros.com

Tabla 5.3 Factores de crecimiento: vitaminas y sus funciones

Vitamina	*Función*
Ácido *p*-aminobenzoico	Precursor del ácido fólico.
Ácido fólico	Metabolismo de compuestos de un carbono; transferencia de grupos metilo.
Biotina	Biosíntesis de ácidos grasos; β-decarboxilaciones; algunas reacciones de fijación de CO_2
Cobalamina (B_{12})	Reducción y transferencia de restos monocarbonados; síntesis de desoxirribosa.
Ácido lipoico	Transferencia de grupos acilo en la decarboxilación del piruvato y α-cetoglutarato.
Ácido nicotínico (niacina)	Precursor del NAD^+ (ver Figura 5.11); transferencia de electrones en reacciones redox.
Ácido pantoténico	Precursor del coenzima A; activación del acetilo y derivados acilados
Riboflavina	Precursor del FMN (ver Figura 5.16), FAD en flavoproteínas implicadas en transporte de electrones.
Tiamina (B_1)	α-decarboxilaciones; transcetolasa.
Vitaminas B_6 (grupo piridoxal-piridoxamina)	Transformaciones de aminoácidos y cetoácidos.
Grupo vitamina K; quinonas	Transporte de electrones; síntesis de esfingolípidos.
Hidroxamatos	Compuestos que unen hierro; solubilización y transporte del hierro al interior celular.

nutrientes que están disponibles en el medio. Los elementos que se necesitan en grandes cantidades se denominan macronutrientes, mientras que los metales y los compuestos orgánicos que se requieren en pequeñas cantidades se denominan micronutrientes (metales traza) y factores de crecimiento, respectivamente.

- ¿Qué dos clases de moléculas contienen la mayor parte del nitrógeno en una célula?
- ¿Por qué un elemento como el Co^{2+} se considera un micronutriente y un elemento como el C un macronutriente?
- ¿Qué papeles desarrolla el hierro en el metabolismo celular? ¿Qué mecanismos son los responsables del secuestro del hierro?

5.2 Medios de cultivo

Los **medios de cultivo** son las soluciones de nutrientes utilizadas para cultivar microorganismos en el laboratorio. Puesto que los cultivos en laboratorio son necesarios para un estudio detallado de un microorganismo, hay que tener un cuidado especial tanto en la preparación como en la selección de los medios si queremos tener éxito en conseguir cultivos adecuados.

Clases de medios de cultivo

En microbiología se emplean dos clases de medios de cultivo, los **medios definidos** y los **medios complejos** (**Tabla 5.4**). Los medios de cultivo definidos se preparan añadiendo a agua destilada cantidades precisas de compuestos orgánicos o inorgánicos purificados. Por consiguiente, en un medio definido se conoce la composición química *exacta*. La fuente de carbono es de capital importancia en cualquier medio de cultivo, ya que todas las células necesitan grandes cantidades de carbono para hacer nuevo material celular. En un medio definido simple (Tabla 5.4), normalmente está presente una sola fuente de carbono, cuya naturaleza y concentración depende del organismo cultivado.

En muchos casos, la composición exacta de un medio no es importante para el crecimiento de muchos organismos. Los medios complejos pueden ser entonces adecuados o incluso ventajosos. A menudo, los medios complejos emplean hidrolizados de productos animales o vegetales, como caseína (la proteína de la leche), carne, soja, extracto de levaduras u otras sustancias muy nutritivas, pero sin embargo no definidas químicamente. Tales hidrolizados están disponibles comercialmente en forma de polvo y pueden ser pesados con facilidad y disueltos en agua destilada para producir un medio. No obstante, una importante limitación al usar un medio complejo es que no se puede controlar su composición nutritiva exacta.

En situaciones particulares, en especial en microbiología clínica, los medios de cultivo pueden ser selectivos o diferenciales. Un medio *selectivo* contiene compuestos que inhiben selectivamente el crecimiento de algunos microorganismos pero no el de otros. En cambio, un medio *diferencial* es aquel al que se añade un indicador, normalmente un colorante, para permitir la diferenciación de reacciones químicas particulares que ocurren durante el crecimiento. Los medios diferenciales son muy útiles para distinguir especies de bacterias, porque unas realizan la reacción particular y otras no. Los medios diferenciales y selectivos se tratan de nuevo en el Capítulo 32.

Requerimientos nutricionales y capacidad biosintética

La Tabla 5.4 muestra los ingredientes de cuatro medios de cultivo, tres definidos y uno complejo. El medio complejo es el más fácil de preparar y permite un buen crecimiento de *Escherichia coli* o de *Leuconostoc mesenteroides*. En cambio, el medio definido sencillo que se muestra en la Tabla 5.4 proporciona un buen crecimiento para *E. coli*, pero no para *L. mesenteroides*. El crecimiento en un medio definido de esta última bacte-

Tabla 5.4 Ejemplos de medios de cultivo para microorganismos con requerimientos nutricionales simples y complejos[a]

Medio definido para Escherichia coli	*Medio definido para* Leuconostoc mesenteroides	*Medio complejo tanto para* E. coli *como para* L. mesenteroides	*Medio definido para* Thiobacillus thioparus
K_2HPO_4 7 g	K_2HPO_4 0,6 g	Glucosa 15 g	KH_2PO_4 0,5 g
KH_2PO_4 2 g	KH_2PO_4 0,6 g	Extracto de levadura 5 g	NH_4Cl 0,5 g
$(NH_4)_2SO_4$ 1 g	NH_4Cl 3 g	Peptona 5 g	$MgSO_4$ 0,1 g
$MgSO_4$ 0,1 g	$MgSO_4$ 0,1 g	KH_2PO_4 2 g	$CaCl_2$ 0,05 g
$CaCl_2$ 0,02 g	Glucosa 25 g	Agua destilada 1.000 ml	KCl 0,5 g
Glucosa 4–10 g	Acetato sódico 25 g	pH 7	$Na_2S_2O_3$ 2 g
Elementos traza (Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo) de 2-10 μg cada uno.	Aminoácidos (alanina, arginina, asparragina, aspartato, cisteína, glutamato, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina, valina) 100-200 μg de cada uno		Elementos traza (igual que en la receta de *E. coli*)
Agua destilada 1.000 ml	Purinas y pirimidinas (adenina, guanina, uracilo, xantina) 10 mg de cada una		Agua destilada 1.000 ml
pH 7	Vitaminas (biotina, folato, ácido nicotínico, piridoxal, piridoxamina, piridoxina, riboflavina, tiamina, pantotenato, ácido *p*-aminobenzoico) 0,01-1 mg de cada una		pH 7
	Elementos traza (ver la primera columna) 2–10 μg cada uno		El CO_2 es la fuente de carbono
	Agua destilada 1.000 ml		
	pH 7		

(a)

(b)

www.medilibros.com

[a]Las fotos son tubos con medio definido (a) y con medio complejo descrito (b). Nótese que el medio complejo está coloreado por los extractos e hidrolizados orgánicos que contiene. Fotos cedidas por Cheryl L. Broadie y John Vercillo, Southern Illinois University, Carbondale.

ria, que presenta exigentes demandas nutritivas, requiere la adición de varios nutrientes que no resultan necesarios para *E. coli* (Tabla 5.4). Teniendo esto en cuenta, cabe preguntarse cuál de estos organismos tendrá mayor capacidad biosintética. La respuesta es obvia, *E. coli*, pues su capacidad para crecer en un medio simple definido significa que tiene la capacidad para sintetizar *todos* sus componentes celulares a partir de una única fuente de carbono, en este caso la glucosa (Tabla 5.4). Por el contrario, *L. mesenteroides* presenta un requerimiento de múltiples factores de crecimiento, lo cual indica una capacidad biosintética limitada. Las complejas necesidades nutricionales de *L. mesenteroides* se pueden suministrar preparando un medio definido como el que se indica en la Tabla 5.4, lo cual es laborioso y llevaría bastante tiempo, o usando el medio complejo indicado en la misma tabla, que puede ser preparado de forma rápida.

Algunos microorganismos patógenos tienen exigencias nutritivas mucho más estrictas que las indicadas para *L. mesenteroides*. Para cultivar estos microorganismos a veces se necesita un *medio enriquecido*, que es un medio complejo al que se añaden nutrientes adicionales, como suero o sangre. Estas adiciones reflejan mejor las condiciones que se encuentran en el hospedador y se requieren para cultivar con éxito en el laboratorio algunos patógenos humanos como *Streptococcus pyogenes* (infecciones de garganta) y *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrea).

El cuarto medio que se presenta en la Tabla 5.4 se usa para el cultivo del quimiolitótrofo del azufre *Thiobacillus thioparus*, que es autótrofo y, por tanto, no necesita una fuente orgánica de carbono. *T. thioparus* obtiene su carbono del CO_2 y su energía de la oxidación de tiosulfato ($Na_2S_2O_3$), un compuesto reducido del azufre. Así, este microorganismo presenta la mayor capacidad biosintética de todos los señalados en la Tabla 5.4, superando incluso a este respecto a *E. coli*.

El contenido de la Tabla 5.4 nos indica que es importante tener en cuenta que diferentes microorganismos pueden exhibir requerimientos nutricionales muy diferentes. Por tanto, para el cultivo correcto de un microorganismo determinado es necesario conocer sus exigencias nutritivas y suministrarlas en los medios de cultivo con los nutrientes esenciales en la forma y proporción adecuadas. Si se toma el debido cuidado en la preparación de los medios de cultivo, resulta relativamente fácil cultivar en el laboratorio muchos tipos diferentes de microorganismos. Explicaremos los procedimientos usados para cultivar microorganismos a continuación.

5.2 Minirrevisión

Los medios de cultivo satisfacen las necesidades nutritivas de los microorganismos y pueden ser químicamente definidos o complejos (no definidos). Los términos «selectivo», «diferencial» o «enriquecido» describen medios usados para el aislamiento de especies particulares o para estudios comparativos de microorganismos.

- ¿Por qué es más facil el crecimiento rutinario de *Leuconostoc mesenteroides* en un medio complejo que en un medio definido?
- De los medios mostrados en la Tabla 5.4, señale en qué medio, definido o complejo, crecería más rápido *Escherichia coli* y comente la razón. ¿Por qué *E. coli* no crecería en el medio descrito para *Thiobacillus thioparus*?

5.3 Cultivo de microorganismos en el laboratorio

Una vez que un medio de cultivo ha sido preparado y se ha **esterilizado** para eliminar todos los microorganismos, puede ser inoculado con microorganismos (es decir, se añaden al medio) y, a continuación, el cultivo es incubado en condiciones que favorezcan el crecimiento microbiano. En general, se tratará de un inóculo procedente de un **cultivo puro**, esto es, de un cultivo que contiene sólo un único tipo de microorganismo.

Para mantener un cultivo puro es esencial evitar la entrada en él de otros organismos. Los organismos no deseados, llamados *contaminantes*, son muy ubicuos (como Pasteur puso de manifiesto hace más de 125 años, *véase* Sección 1.7), por lo que se han diseñado técnicas microbiológicas para evitarlos. Un método importante para obtener cultivos puros y para asegurar la pureza de un cultivo es el uso de medios sólidos en placas de Petri.

Medios de cultivo sólidos y líquidos

Los medios de cultivo se preparan con frecuencia en forma semisólida o sólida mediante la adición al medio líquido de un agente solidificante. Los medios sólidos inmovilizan a las células, permitiéndolas crecer y formar masas aisladas visibles llamadas *colonias* (**Figura 5.3**). Las colonias bacterianas pueden ser de forma y tamaño variable dependiendo del organismo, de las condiciones

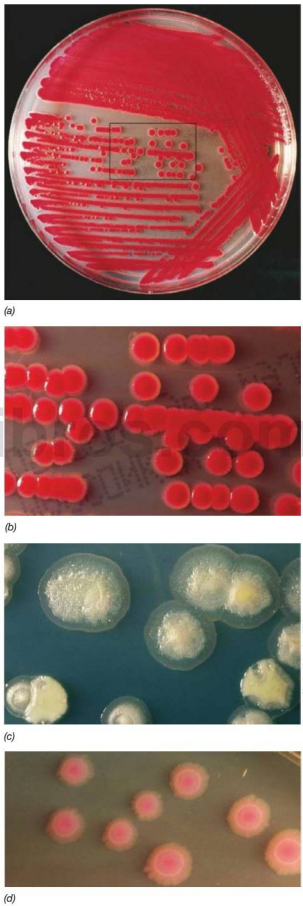


Figura 5.3 **Colonias bacterianas.** Las colonias son masas visibles de células que se forman por la división de una o varias células y que pueden contener más de mil millones de células individuales. *(a) Serratia marcescens* creciendo sobre agar MacConkey. *(b)* Aumento de las colonias anteriores. *(c) Pseudomonas aeruginosa* crecida sobre agar Tripticasa-Soja. *(d) Shigella flexneri* creciendo sobre agar MacConkey.

del cultivo, del suministro de nutrientes, y de otros parámetros fisiológicos. Algunas bacterias producen pigmentos que colorean las colonias (Figura 5.3). Las colonias permiten al microbiólogo visualizar la pureza del cultivo. Las placas que contengan más de un tipo de colonia indican que el cultivo está contaminado. De este modo, la placa de Petri se ha venido utilizando desde hace más de un siglo como criterio para establecer la pureza en los cultivos (*véase* Sección 1.8).

Los medios sólidos se preparan igual que los líquidos salvo que, antes de esterilizar los medios, se les añade agar como agente gelificante, normalmente al 1,5%. El agar se funde durante el proceso de esterilización y el medio fundido se vierte sobre placas de cristal o de plástico y se deja que solidifique antes de uso (Figura 5.3). **www.microbiologyplace.com Tutorial online 5.1: Técnica aséptica y siembra en placa.**

Técnica aséptica

Como los microorganismos están por todas partes, los medios de cultivo deben ser esterilizados antes de usarlos. La esterilización se lleva a cabo normalmente mediante calor húmedo en un gran recipiente a presión llamado *autoclave*. Los principios y operaciones del autoclave se comentarán mas adelante así como otros métodos de esterilización (*véase* Sección 27.1).

Cuando se ha preparado un medio de cultivo estéril, puede recibir un inóculo de un cultivo puro crecido previamente y empezar de nuevo el proceso de crecimiento. Esto requiere el uso de **técnicas asépticas**, es decir, una serie de procedimientos para evitar la contaminación durante la manipulación de los cultivos y de los medios de cultivo estériles (**Figuras 5.4** y **5.5**). Su aprendizaje es esencial para tener éxito en el laboratorio microbiológico y representa uno de los primeros métodos que tiene que dominar el microbiólogo novel. El problema más común son los contaminantes aéreos ya que el aire siempre contiene polvo en suspensión que generalmente lleva comunidades de microorganismos. Cuando las placas o tubos se abren deben manejarse de tal modo que los contaminantes aéreos no penetren (Figuras 5.4 y 5.5).

La transferencia aséptica de un cultivo, desde un tubo con medio a otro, se acompaña normalmente del uso del asa o aguja de siembra que ha sido antes esterilizada por incineración a la llama (Figura 5.4). Los cultivos en los que ha habido crecimiento se pueden transferir luego a la superficie de placas con agar, donde se desarrollarán colonias como resultado del crecimiento y división de las células aisladas que han sido sembradas (Figura 5.5). La toma y resiembra por extensión de una colonia aislada es un método efectivo de obtener cultivos puros a partir de mezclas complejas que contienen muchos organismos diferentes.

5.3 Minirrevisión

En el laboratorio, los microorganismos pueden crecer en medios de cultivo que contienen los nutrientes requeridos. La obtención de cultivos puros requiere la puesta en práctica de técnicas asépticas.

- ¿Qué significa la palabra estéril? ¿Qué ocurriría si los medios de cultivo no se esterilizaran tras su preparación y se dejaran a temperatura ambiente?
- ¿Por qué es necesaria la técnica aséptica en la obtención de cultivos puros en el laboratorio?

www.elibros.com

II ENERGÉTICA Y ENZIMAS

En el Capítulo 2 consideramos la existencia de diferentes tipos de microorganismos según la naturaleza de su fuente de energía, *quimioorganótrofos*, *quimiolitótrofos* y *fotótrofos*. Sin embargo, sea cual sea su modo de vida, todo microorganismo debe ser capaz de obtener energía de compuestos químicos o de la luz y, además, conservar parte de la energía como ATP. Vamos a considerar ahora los principios de conservación de la energía utilizando algunas leyes sencillas de química y física que nos ayudarán a su comprensión, y consideraremos a continuación la acción de las enzimas, que son los biocatalizadores celulares.

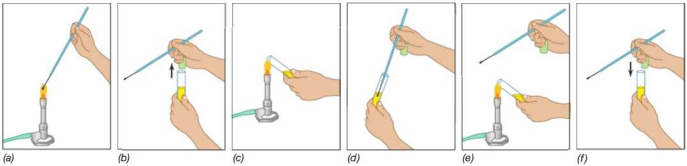


Figura 5.4 Transferencia aséptica. *(a)* El asa de siembra se calienta hasta la incandescencia y se enfría brevemente al aire. *(b)* El tubo se destapa. *(c)* Se pasa el extremo del tubo por la llama. *(d)* Se extrae la muestra con el asa esterilizada y se transfiere a un medio estéril. *(e)* Tras tomar la muestra con el asa, se vuelve a flamear el extremo del tubo. *(f)* Se vuelve a tapar el tubo. El asa se recalienta de nuevo antes de dejar de utilizarla.

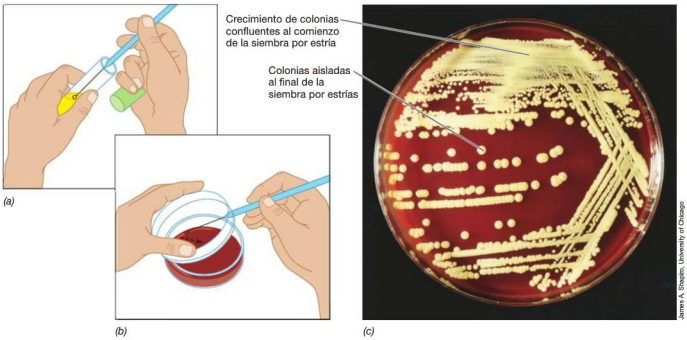


Figura 5.5 **Método para obtener cultivos puros por siembra en estría en placa.** (*a*) Se esteriliza el asa y luego se toma una muestra de inóculo del tubo. (*b*) Se realiza una siembra por estría sobre una placa de agar con medio estéril, extendiendo bien los organismos. Después de una estría inicial se hacen estrías subsiguientes en ángulo y al final se reesteriliza el asa. (*c*) Aspecto de la placa sembrada tras incubación. Se trata de colonias de la bacteria *Micrococcus luteus* crecidas sobre placas de agar-sangre. De las colonias que crecen aisladas se pueden obtener normalmente cultivos puros.

www.medilibros.com

5.4 Bioenergética

La **energía** se define como la capacidad de realizar un trabajo. En microbiología, la energía se mide normalmente en kilojulios (kJ), que es una unidad de energía calorífica. Las reacciones químicas se acompañan de cambios de energía, porque resulta requerida o porque es liberada de la reacción.

Energética básica

Aunque en toda reacción química se pierde alguna energía en forma de calor, lo que interesa es considerar la **energía libre** (abreviada como ***G***), que se define como la energía liberada *que es utilizable para realizar un trabajo*. El cambio en energía libre durante una reacción se expresa como $\Delta G^{0\prime}$, donde el símbolo Δ debe leerse como «cambio en». Los índices «cero» y «prima» significan que un valor dado de energía libre ha sido obtenido bajo condiciones estándar o habituales: a pH 7, 25 °C y con todos los reactivos y productos a una concentración inicial de 1 M.

Consideremos la reacción:

$$A + B \rightarrow C + D$$

si el valor de $\Delta G^{0\prime}$ es *negativo*, entonces significa que la reacción ocurre espontáneamente con liberación de energía, la cual será capaz de conservar la célula en forma de ATP. Tales reacciones se llaman **exergónicas**. Sin embargo, si $\Delta G^{0\prime}$ es *positiva* la reacción requiere energía para tener lugar y estas reacciones se llaman **endergónicas**. En resumen, desde el punto de vista de la célula microbiana, las reacciones exergónicas *producen* energía, mientras que las reacciones endergónicas *requieren* energía.

Energía libre de formación y cálculo de $\Delta G^{0\prime}$

Para calcular la energía libre que produce una reacción se necesita conocer la energía libre de los reaccionantes y de los productos. Esta es la energía libre de formación, es decir la energía liberada o requerida para la formación de una molécula determinada a partir de sus elementos constituyentes. La **Tabla 5.5** recoge algunos ejemplos de energías libres de formación. Convencionalmente, el valor de la energía libre de formación (ΔG^0_f) para los elementos en su forma eléctricamente neutra y elemental (como el C, H_2, N_2) es cero. Si la formación de un *compuesto* a partir de sus elementos ocurre exergónicamente, entonces la energía libre de formación de ese compuesto es negativa (se libera energía), mientras que si la reacción es endergónica (requiere energía) la energía libre de formación del compuesto es positiva.

Para la mayor parte de los compuestos ΔG^0_f es negativa, lo que indica que los compuestos tienden a formarse espontáneamente a partir de sus elementos (con liberación de energía). Sin embargo, el valor positivo de ΔG^0_f para el óxido nitroso (+104.2 kJ/mol) significa que esta

Tabla 5.5 Energía libre de formación de algunos compuestos de interés biológico

Compuesto	*Energía libre de formación*[a]
Agua (H_2O)	–237,2
Dióxido de carbono (CO_2)	–394,4
Hidrógeno gas (H_2)	0
Oxígeno gas (O_2)	0
Amoníaco (NH_4^+)	–79,4
Óxido nitroso (N_2O)	+104,2
Acetato ($C_2H_3O_2^-$)	–369,4
Glucosa ($C_6H_{12}O_6$)	–917,3
Metano (CH_4)	–50,8
Metanol (CH_3OH)	–175,4

[a]Los valores de energía libre (G_f^0) se dan en *kJ/mol*. *Véase* la Tabla A1.1 para una lista más completa de energías libres de formación.

molécula no se forma espontáneamente, sino que se descompone espontáneamente en nitrógeno y oxígeno. En el Apéndice 1 se muestran las energías libres de formación de una variedad de compuestos de interés microbiológico y en manuales de física y química puede encontrase una lista más completa.

Mediante la utilización de las energías libres de formación es posible calcular el *cambio* en energía libre que ocurre en una reacción determinada. Por ejemplo, para una reacción simple como A + B → C + D, el valor de $\Delta G^{0\prime}$ se calcula restando la suma de las energías libres de formación de los reaccionantes (A y B) de la de los productos (C y D). Así:

$$\Delta G^{0\prime} = G^0_f[C + D] - G^0_f[A + B]$$

El valor obtenido nos indica si la reacción es exergónica o endergónica. La frase «los productos menos los reaccionantes» resume los pasos necesarios para calcular los cambios en energía libre durante las reacciones químicas. Sin embargo, antes de realizar los cálculos para la energía libre es necesario primero igualar químicamente la reacción. En el Apéndice 1 se detallan los pasos a seguir para calcular la energía libre de cualquier reacción hipotética.

$\Delta G^{0\prime}$ frente a ΔG

Aunque los cálculos de $\Delta G^{0\prime}$ dan normalmente una buena estimación de los cambios reales en energía libre, bajo determinadas circunstancias no es así. Veremos más adelante en este libro que en la naturaleza la concentración real de productos y reaccionantes raramente alcanzan el nivel de 1 M, y esto puede alterar la bioenergética de las reacciones, a veces de modo significativo. Por tanto, lo que resulta más interesante para el cálculo bioenergético no es $\Delta G^{0\prime}$ sino ΔG, el cambio en energía libre que ocurre bajo las condiciones reales en las que el organismo crece.

ΔG es una expresión de la energía libre que toma en cuenta las concentraciones verdaderas de reaccionantes y de productos, y se calcula como:

$$\Delta G = \Delta G^{0\prime} + RT \ln K$$

donde R y T son constantes físicas y K es la constante de equilibrio de la reacción de que se trate (Apéndice 1). En el Capítulo 21, donde se considera con más detalle la diversidad metabólica, distinguimos entre $\Delta G^{0\prime}$ y ΔG, pero por ahora debemos centrarnos en la expresión $\Delta G^{0\prime}$ y lo que esto nos indica sobre una reacción química catalizada por un microorganismo particular. Solamente las reacciones que son exergónicas son capaces de producir energía y, por tanto, de sustentar el crecimiento.

5.4 Minirrevisión

Las reacciones químicas celulares implican cambios en energía que se expresan en kJ. Una reacción química puede ocurrir con liberación de energía libre (exergónica) o con consumo de energía libre (endergónica).

- ¿Qué es la energía libre?
- En general, las reacciones catabólicas ¿son exergónicas o endergónicas?
- Usando los datos de la Tabla 5.5, calcule el valor de $\Delta G^{0\prime}$ para la siguiente reacción: $CH_4 + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow CH_3OH$. ¿En qué se diferencian $\Delta G^{0\prime}$ y ΔG?
- La formación de glucosa a partir de sus elementos ¿libera o requiere energía?

5.5 Catálisis y enzimas

La determinación de la energía libre nos indica sólo si una determinada reacción libera o requiere energía, pero no nos dice nada acerca de la *velocidad* de la reacción. Consideremos la formación de agua a partir de oxígeno atmosférico e hidrógeno. La energética de esta reacción es muy favorable: $H_2 + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow H_2O$, con un valor de $DG^{0\prime}$= –237 kJ. Sin embargo, si ponemos juntos en una botella cerrada O_2 y H_2, no ocurre formación de agua ni aunque esperemos la reacción durante años. Esto se debe a que la reordenación de los átomos de oxígeno y de hidrógeno para formar agua requiere que se rompan primero los enlaces químicos de los reaccionantes. Tal rotura precisa energía y esa energía se designa como **energía de activación**.

La energía de activación es la cantidad de energía que se necesita para llevar todas las moléculas de una reacción química a un estado reactivo. La situación se ejemplifica en la **Figura 5.6** para una reacción que tiene lugar con producción de energía libre (reacción exergónica). Aunque la barrera de la energía de activación es casi insupe-

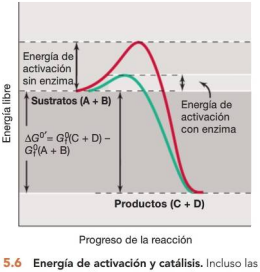


Figura 5.6 **Energía de activación y catálisis.** Incluso las reacciones químicas que liberan energía pueden no ocurrir espontáneamente, ya que los reactivos deben ser primero activados. Una vez activados, la reacción ocurre espontáneamente. Los catalizadores, como las enzimas, rebajan la energía de activación requerida.

rable en ausencia de catalizadores, en presencia de un catalizador adecuado es mucho menos notable (Figura 5.6).

Enzimas

El concepto de energía de activación nos lleva al concepto de catálisis y de enzimas. En bioquímica, un **catalizador** es una sustancia que rebaja la energía de activación de una reacción y que por consiguiente aumenta la velocidad de una reacción. Los catalizadores facilitan las reacciones pero ellos mismos no se consumen ni modifican durante la reacción. Es importante destacar que los catalizadores no intervienen en la energética o en el equilibrio de una reacción, sino que afectan sólo a la velocidad con que esas reacciones ocurren.

En los organismos vivos, la mayor parte de las reacciones no ocurrirían a velocidad apreciable sin catalizadores. Los catalizadores de las reacciones biológicas son proteínas (en unos cuantos casos son RNAs) llamadas **enzimas,** que son muy específicas para las reacciones que catalizan. Cada enzima cataliza solamente un único tipo de reacción química o, en el caso de algunas enzimas, reacciones estrechamente relacionadas. Esta especificidad se debe a la estructura tridimensional de la molécula enzimática (*véanse* Secciones 3.7 y 3.8).

En una reacción catalizada enzimáticamente, la enzima se combina temporalmente con el reaccionante, que se denomina **sustrato** (S), para formar un complejo enzima-sustrato. Luego, cuando ocurre la reacción, se libera el producto (P) y la enzima (E) vuelve a su estado original:

$$E + S \longleftrightarrow E - S \longleftrightarrow E + P$$

Por lo general la enzima es mucho mas grande que el sustrato y la combinación enzima-sustrato suele depender de uniones débiles tales como puentes de hidrógeno, fuerzas de van der Waals e interacciones hidrofóbicas (*véase* Sección 3.1). La pequeña porción de enzima que se une al sustrato constituye el *sitio activo* de la enzima, y la reacción completa desde la unión inicial del sustrato puede durar sólo unos cuantos milisegundos.

Catálisis enzimática

El poder catalítico de las enzimas es impresionante. Las enzimas pueden incrementar de 10^8 a 10^{20} veces la velocidad a la que las reacciones químicas ocurrirían de modo espontáneo. Una enzima, para catalizar una reacción específica, debe realizar dos cosas: (1) unirse al sustrato adecuado y (2) colocar el sustrato de modo preciso para interaccionar con los grupos catalíticos del sitio activo de la enzima. La unión de la enzima y el sustrato acarrea la formación del complejo enzima-sustrato (**Figura 5.7**). Esto permite alinear los grupos reactivos sobre enlaces específicos del sustrato. El resultado final de la formación de este complejo es un descenso en la energía de activación necesaria para poner en marcha la reacción de conversión del sustrato en sus productos (Figura 5.6). Estos pasos se presentan de forma esquemática en la Figura 5.7 para el caso de la enzima glicolítica aldolasa (Sección 5.10).

La reacción presentada en la Figura 5.6 es exergónica porque la energía libre de formación del sustrato es mayor que la de su producto; es decir, la formación del producto tiene lugar con liberación de energía. Sin embargo, las enzimas pueden catalizar también reacciones que requieren energía, convirtiendo sustratos pobres en energía en productos ricos en energía.

En estos casos, no sólo debe superarse la energía de activación, sino que se debe aportar al sistema la suficiente energía para elevar el nivel energético del sustrato hasta el de los productos. Esto se realiza acoplando la reacción que *requiere* energía a una reacción que *libere* energía, como la hidrólisis de ATP.

En teoría la acción de las enzimas es reversible, pero en la práctica las enzimas que catalizan reacciones altamente exergónicas o endergónicas lo hacen de manera unidireccional. Si durante el metabolismo celular se necesita invertir una reacción exergónica particular, frecuentemente esa reacción es llevada a cabo por una enzima diferente.

Estructura y nomenclatura de las enzimas

La mayoría de las enzimas son proteínas, es decir polímeros de aminoácidos (*véase* Secciones 3.6- 3.8), y cada una tiene una forma tridimensional específica, es decir, asume propiedades físicas y de unión que son particulares. La conformación exacta de una enzima puede visualizarse más fácilmente en modelos computerizados (**Figura 5.8**). En el ejemplo que corresponde a la lisozima, la enzima capaz de hidrolizar el peptidoglicano, la amplia hendidura es el lugar por donde se une al sustrato (el

www.medilib

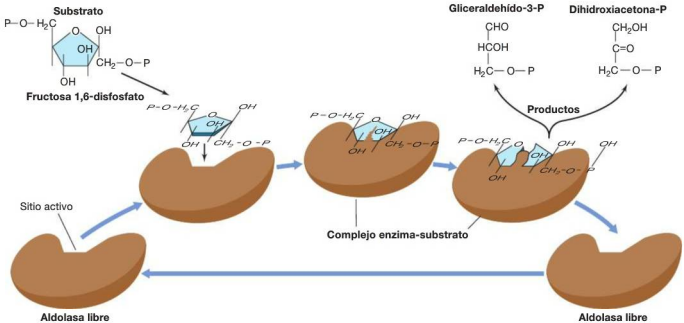


Figura 5.7 **Ciclo catalítico de una enzima.** Se toma como ejemplo la fructosa difosfato aldolasa, que cataliza la reacción: fructosa-1,6-difosfato → gliceraldehído-3-fosfato + dihidroxiacetona fosfato, en la glucolisis. Después de la unión con la fructosa-1,6-difosfato para formar el complejo enzima-sustrato, la conformación de la enzima resulta alterada, lo que introduce tensión en enlaces del sustrato, que se rompe dando lugar a los dos productos de reacción.

www.medilibros.com

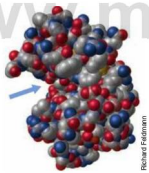


Figura 5.8 **Modelo de la lisozima generado por computador.** El sitio activo de la enzima que une el sustrato es la hendidura (flecha) en la parte izquierda del modelo.

sitio activo). El sitio activo de la lisozima une peptidoglicano, pero no otros polisacáridos ni aunque su estructura sea semejante a la del peptidoglicano.

Muchas enzimas contienen pequeñas moléculas no proteicas que participan en la función catalítica pero que no se pueden considerar por sí mismas como sustratos en sentido usual. Estas moléculas asociadas se dividen en dos categorías, *grupos prostéticos* y *coenzimas*, dependiendo de la naturaleza de su asociación con la enzima. Los grupos prostéticos se unen muy fuertemente a sus enzimas, por lo general de modo covalente y permanente. Un ejemplo de grupo prostético es el grupo hemo presente en los citocromos (Sección 5.11). Los coenzimas se unen más débilmente a las enzimas, y una sola molécula de coenzima puede unirse a diferentes enzimas. La mayor parte de los coenzimas derivan de vitaminas, y un buen ejemplo es el NAD^+/NADH que deriva de la vitamina niacina (Tabla 5.3).

Las enzimas se denominan según el sustrato al que se unen o según la reacción que catalizan, con la terminación *–asa*. Así, la celul*asa* es una enzima que degrada la celulosa, la glucosa oxid*asa* cataliza la oxidación de la glucosa y la ribonucle*asa* descompone ácido ribonucleico. Existe una nomenclatura más formal que emplea un sistema de numeración específico para clasificar las enzimas con mayor precisión. Sin embargo, para nuestros propósitos, la designación terminada en «-asa» es suficiente y es la utilizada exclusivamente en este libro.

5.5 Minirrevisión

En una reacción química, los reaccionantes deben primero ser activados para que ocurra la reacción y a menudo esto requiere un catalizador. Las enzimas son proteínas catalíticas que aceleran la velocidad de las reacciones bioquímicas. Las enzimas son altamente específicas con relación a las reacciones que catalizan, y tal especificidad reside en los modelos de plegamiento de los polipéptidos proteicos.

- ¿Cuál es la función de un catalizador? ¿Qué tipo de macromoléculas son las enzimas?
- ¿Por dónde se une una enzima a su sustrato?
- ¿Qué es la energía de activación?

III OXIDACIÓN–REDUCCIÓN Y COMPUESTOS DE ALTA ENERGÍA

En los sistemas biológicos, la conservación de la energía implica reacciones de oxidación-reducción. El resultado final de la energía liberada en estas reacciones es la producción de compuestos de alta energía como el ATP. A continuación consideraremos reacciones de oxidación-reducción (reacciones redox) y los principales transportadores de electrones que se encuentran en la célula. Finalmente, examinaremos la naturaleza de los compuestos de alta energía que conservan la energía liberada en las reacciones redox.

5.6 Oxidación y reducción: donadores y aceptores de electrones

Químicamente, una oxidación se define como la pérdida de uno o varios electrones de una sustancia y una reducción es la ganancia de uno o varios electrones por una sustancia. Las oxidaciones y reducciones pueden implicar la transferencia de sólo electrones o de un electrón y un protón, es decir, de un átomo completo de hidrógeno.

Donadores y aceptores de electrones

Las reacciones redox ocurren a pares. Por ejemplo, el gas hidrógeno, puede liberar electrones y protones y oxidarse:

$$H_2 \rightarrow 2e^- + 2H^+$$

Sin embargo, los electrones no pueden existir como tales en solución; deben formar parte de átomos o moléculas. La ecuación anterior, por sí misma, no representa una reacción real. Es solamente la *mitad de una reacción* que requiere la necesidad de una segunda reacción. Esto es así porque para que ocurra cualquier oxidación debe ocurrir también una reducción acoplada. Así, por ejemplo, la oxidación del H_2 puede acoplarse a la reducción de sustancias muy diferentes, como el O_2, en una segunda reacción:

$$\frac{1}{2}O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O$$

Esta es otra reacción a medias, que es una reducción, y cuando se junta a la anterior oxidación del H_2 da lugar a la siguiente reacción total:

$$H_2 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O$$

En reacciones de este tipo, nos referiremos a la sustancia *oxidada*, en este caso el H_2, como el **donador de electrones**, y a la sustancia *reducida*, en este caso el O_2, como el **aceptor de electrones** (**Figura 5.9**). El concepto de donadores y aceptores de electrones es muy importante en microbiología y está presente en todos los aspectos del metabolismo energético. Nos referiremos muchas veces a estos términos en este libro.

Potenciales de reducción

Las sustancias varían en cuanto a su tendencia a oxidarse o reducirse. Esta tendencia se expresa como el **potencial de reducción** de la sustancia (E_0' en condiciones estándar). Este potencial se mide eléctricamente en voltios (V) con relación al potencial de una sustancia estándar, el H_2. Por convenio, los potenciales de reducción se expresan para reacciones parciales que corresponden a *reducciones* a pH 7, porque el citoplasma de muchas células es neutro o con valor aproximado a la neutralidad. Utilizando estas convenciones, el potencial de reducción (E_0') a pH 7 de

$$\frac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$$

es +0,816 voltios (V), y el de

$$2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$$

es –0,421 V. Veremos más adelante que estos valores de E_0' indican que el O_2 es un excelente aceptor de electrones y que el H_2 es un excelente donador de electrones.

Pares redox

Las moléculas, en su mayoría, pueden ser donadoras o bien aceptoras de electrones según las circunstancias, dependiendo de qué sustancias reaccionen con ellas. La sustancia química a cada lado de la flecha en las semirreaciones puede considerarse como un *par redox*, por ejemplo, $2H^+/H_2$ o $\frac{1}{2}O_2 / H_2O$. Cuando se escribe un par redox, la forma *oxidada* se sitúa siempre a la izquierda.

Para formar reacciones completas de oxidación-reducción a partir de las correspondientes semirreacciones, lo más simple es recordar que la sustancia reducida de un par redox cuyo potencial de reducción es más negativo cede electrones a la sustancia oxidada de una pareja cuyo potencial sea más positivo. Por ejemplo, en el par $2H^+/H_2$, que tiene un potencial de –0,421 V, el H_2 tiene una

Figura 5.9 **Ejemplo de una reacción redox.** La formación de agua a partir del donador de electrones H_2 y del aceptor de electrones O_2.

www.medilibros.com

gran tendencia a donar electrones. Por otro lado, en el par $\frac{1}{2}\ O_2$ / H_2O, que tiene un potencial de +0,82 V, el H_2O tiene muy poca tendencia a ceder electrones, pero el O_2 tiene una gran tendencia a *aceptarlos*. En consecuencia, en una reacción en que intervengan H_2 y O_2, el H_2 será el donador de electrones y se oxidará y el O_2 será el aceptor de electrones y se reducirá (Figura 5.9).

Como se ha dicho antes, por convenciones químicas, las reacciones parciales se escriben como *reducciones*. Sin embargo, en una reacción redox real la semirreacción con E_0' más negativo debería escribirse como una oxidación y por consiguiente proceder en sentido inverso. Así, en la reacción indicada en la Figura 5.9, la oxidación del H_2 a $2H^+ + 2e^-$ está escrita al revés de una semirreacción formal, representada como reducción.

La escala electrónica

Un modo conveniente de visualizar la transferencia de electrones en los sistemas biológicos y su importancia bioenergética es imaginar una escala vertical (**Figura 5.10**). La escala representa el rango de potenciales de reducción posibles para los diversos pares redox en la naturaleza, con los más negativos arriba y los más positivos abajo. La sustancia *reducida* del par redox situado en la parte superior de la escala es la que tiene mayor tendencia a donar electrones, mientras que la sustancia *oxidada* del par más inferior en la escala tiene la mayor tendencia a aceptar electrones.

Usando la analogía de una torre, cuando los electrones de un donador de electrones situado en la parte superior de la torre caen, pueden ser «cogidos» por aceptores de distintos niveles. La diferencia en el potencial de reducción entre los pares redox del donador y el aceptor se expresa como $\Delta E_0'$. Cuanto más lejos caigan en esta escala los electrones desde el donador, antes de alcanzar al aceptor, mayor será la energía liberada; en otras palabras, $\Delta E_0'$ es proporcional a ΔG^0 (Figura 5.10). El O_2, en la parte inferior de la escala, es el aceptor de electrones más favorable de los usados por los microorganismos. Hacia el medio de la escala, los pares redox pueden actuar como donadores o como aceptores de electrones dependiendo de con qué par redox reaccionen. Como ejemplo, el par $2H^+/H_2$ tiene un potencial de reducción de –0,42 V y puede reaccionar con el par fumarato/succinato (+0,02 V), con el par NO_3^-/NO_2^- (+0,42 V) o con el par $\frac{1}{2}\ O_2/H_2O$ (+0,82V), con liberación de cantidades incrementadas de energía, respectivamente (Figura 5.10).

Los donadores de electrones usados en el metabolismo energético se denominan también *fuente de energía*. En la naturaleza existen muchos donadores potenciales de electrones, tanto orgánicos como inorgánicos. Sin embargo es esencial tener en cuenta que lo que realmente libera energía no es el donador de electrones *per se*, sino la reacción química en la que participa. La presencia de un aceptor de electrones adecuado es tan importante como la de un donador de electrones apropiado. Si falta uno u otro, la reacción que libera energía no puede tener lugar.

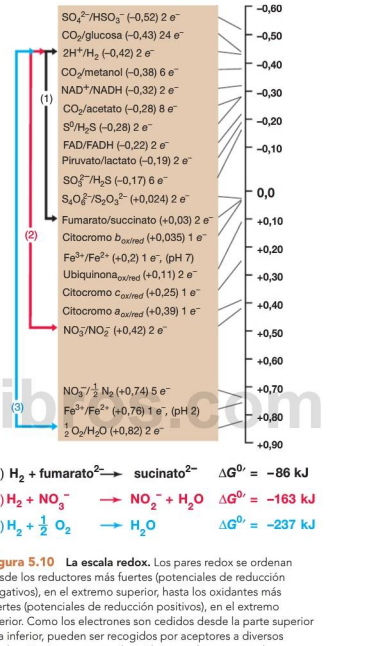


Figura 5.10 **La escala redox.** Los pares redox se ordenan desde los reductores más fuertes (potenciales de reducción negativos), en el extremo superior, hasta los oxidantes más fuertes (potenciales de reducción positivos), en el extremo inferior. Como los electrones son cedidos desde la parte superior a la inferior, pueden ser recogidos por aceptores a diversos niveles. Cuanto mayor sea la caída antes de ser recogidos (diferencia de potenciales), más energía se liberará. A modo de ejemplo, se muestra la diferente energía liberada cuando un mismo donador de electrones, el H_2, reacciona con tres aceptores de electrones diferentes, fumarato, nitrato y oxígeno.

www.medilibros.com

5.6 Minirrevisión

Las reacciones de óxido-reducción requieren donadores y aceptores de electrones. La tendencia de un compuesto a aceptar o liberar electrones se expresa en términos cuantitativos por su potencial de reducción, E_0'.

▮ En la reacción entre H_2 y $\frac{1}{2}\ O_2 \rightarrow H_2O$ ¿cuál es el donador y cuál el aceptor de electrones?

- ¿Cuál es el valor E_0' del par $2H^+/H_2$? ¿Son los protones buenos aceptores de electrones? ¿Por qué?
- ¿Por qué el nitrato (NO_3^-) es un aceptor de electrones mejor que el fumarato?

5.7 El NAD como un transportador redox de electrones

En las células microbianas, la transferencia de electrones en una reacción redox normalmente requiere uno o más intermediarios que se llaman *transportadores*. Existen dos tipos generales de transportadores de electrones: los que difunden libremente (coenzimas) y los que están unidos firmemente a enzimas anclados en la membrana citoplasmática (grupos protéticos). Los transportadores fijados funcionan en las reacciones de transporte electrónico asociado a membranas y se expondrán en la Sección 5.11. Los transportadores difusibles más frecuentes incluyen los coenzimas nicotinamida adenín dinucleótido (NAD^+) y NAD-fosfato ($NADP^+$) (**Figura 5.11**). NAD^+ y $NADP^+$ son transportadores de electrones y protones y transfieren cada vez $2e^-$ y $2H^+$.

El potencial de reducción del par NAD^+/NADH (o del par $NADP^+$/NADPH) es de –0,32 V, lo que lo sitúa bastante arriba en la escala electrónica; es decir, NADH (o NADPH) es un buen donador de electrones (Figura 5.10). No obstante, aunque los pares de NAD^+ y $NADP^+$ tienen los mismos potenciales de reducción, generalmente funcionan en la célula en operaciones distintas. NAD^+/NADH funciona en reacciones (catabólicas) que generan energía, mientras que $NADP^+$/NADPH opera fundamentalmente en reacciones (anabólicas) de biosíntesis.

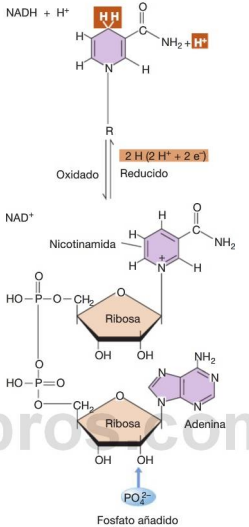


Figura 5.11 La coenzima redox nicotinamida adenín dinucleótido (NAD^+). Como se indica, en el $NADP^+$ está presente un grupo fosfato. Tanto NAD^+ como $NADP^+$ sufren oxidación y reducción tal como se señala, difunden libremente y son transportadores de $2e^- + 2H^+$. En la parte superior del esquema, «R» es la porción de dinucleótido de adenina del NAD^+, cuya estructura completa se muestra en la parte inferior de la figura.

Reciclaje del NAD/NADH

Los coenzimas favorecen la diversidad de reacciones redox en la célula al hacer posible que donadores y aceptores de electrones muy distintos puedan interaccionar, actuando el coenzima como intermediario. Por ejemplo, en el caso del NAD^+/NADH, los electrones cedidos por un donador de electrones puede reducir el NAD^+ a NADH, y el último se puede reconvertir a NAD^+ donando electrones a un aceptor. La **Figura 5.12** muestra un diagrama esquemático sobre el funcionamiento del transporte de electrones en NAD^+/NADH. En la reacción, NAD^+ y NADH facilitan la reacción redox sin consumirse en el proceso. Así, a diferencia de lo que ocurre con el donador primario de electrones (la sustancia que se oxidó para producir NADH) o con el aceptor (como el O_2), que se requieren en grandes cantidades, la célula necesita solamente pequeñas cantidades de NAD^+ y NADH porque constantemente se reciclan. Todo lo que se necesita es una cantidad suficiente para apoyar a las enzimas redox que en la célula usan estos coenzimas en sus mecanismos de reacción (Figura 5.12).

5.7 Minirrevisión

La transferencia de electrones desde un donador a un aceptor supone a menudo la participación de transportadores de electrones. Algunos de estos transportadores están unidos a membranas mientras que otros, como el NAD^+/NADH, son coenzimas que difunden libremente.

- Repase la Figura 5.10. ¿Es el NADH un donador de electrones mejor que el H_2? ¿Es el NAD^+ un aceptor de electrones mejor que el H^+? ¿Cómo se determina esto?

www.elibros.com

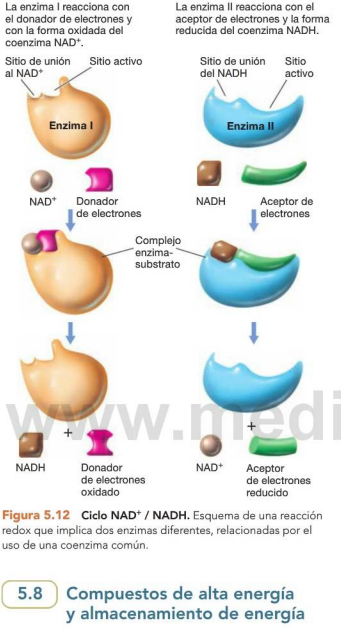


Figura 5.12 **Ciclo NAD⁺ / NADH.** Esquema de una reacción redox que implica dos enzimas diferentes, relacionadas por el uso de una coenzima común.

5.8 Compuestos de alta energía y almacenamiento de energía

La energía liberada en las reacciones redox debe conservarse en la célula para poder emplearse en el funcionamiento celular. En los organismos vivos, la energía química liberada en estas reacciones se conserva normalmente en forma de enlaces fosfato de alta energía. La energía libre liberada por la hidrólisis del fosfato en estos compuestos ricos en energía es notablemente mayor que la de un enlace covalente de tipo medio en la célula.

Los grupos fosfato se pueden unir a los compuestos orgánicos mediante enlaces éster o anhídrido, como se indica en la **Figura 5.13**. Sin embargo, no todos los enlaces de fosfato son ricos en energía. Como se señala, el valor $\Delta G^{0'}$ de la hidrólisis del enlace *éster* del fosfato en la glucosa-6-fosfato es de sólo –13.8 kJ/mol, mientras que el valor $\Delta G^{0'}$ correspondiente a la hidrólisis del enlace *anhídrido* del fosfato en el fosfoenol piruvato es de –51.6 kJ/mol, es decir, casi cuatro veces el de la glucosa-6-fosfato. Aunque ambos compuestos pueden ser hidrolizados para obtener energía, las células generalmente usan un pequeño grupo de compuestos como «monedas» de energía celular, cuyo valor $\Delta G^{0'}$ de hidrólisis es superior a –30 kJ/mol. Así, el fosfoenol piruvato se considera un compuesto de alta energía y la glucosa-6-fosfato no.

Adenosín trifosfato (ATP)

El compuesto más importante con fosfato de alta energía en los organismos vivos es el trifosfato de adenosina (adenosín trifosfato, ATP). El ATP consta del ribonucleósido adenosina al que se unen en serie tres moléculas de fosfato. El ATP actúa como moneda de energía primordial en los organismos vivos y se genera en las reacciones exergónicas para ser usado en las reacciones endergónicas. De la estructura del ATP (Figura 5.13) se puede deducir que dos de los grupos fosfato del ATP presentan enlaces fosfoanhídrido y tienen energías libres de hidrólisis superiores a 30 kJ. Por tanto, las reacciones ATP → ADP + P_i y ADP → AMP + P_i liberan en cada caso unos 32 kJ/mol de energía. Por el contrario, el AMP no es rico en energía porque su energía libre de hidrólisis es sólo la mitad de la del ATP o ADP (Figura 5.13).

Aunque la energía liberada en la hidrólisis de ATP es –32 kJ, debemos introducir aquí una advertencia para definir de modo más preciso los requerimientos de energía para la síntesis de ATP. En una célula en crecimiento activo, la relación de ATP a ADP es de casi 1000. Esta importante desviación del equilibrio afecta notablemente a los requerimientos energéticos necesarios para la síntesis de ATP. En tal célula, el gasto real de energía (es decir, la ΔG, Sección 5.4) para la síntesis de 1 mol de ATP es del orden de –55 a –60 kJ. No obstante, a efectos del aprendizaje y la aplicación de los principios básicos de bioenergética, consideraremos que las reacciones ocurren en las «condiciones estándar» ($\Delta G^{0'}$) y, por tanto, que la energía necesaria para la síntesis y la hidrólisis de ATP es la misma, 32 kJ/mol.

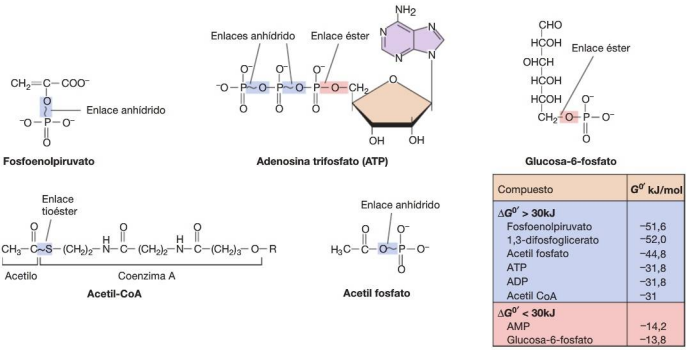
Coenzima A

Además de compuestos de alta energía con fosfato, las células producen otros compuestos ricos en energía. Estos incluyen derivados del *coenzima A* (como el acetil-CoA, cuya estructura se presenta en la Figura 5.13). Los derivados del coenzima A contienen enlaces tioéster y suministran suficiente energía libre de hidrólisis como para dirigir la síntesis de un enlace fosfato de alta energía. Por ejemplo, en la reacción:

$$\text{acetil-S-CoA} + H_2O + \text{ADP} + \text{Pi} \rightarrow \text{acetato}^- + \text{HS-CoA} + \text{ATP} + H^+$$

la energía que se libera en la hidrólisis del coenzima A se conserva en la síntesis de ATP. Los derivados del coenzima A (el acetil-CoA es tan sólo uno de ellos) son especialmente importantes en la energética de los microorganismos anaerobios, particularmente en el caso de aquellos

www.medi



Compuesto	$G^{0'}$ kJ/mol
$\Delta G^{0'}$ > 30kJ	
Fosfoenolpiruvato	−51,6
1,3-difosfoglicerato	−52,0
Acetil fosfato	−44,8
ATP	−31,8
ADP	−31,8
Acetil CoA	−31
$\Delta G^{0'}$ < 30kJ	
AMP	−14,2
Glucosa-6-fosfato	−13,8

Figura 5.13 **Algunos compuestos importantes en las transformaciones energéticas celulares.** La tabla muestra la energía libre de hidrólisis de algunos ésteres o anhídridos de fosfato esenciales, indicando que algunos enlaces de tipo éster son más energéticos que otros. Se presenta la estructura de cuatro compuestos para indicar la posición de enlaces ester y anhídrido. El ATP contiene tres fosfatos, pero sólo dos de ellos tienen energía libre de hidrólisis >30 kJ. También se muestra la estructura del coenzima acetil-CoA. El enlace tioéster entre el C y el S tiene una energía libre de hidrólisis >30 kJ. El grupo R del acetil-CoA es un grupo 3′fosfo-ADP.

www.medmbros.com

cuyo metabolismo energético depende de fermentaciones. Volveremos a considerar estos importantes compuestos en el Capítulo 21.

Almacenamiento de la energía

En la célula, el ATP es una molécula dinámica; está siendo degradada de modo continuo para permitir reacciones biosintéticas y a la vez es resintetizado mediante reacciones catabólicas. Para el almacenamiento de la energía, las células producen polímeros insolubles que luego pueden oxidarse para producir ATP.

Como ejemplos de polímeros de reserva energética en procariotas se puede citar el glucógeno y el almidón, el poli-β-hidroxibutirato y otros poli-hidroxialcanoatos, así como el azufre elemental, almacenado por muchos quimiolitótrofos del azufre a partir de la oxidación del H_2S. Estos polímeros se depositan dentro de la célula como grandes gránulos que a menudo se pueden observar por microscopía óptica o electrónica (*véase* Sección 4.10). En los microorganismos eucariotas los principales materiales de reserva son acúmulos de poliglucosa en forma de almidón (*véase* Figura 3.6) o lípidos como grasas simples (*véase* Figura 3.7). En ausencia de una fuente de energía externa, las células pueden romper estos polímeros y son capaces de hacer nuevo material celular o suministrar el bajo nivel de energía necesaria para el mantenimiento de la integridad celular, llamada *energía de mantenimiento*, cuando no está en fase de crecimiento.

5.8 Minirrevisión

La energía liberada en reacciones redox se conserva en la formación de algunos compuestos que contienen enlaces de alta energía con fosfato o azufre. El compuesto más corriente con enlace fosfato de alta energía es el ATP, que actúa como el principal transportador de energía en la célula. El almacenamiento de energía se relaciona con la formación de polímeros que pueden ser consumidos para suministrar ATP.

- ¿Cuánta energía se libera por mol de ATP convertido a ADP + P_i? ¿Y por mol de AMP convertido a adenosina + P_i?
- Señale cómo puede la célula prepararse para períodos de ayuno nutricional tras períodos de abundancia de nutrientes.

IV BASES DEL CATABOLISMO

Consideraremos ahora algunas reacciones catabólicas esenciales de la célula y cómo se conserva en los microorganismos la energía liberada en estas reacciones. Comenzamos con los procesos de fermentación y respiración y

estudiamos a continuación cómo se genera la fuerza motriz de protones. Terminaremos con una exposición de la diversidad catabólica, que es una característica importante de los microorganismos, en particular de los procariotas.

5.9 Conservación de la energía

En los quimiótrofos se conocen dos mecanismos de conservación de energía: la **fermentación** y la **respiración**. En ambos casos, la síntesis de ATP está acoplada a la liberación de energía en reacciones de oxidación-reducción. Sin embargo, las reacciones redox que ocurren en la fermentación y en la respiración difieren notablemente. En la fermentación, el proceso redox ocurre en ausencia de aceptores terminales de electrones. En la respiración, por otra parte, el oxígeno molecular o algún otro aceptor de electrones funciona como aceptor terminal de los electrones. Como veremos, la ausencia de un aceptor exógeno de electrones en la fermentación limita el rendimiento energético obtenido.

Fosforilación a nivel de sustrato y fosforilación oxidativa

Además, la fermentación y la respiración son procesos distintos en cuanto al mecanismo por el que se sintetiza ATP. En la fermentación el ATP se produce mediante un proceso llamado **fosforilación a nivel de sustrato**, en el que el ATP se forma directamente de un intermediario rico en energía durante los pasos del catabolismo de un compuesto orgánico (**Figura 5.14***a*). Esto contrasta con la **fosforilación oxidativa**, que produce ATP a expensas de la fuerza motriz de protones (Figura 5.14*b*). Una tercera forma de sintetizar ATP es mediante **fotofosforilación**, que ocurre en organismos fotosintéticos. Veremos más adelante que tanto la fotofosforilación como la fosforilación oxidativa se basan en la fuerza motriz de protones para sintetizar ATP. En la fermentación, en cambio, no interviene la fuerza motriz de protones.

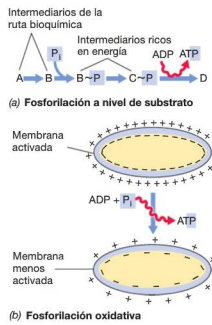


Figura 5.14 Conservación de la energía en la fermentación y en la respiración. (*a*) En la fermentación la síntesis de ATP tiene lugar como resultado de una fosforilación a nivel de sustrato. (*b*) En la respiración, la membrana citoplásmica está energéticamente activada por la fuerza motriz de protones y pierde parte de esa energía en la formación de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico (P_i) en el proceso llamado fosforilación oxidativa. El acoplamiento de la fuerza motriz de protones con la síntesis de ATP tiene lugar por medio de un complejo enzimático de membrana llamado ATP sintasa (ATPasa) (*véase* Figura 5.21).

5.9 Minirrevisión

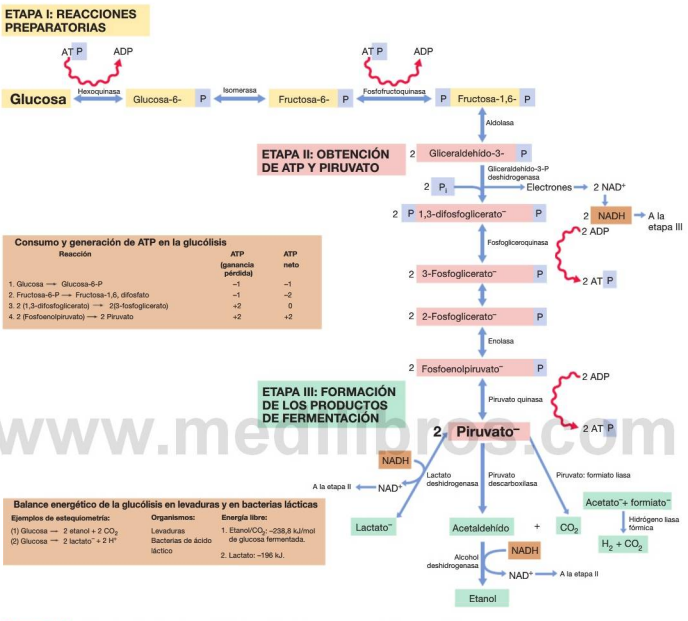
La fermentación y la respiración son dos medios por los que los quimioorganótrofos conservan la energía de la oxidación de los compuestos orgánicos. Durante estas reacciones catabólicas se produce síntesis de ATP mediante fosforilación a nivel de sustrato (fermentación) o por fosforilación oxidativa (respiración).

- ¿Qué forma de síntesis de ATP requiere la participación de la membrana citoplasmática? ¿Por qué?
- ¿En qué se diferencia la fosforilación a nivel de sustrato de la fosforilación oxidativa?

5.10 La glucólisis como ejemplo de fermentación

En una fermentación, la sustancia fermentada actúa tanto de donador de electrones como de aceptor de electrones. No todas las sustancias pueden fermentar; por ejemplo, los ácidos grasos están demasiado reducidos para ser fermentables. Sin embargo, muchos compuestos pueden ser fermentados, y un excelente ejemplo son los azúcares, especialmente las hexosas como la glucosa. Una ruta bioquímica muy usada para la fermentación de la glucosa es la **glucólisis**, también denominada vía de **Embden-Meyerhof** en atención a sus descubridores. Se conocen muchos otros tipos de fermentación, algunos de los cuales se presentan en el Capítulo 21.

La glucólisis es un proceso anaeróbico que se puede dividir en tres etapas principales, cada una de las cuales comprende una serie de reacciones enzimáticas (**Figura 5.15**). La etapa I incluye una serie de reacciones preparatorias que no implican ni oxidación ni reducción y que no liberan energía, pero que a partir de glucosa conducen a la producción de dos moléculas de un intermediario clave, el *gliceraldehído-3-fosfato*. En la etapa II ocurre un proceso redox, la energía se conserva en forma de ATP, y se forman dos moléculas de piruvato. En la etapa III



www.medilibros.com

Figura 5.15 **Ruta de Embden-Meyerhof (glucólisis).** Secuencia de reacciones enzimáticas que convierten la glucosa en piruvato y luego en productos de fermentación (las enzimas se indican en letra pequeña). El producto de la aldolasa es realmente gliceraldehído-3-P y dihidroxiacetona-P, pero esta última se convierte en gliceraldehído-3-P. Nótese que el piruvato es el centro de la glucólisis y que todos los productos de la fermentación se hacen a partir del piruvato; sólo se indican unos cuantos ejemplos frecuentes.

tiene lugar una segunda reacción redox y se originan los *productos de fermentación* (Figura 5.15).

Etapa I: reacciones preliminares

En la etapa I la glucosa es fosforilada por ATP dando lugar a glucosa-6-fosfato, que es convertida a continuación a una forma isomérica, la fructosa-6-fosfato. Mediante una segunda fosforilación se produce la fructosa-1,6-difosfato. La enzima aldolasa cataliza la ruptura de la fructosa-1,6-difosfato en dos moléculas de tres átomos de carbono, el *gliceraldehído-3-fosfato* y su isómero *dihidroxiacetona-fosfato*, que puede ser convertido a gliceraldehído-3-fosfato. Nótese que hasta ahora no ha ocurrido ninguna reacción redox y que todas las reacciones, incluyendo las del consumo de ATP, tienen lugar sin transferencia de electrones.

Etapa II: Producción de NADH, ATP y piruvato

La primera reacción redox de la glucólisis tiene lugar durante la conversión del gliceraldehído-3-fosfato a ácido 1,3-difosfoglicérico. En esta reacción (que ocurre dos veces, una por cada molécula de gliceraldehído-3-fosfato), la enzima gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa reduce al NAD^+ a NADH. Simultáneamente, cada molécula de

Los productos de fermentación por levaduras y el efecto Pasteur

Cada elaborador de vino, cerveza o productos de panadería es un microbiólogo aficionado, aunque a veces no lo sepa. Los procesos anaeróbicos de generación de energía están en la base de muchos de los descubrimientos más importantes realizados por el hombre: los alimentos fermentados y las bebidas alcohólicas (**Figura 1**).

En la producción del pan y la mayoría de las bebidas alcohólicas, se explota a la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para producir etanol y CO_2. Las levaduras, que están distribuidas en varios materiales ricos en azúcar, como zumos de frutas y néctar, pueden llevar a cabo los dos tipos opuestos de metabolismo químioorganótrofo que se exponen en este capítulo, la *fermentación* y *la respiración*. Cuando el oxígeno está presente, las levaduras crecen eficazmente sobre el azúcar formando biomasa y CO_2 (derivado del ciclo del ácido cítrico, Sección 5.13). Sin embargo, en condiciones anóxicas las levaduras cambian a un metabolismo fermentativo que origina menor cantidad de biomasa celular pero cantidades notables de alcohol y CO_2.

El microbiólogo Louis Pasteur (*véase* Sección 1.7) reconoció estos cambios metabólicos durante sus estudios sobre la fermentación. Pasteur demostró que la relación entre la glucosa consumida por una suspensión de levaduras (que él denominaba «el fermento») y el peso de las células producidas variaba en función de la concentración de oxígeno disponible; la máxima relación tenía lugar en presencia de O_2. En palabras propias de Pasteur, «el fermento pierde su capacidad fermentativa en proporción a la concentración de este gas».

Con esas palabras Pasteur describe lo que ahora se conoce como el «efecto Pasteur», un fenómeno que ocurre en cualquier organismo (incluso en el hombre) que puede fermentar o respirar la glucosa. La fermentación de la glucosa es óptima en condiciones anaerobias y es inhibida por O_2 porque la respiración proporciona mucha más energía por molécula de glucosa que la fermentación.

Figura 1 Productos importantes obtenidos por fermentación mediante la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

En la fermentación de bebidas alcohólicas se produce el efecto Pasteur. Cuando se prensan las uvas para obtener el mosto, un pequeño número de células de levaduras presentes en las uvas ya desde las viñas se transfieren al mosto. Durante los primeros días del proceso de elaboración del vino, las levaduras crecen por respiración consumiendo oxígeno, por lo que el mosto se vuelve anóxico. Las levaduras respiran la glucosa del mosto en vez de fermentarla porque obtienen más energía de la respiración de la glucosa que de su fermentación. Sin embargo, tan pronto como se acaba el oxígeno comienza la fermentación y con ello el proceso de formación de alcohol a partir de la glucosa. Este cambio del metabolismo aerobio al anaerobio es crítico y se debe tener especial cuidado en que el aire no penetre en los recipientes de fermentación.

El vino es sólo un producto de los muchos que forman las levaduras. Otros son la cerveza y las bebidas destiladas como brandy, whisky, vodka o ginebra. En las bebidas destiladas, el etanol producido en concentraciones relativamente bajas por la levadura (10-15% en volumen) se concentra por destilación hasta un 40-60%. Incluso se produce alcohol por levaduras como combustible para motores en algunas partes del mundo donde hay mucho azúcar pero poco petróleo (como Brasil). En Estados Unidos, el etanol se emplea como un disolvente industrial y como combustible, a partir de almidón de maíz como origen de la glucosa. Las levaduras también se usan como agentes fermentativos para hacer levantar la masa en la elaboración del pan, aunque en este caso lo importante no es el alcohol sino el CO_2, el *otro* producto de la fermentación alcohólica (Figura 5.15). Estudiaremos las levaduras y sus productos con cierto detalle en el Capítulo 25. El CO_2 levanta la masa y el alcohol que se produce se volatiliza durante el proceso de calentamiento.

Podemos por tanto percibir cómo las células de levaduras, forzadas a desarrollar un estilo de vida fermentativo debido a la ausencia del oxígeno que necesitan para respirar, han impactado en la vida de los seres humanos. Las sustancias que desde el punto de vista fisiológico son productos de desecho de la ruta glucolítica, el etanol y el CO_2, son respectivamente los ingredientes clave en la fabricación de las bebidas alcohólicas y en la industria panadera.

www.medilibros.com

gliceraldehído-3-fosfato es fosforilada por la adición de una molécula de fosfato inorgánico. Esta reacción, en la que el fosfato inorgánico se convierte a forma orgánica, prepara el escenario para la conservación de la energía por fosforilación a nivel de sustrato. La formación de ATP es posible porque el ácido 1,3-difosfoglicérico es un compuesto de alta energía (*véase* Figura 5.13). La síntesis de ATP tiene lugar (1) cuando cada molécula de ácido 1,3-difosfoglicérico se convierte en ácido 3-fosfoglicérico y (2) cuando más tarde cada molécula de fosfoenolpiruvato se convierte en piruvato (Figura 5.15).

En la glucólisis se consumen *dos* moléculas de ATP (Fase I) y se sintetizan *cuatro* moléculas de ATP (Fase II). Por tanto, la *ganancia neta* en la glucólisis es de dos moléculas de ATP por cada molécula de glucosa fermentada.

Etapa III: Consumo de NADH y producción de productos de fermentación

Durante la formación de dos moléculas de ácido 1,3-difosfoglicérico, se reducen dos moléculas de NAD^+ a NADH (Figura 5.15). Sin embargo, como se ha expuesto anteriormente (Sección 5.7 y Figura 5,12), el NAD^+ es sólo un transportador de electrones y no un aceptor terminal. Por tanto, el NADH producido a partir de la NAD^+ en la glucólisis debe oxidarse otra vez a NAD^+ para que la glucólisis pueda continuar, y esto lo realizan enzimas que reducen el piruvato a los productos de fermentación (Figura 5.15). En el caso de las levaduras, el piruvato se reduce a etanol y se libera CO_2. En las bacterias del ácido láctico, el piruvato se reduce a lactato (ver parte inferior de la Figura 5.15). Se conocen muchas otras posibilidades para la oxidación del piruvato en la glucólisis, pero el resultado final es el mismo; el NADH se reoxida a NAD^+ durante el proceso.

En cualquier proceso que produzca energía, las oxidaciones deben acompañarse de reducciones y debe haber un aceptor de electrones por cada electrón cedido. En este caso, la reducción del NAD^+ en un paso enzimático de la glucólisis se equilibra con su oxidación en otro paso. Los productos finales deben estar también en equilibrio redox con el sustrato inicial, la glucosa. De aquí que los productos que se generan, etanol más CO_2 o lactato más protones, estén en equilibrio atómico y electrónico con la glucosa inicial (Figura 5.15).

Fermentación de la glucosa: resultados netos y aplicación práctica

En la glucólisis hay consumo de glucosa, síntesis neta de dos ATP y formación de productos de fermentación. Para el organismo, el producto importante es el ATP, que usa en multitud de reacciones que requieren energía, y los otros productos de fermentación son meros productos de desecho. Sin embargo, estos últimos no son considerados como tales por los destiladores, cerveceros, productores de derivados lácteos o panaderos (*véase* en Información adicional «Los productos de fermentación por levaduras y el efecto Pasteur»). Por todo ello, la fermentación no es sólo un proceso que produce energía, sino un medio de obtener productos naturales que son de utilidad para el consumo humano. En el Capítulo 25, expondremos con más detalle la formación de productos industriales por fermentación.

5.10 Minirrevisión

La glucólisis es la ruta de fermentación más importante y es un modo de metabolismo anaeróbico ampliamente distribuido. El resultado final de la glucólisis es la liberación de una pequeña cantidad de energía que se conserva como ATP y la formación de productos de fermentación. Por cada molécula de glucosa que se consume en la glucólisis se producen dos moléculas de ATP.

- ¿Qué reacciones de la glucólisis implican oxidaciones y reducciones?
- ¿Cuál es el papel del NAD^+/NADH en la glucólisis?
- ¿Por qué se forman los productos de fermentación durante la glucólisis?

5.11 La respiración y los sistemas de membrana transportadores de electrones

www.elibros.com

La fermentación ocurre anaeróbicamente en ausencia de aceptores de electrones externos y se libera sólo una pequeña cantidad de energía, sintetizándose en consecuencia unas pocas moléculas de ATP. En cambio, si está presente el O_2 o cualquier otro aceptor terminal, la generación de los productos de la fermentación es innecesaria y la glucosa puede oxidarse por completo hasta CO_2. Cuando esto ocurre, es posible obtener un rendimiento más alto de ATP. El proceso por el que un compuesto se oxida usando O_2 como aceptor terminal de electrones se llama *respiración aerobia*.

Nuestra exposición sobre la respiración aerobia se centrará tanto en las transformaciones que afectan al carbono como a las reacciones redox, y tratará sobre dos aspectos: (1) el modo en que los electrones son transferidos desde el compuesto orgánico hasta el aceptor terminal de electrones y (2) las vías bioquímicas implicadas en la transformación del carbono orgánico a CO_2. Durante el primer proceso se produce síntesis de ATP a expensas de la fuerza motriz de protones (Figura 5.14*b*). Comenzaremos con la exposición del transporte de electrones, es decir, el conjunto de reacciones que conduce a la fuerza motriz de protones.

Sistemas transportadores de electrones

Los sistemas de transporte de electrones están asociados a membranas. Estos sistemas tienen dos funciones básicas. Primero, aceptan electrones de un donador y los transfieren a un aceptor terminal. Segundo, estos sistemas con-

servan parte de la energía liberada durante el transporte de los electrones y la usan para la síntesis de ATP.

Existen varios tipos de enzimas de oxido-reducción implicados en el sistema de transporte de electrones, que incluyen *NADH deshidrogenasas, flavoproteínas, proteínas con hierro y azufre* y *citocromos*. Además, otra clase de transportadores no proteicos son las *quinonas*. Estos transportadores se disponen en la membrana según sus potenciales crecientes de reducción positivos, con la NADH deshidrogenasa en primer lugar y los citocromos al final (*véase* Figura 5.20).

Las NADH deshidrogenasas son proteínas unidas a la cara interna de la membrana citoplasmática. Poseen un sitio activo que se une al NADH y aceptan $2e^- + 2\ H^+$ cuando NADH se convierte en NAD^+ (Figuras 5.11 y 5.12). Los $2e^- + 2\ H^+$ se pasan luego al siguiente transportador de la cadena, las flavoproteínas.

Las flavoproteínas contienen un derivado de la vitamina riboflavina (**Figura 5.16**). La porción flavínica, que está unida a una proteína, actúa como grupo prostético que alternativamente se reduce cuando acepta electrones y protones y se oxida cuando cede electrones al siguiente transportador de la cadena. Hay que destacar que las flavoproteínas *aceptan* $2e^- + 2\ H^+$ y *ceden* sólo electrones; más tarde consideraremos lo que sucede con los protones. En las células se encuentran normalmente dos tipos de flavinas, flavín mononucleótido (FMN) (Figura 5.16) y flavín-adenín dinucleótido (FAD), en el que el FMN se une a la ribosa y a la adenina mediante un segundo fosfato. La riboflavina, también denominada vitamina B_2, es un factor de crecimiento que necesitan algunos organismos.

Los citocromos son proteínas que contienen grupos prostéticos hemo (**Figura 5.17**). Los citocromos sufren

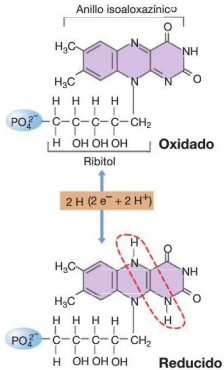


Figura 5.16 Flavín mononucleótido (FMN), un transportador de átomos de hidrógeno. El sitio de oxidación-reducción (marcado en el círculo rojo) es el mismo en el FMN y en el flavín-adenín dinucleótido (FAD).

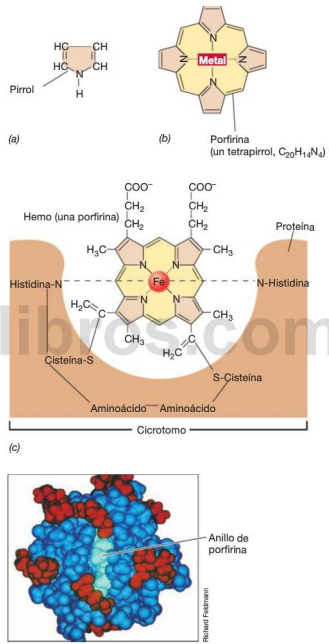


Figura 5.17 Citocromo y su estructura. (*a*) Estructura del anillo pirrólico. (*b*) Condensación de cuatro anillos pirrólicos para formar el anillo porfirínico. (*c*) En el citocromo *c*, el anillo porfirínico está covalentemente unido a la proteína mediante puentes disulfuro de moléculas de cisteína. (*d*) Modelo del citocromo *c* generado por computadora. La proteína rodea por completo el anillo de porfirina situado en el centro (color claro). Los citocromos transportan sólo electrones; el sitio redox es el átomo de hierro que alterna entre los estados de oxidación Fe^{2+} y Fe^{3+}.

www.medilibros.com

oxidaciones y reducciones mediante la pérdida o ganancia de electrones aislados por parte del átomo de hierro situado en el grupo hemo del citocromo:

$$\text{Citocromo-}\ Fe^{2+} \longleftrightarrow \text{citocromo-}\ Fe^{3+} + e^-$$

Existen varias clases de citocromos que se diferencian por sus potenciales de reducción (Figura 5.10). Las diferentes clases de citocromos se designan por letras, como citocromo *a*, citocromo *b*, citocromo *c*, etc., dependiendo del tipo de grupo hemo que contengan. Los citocromos de una clase determinada en un organismo puede ser ligeramente diferente de los de otro, y por eso dentro de la misma clase existen designaciones como a_1, a_2, a_3, etc. Ocasionalmente, los citocromos pueden formar complejos con otros citocromos o con proteínas con hierro y azufre. Un ejemplo es el citocromo bc_1, que contiene dos citocromos de tipo *b* y uno de tipo *c*. Como veremos, el citocromo bc_1 juega un papel importante en el metabolismo energético.

En las cadenas de transporte de electrones, además de los citocromos, donde el hierro está unido al hemo, existen algunas proteínas con hierro que no contienen hemo pero que presentan hierro y azufre. Estas proteínas tienen agrupaciones de átomos de hierro y azufre en varias proporciones, siendo Fe_2S_2 y Fe_4S_4 las asociaciones más frecuentes. Los átomos de hierro se unen a azufre libre y a la proteína mediante los átomos de azufre de unidades de cisteína (**Figura 5.18**). La *ferredoxina*, que es un ejemplo de estas proteínas en los sistemas biológicos, tiene una configuración Fe_2S_2.

Los potenciales de reducción de las proteínas con hierro y azufre varían en un amplio margen dependiendo del número de átomos de hierro y azufre y de cómo están embebidas en la proteína las agrupaciones de hierro. Por tanto, diferentes proteínas de este tipo pueden funcionar en diferentes puntos del proceso de transporte de electrones. Como los citocromos, las proteínas con hierro y azufre transportan solamente electrones.

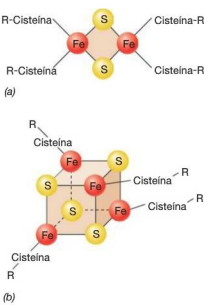


Figura 5.18 Disposición de los núcleos con hierro y azufre en las proteínas ferro-sulfuradas no hémicas. (*a*) Centro Fe_2S_2. (*b*) Centro Fe_4S_4. Los enlaces de cisteína derivan de la porción proteica de la molécula.

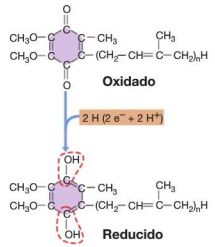


Figura 5.19 Estructura de las formas oxidadas y reducidas del coenzima Q, una quinona. La unidad de cinco carbonos en la cadena lateral (un isoprenoide) ocurre en múltiplos. En procariotas, lo más común es n = 6 y en eucariotas es n = 10. Nótese que las quinonas oxidadas requieren 2 e^- y 2H^+ para reducirse por completo (círculo rojo discontinuo). Una forma intermedia, la semiquinona (con un H más que la forma oxidada) se forma durante la reducción.

Las quinonas (**Figura 5.19**) son moléculas no proteicas altamente hidrofóbicas que participan en el transporte de electrones. Algunas quinonas bacterianas están relacionadas con la vitamina K, que es un factor de crecimiento en los animales superiores. Como las flavoproteínas, las quinonas actúan como aceptores de $2e^- + 2\ H^+$ y sólo transfieren electrones al siguiente transportador de la cadena.

5.11 Minirrevisión

Los sistemas de transporte de electrones contienen una serie de transportadores asociados a membrana que funcionan de modo cooperativo transportando electrones desde donadores de electrones hasta el oxígeno como aceptor terminal.

- ¿De qué modo importante se diferencia una quinona de otros transportadores de electrones en la membrana?
- ¿Qué transportadores de electrones descritos en esta sección aceptan $2e^- + 2\ H^+$? ¿Cuáles aceptan sólo electrones?

5.12 Respiración y fuerza motriz de protones

La producción de ATP por fosforilación oxidativa está directamente ligada a un estado energético de la membrana. Este estado se establece por reacciones de transporte de electrones con los transportadores que hemos indicado; consideraremos ahora los detalles de cómo ocurre esto.

La fuerza motriz de protones

Para entender el modo en que el transporte de electrones determina la síntesis de ATP debemos considerar antes la orientación del sistema de transporte de electrones en la membrana citoplasmática. Los transportadores de electrones se orientan en la membrana de modo que durante el proceso del transporte tiene lugar una separación de protones y electrones a través de la membrana. Dos electrones y dos protones, procedentes del NADH, entran en la cadena para iniciar el proceso. Los transportadores de la cadena de transporte de electrones se disponen en la membrana según sus potenciales crecientes de reducción positivos, con el transportador final de la cadena donando electrones y protones a un aceptor terminal de electrones, como el O_2 (**Figura 5.20**). Durante este proceso algunos protones se liberan al medio, causando una ligera acidificación de la cara externa de la membrana. Estos protones se originan de dos fuentes: (1) NADH y (2) la disociación del H_2O en H^+ y OH^- en el citoplasma. La expulsión de H^+ al medio causa que los OH^- se acumulen en el interior de la membrana. Pese a su pequeño tamaño, como presentan carga, ni H^+ ni OH^- pueden atravesar libremente la membrana (*véase* Sección 4.3) y, en consecuencia, no se puede restaurar espontáneamente el equilibrio.

El resultado final es la generación de un gradiente de pH y de un potencial electroquímico a través de la membrana (Figura 5.20). La superficie *interna* citoplásmica será eléctricamente negativa y alcalina y la superficie *externa* de la membrana estará cargada positivamente y será ácida. Este gradiente de pH y potencial electroquímico, llamado en conjunto la **fuerza motriz de protones**, origina que la membrana posea un cierto estado energético, como si fuera una batería. Parte de esta energía puede ser conservada formando ATP. Además de síntesis de ATP, el estado energético de la membrana también puede generar trabajo, como el transporte de iones, la rotación de los flagelos y muchas otras reacciones que requieren energía en la célula.

A continuación, expondremos las reacciones individuales de transporte de electrones que llevan a la formación de la fuerza protomotriz.

Generación de la fuerza motriz de protones: Complejos I y II

La fuerza motriz de protones deriva de las actividades de las enzimas flavínicas, las quinonas, el complejo cito-

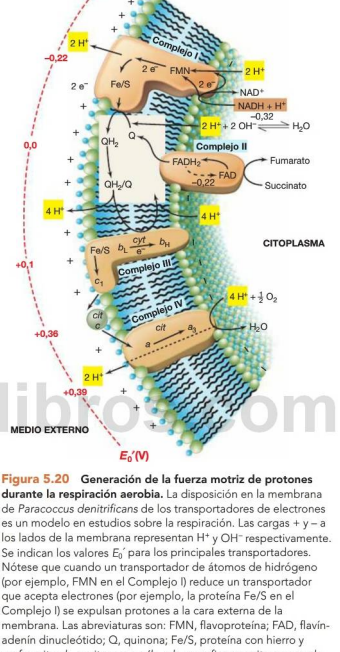


Figura 5.20 Generación de la fuerza motriz de protones durante la respiración aerobia. La disposición en la membrana de *Paracoccus denitrificans* de los transportadores de electrones es un modelo en estudios sobre la respiración. Las cargas + y – a los lados de la membrana representan H^+ y OH^- respectivamente. Se indican los valores E_0' para los principales transportadores. Nótese que cuando un transportador de átomos de hidrógeno (por ejemplo, FMN en el Complejo I) reduce un transportador que acepta electrones (por ejemplo, la proteína Fe/S en el Complejo I) se expulsan protones a la cara externa de la membrana. Las abreviaturas son: FMN, flavoproteína; FAD, flavín-adenín dinucleótido; Q, quinona; Fe/S, proteína con hierro y azufre; cit *a*, *b*, *c*, citocromos (b_L y b_H se refieren a citocromos de tipo *b* de bajo y alto potencial). A nivel de la quinona ocurre un reciclaje de electrones debido al «ciclo Q». Ello se debe a que los electrones que proceden de QH_2 se pueden dividir en el complejo bc_1 (Complejo III) entre la Fe/S-proteína y los citocromos de tipo *b*. Los electrones que pasan a través de estos últimos reducen de nuevo Q a QH_2 (en dos pasos de transferencia de un electrón), incrementando así el número de protones bombeados a nivel del sitio Q-bc_1. Los electrones que pasan a Fe/S continúan para reducir el citocromo *c* y luego los citocromos de tipo *a* en el Complejo IV, reduciendo al final el O_2 a H_2O (se requieren dos electrones y dos protones para reducir $^1/_2$ O_2 a H_2O y estos proceden de los electrones del citocromo *c* y de los protones citoplásmicos, respectivamente). El Complejo II, el complejo succinatodeshidrogenasa, evita el Complejo I y proporciona electrones directamente a las quinonas.

Filibro.com

cromo bc_1 y la citocromo oxidasa terminal. Después de la cesión de $2e^- + 2\ H^+$ del NADH al FAD, se liberan $2\ H^+$ a la superficie externa de la membrana cuando el FADH cede $2e^-$ a una proteína con hierro no hémico que forma parte del *Complejo I* mostrado en la Figura 5.20. Estos transportadores se denominan complejos porque en realidad están formados por varias proteínas de membrana. Por ejemplo, el Complejo I de *Escherichia coli* contiene 14 proteínas distintas. El Complejo I también se denomina *NADH: quinona oxidoreductasa*, porque en la reacción el NADH se oxida y la quinona se reduce. Cuando la proteína con hierro del Complejo I reduce a la coenzima Q se toman dos protones de la disociación del agua en el citoplasma (Figura 5.20).

El *Complejo II* simplemente evita el Complejo I y pasa electrones y protones directamente de FADH a las quinonas. El Complejo II también se llama complejo de la succinato deshidrogenasa, a causa de que el sustrato específico que oxida es el succinato (un producto del ciclo del ácido cítrico, Sección 5.13). Sin embargo, como el Complejo II evita funcionalmente al Complejo I, se bombean menos protones por aquí por cada dos electrones que entran en la cadena de transporte de electrones que cuando entran a partir del NADH (Figura 5.20).

Complejos III y IV: citocromos de tipo bc_1 y *a*

El coenzima Q reducido pasa un electrón de cada vez al complejo del citocromo bc_1 que se designa como Complejo III en la Figura 5.20. El complejo del citocromo bc_1 está asociado a diversas proteínas que contienen varios hemos o centros metálicos (Figura 5.17). Éstas incluyen dos tipos de hemo b (b_L y b_H), un tipo de hemo c (c_1) y una proteína con Fe y S. El complejo bc_1 está presente en la cadena de transporte de electrones de la mayor parte de los organismos capaces de respirar. También desempeña un papel importante en el flujo electrónico fotosintético (*véanse* Secciones 20.4 y 20.5).

La principal función del complejo citocromo bc_1 es transferir electrones de las quinonas al citocromo c (Figura 5.20). Los electrones viajan del complejo bc_1 a un citocromo c que se encuentra en el periplasma. El citocromo c funciona como una lanzadera que transporta electrones a los citocromos a y a_3 de elevado potencial (*Complejo IV* en la Figura 5.20). Este último complejo constituye la oxidasa terminal del sistema y reduce el O_2 a H_2O en el paso final del transporte de electrones. El Complejo IV también bombea $2H^+$ a la superfice externa de la membrana por cada $2e^-$ consumidos en la reacción (Figura 5.20).

Además de transferir electrones al citocromo c, el complejo del citocromo bc_1 puede interaccionar también con las quinonas de modo que se bombean dos protones adicionales al sitio Q-bc_1 (Figura 5.20). Esto sucede en una serie de intercambios de electrones entre el citocromo bc_1 y Q, denominado el *ciclo Q*. Como las quinonas y bc_1 tienen aproximadamente el mismo E_0' (casi 0 V, Figura 5.20), diferentes moléculas de quinona se oxidan y reducen alternativamente entre sí usando electrones suministrados por el complejo bc_1. Este mecanismo permite como promedio que se bombee un total de $4H^+$ a la superficie externa de la membrana por cada $2e^-$ que entran en la cadena por el Complejo I (Figura 5.20).

El esquema de cadena de transporte que se ilustra en la Figura 5.20 es solamente una de las muchas secuencias de transportadores que se conocen en distintos organismos. Sin embargo, algunas propiedades son características de todas las cadenas de transporte de electrones: (1) la presencia de una serie de transportadores de electrones asociados a membrana y dispuestos en un orden que sigue el incremento de valores positivos de E_0', (2) una alternancia en la cadena de transportadores de sólo-electrones y de transportadores de electrones más protones y (3) la generación de una fuerza motriz de protones (Figura 5.20).

Como ahora veremos, ésta última característica, la fuerza motriz de protones, es la que realmente suministra ATP.

ATPasa

¿Cómo se usa la fuerza motriz de protones generada por el transporte de electrones (Figura 5.20) para sintetizar ATP? Resulta interesante considerar que existe un fuerte paralelismo entre el mecanismo de síntesis de ATP y el mecanismo del motor que dirige la rotación del flagelo bacteriano (*véase* Sección 4.13 y Figura 4.47). De modo similar a como la fuerza motriz de protones genera un par de fuerzas al flagelo bacteriano, también ejerce fuerza a un gran complejo proteico que hace el ATP. El complejo que logra la conversión de la fuerza motriz de protones en ATP se llama **ATP sintasa**, o abreviadamente **ATPasa**.

Las ATPasas contienen dos partes funcionales, un complejo multiproteico extramembranoso llamado F_1, localizado en la cara citoplásmica de la membrana, y un canal conductor de protones, llamado F_0, que atraviesa la membrana (**Figura 5.21**). La ATPasa cataliza una reacción reversible entre ATP y ADP + P_i como se muestra en la Figura 5.21. La estructura de la ATPasa está muy conservada en todos los dominios de los seres vivos, sugiriendo que este mecanismo de generación de energía fue un invento evolutivo muy temprano (*véase* Sección 14.2).

La ATPasa es un pequeño motor biológico. El movimiento de protones a través de la subunidad F_0 induce la rotación de las proteínas c generando una torsión que se transmite a F_1 mediante las subunidades γε (Figura 5.21). En esencia, la energía se transmite a F_1 a través de la rotación acoplada de las subunidades γε. Esto causa cambios conformacionales en las subunidades β y ello constituye una energía potencial que puede ser aprovechada para hacer ATP. Los cambios conformacionales en las subunidades β permiten la unión secuencial de ADP y P_i, que se convierten en ATP cuando las subunidades β vuelven a su conformación original, liberando la energía necesaria para

Prohibida su distribución

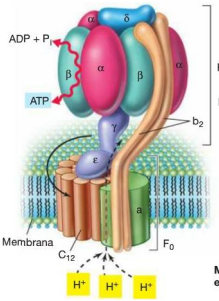


Figura 5.21 Estructura y función de la ATP sintasa (ATPasa). F_1 consta de cinco polipéptidos diferentes que forman un complejo integrado por $\alpha_3\beta_3\gamma\varepsilon\delta$. F_1 es el complejo catalítico responsable de la interconversión de ADP + P_i en ATP. F_0 está integrado en la membrana y comprende tres polipéptidos formando un complejo ab_2c_{12}. Los protones cruzan la membrana entre las subunidades a y c_{12}. La subunidad b sobresale por fuera de la membrana y forma, junto con las subunidades b_2 y δ, el estator. Cuando los protones entran, la disminución de la fuerza motriz de protones se emplea en dirigir la síntesis de ATP. La acción de la ATPasa es reversible, pues la hidrólisis de ATP puede originar la formación de una fuerza motriz de protones.

llevar a cabo el proceso. En analogía con un motor flagelar, la función primordial de los componentes $b_2\delta$ de F_1 es servir como una fijación (estator) para evitar que las subunidades α y β giren a su vez con γε, de modo que puedan ocurrir los cambios conformacionales en β.

La síntesis de ATP por la ATPasa se denomina **fosforilación oxidativa** si la fuerza motriz de protones se origina por respiración y **fotofosforilación** si se origina por reacciones fotosintéticas. Las estimaciones estequiométricas en cuanto al número de protones consumidos por cada ATP producido en cualquiera de estos tipos de fosforilación indican valores de 3 a 4.

Reversibilidad de la ATPasa

La ATPasa es reversible. La hidrólisis de ATP provoca una torsión para que γ gire en el sentido opuesto al de la síntesis de ATP, lo que ocasiona que los protones sean bombeados desde el interior al exterior celular. Esto genera una fuerza motriz de protones en lugar de disiparla. Esta reversibilidad explica por qué los organismos fermentativos que carecen de cadena de transporte de electrones y son incapaces de realizar la fosforilación oxidativa conservan no obstante la actividad ATPasa. Como hemos comentado, muchas reacciones en la célula, como la movilidad y el transporte, requieren la energía de una fuerza motriz de protones más que de ATP (*véanse* Secciones 4.5 y 4.13). Por tanto, la ATPasa en organismos que no respiran, del tipo por ejemplo de las bacterias lácticas, funciona unidireccionalmente gastando ATP para generar una fuerza motriz de protones que hace posible estas funciones celulares.

Inhibidores y agentes desacopladores

El proceso del transporte de electrones se puede estudiar con ayuda de algunos compuestos que afectan al flujo de electrones o a la fuerza motriz de protones. A este respecto, se conocen dos tipos de compuestos: los *inhibidores* y los *desacopladores*. Los inhibidores bloquean el flujo de electrones y por tanto la generación de la fuerza motriz de protones. Ejemplos de este tipo son el monóxido de carbono (CO) y el cianuro (CN^-), que se unen fuertemente a citocromos de tipo *a* e inhiben su función. Por el contrario, los desacopladores evitan la síntesis de ATP sin afectar al transporte de electrones. Algunas sustancias liposolubles, como el dinitrofenol y el dicumarol, inducen poros en la membrana y destruyen por tanto la fuerza motriz de protones y su capacidad para provocar síntesis de ATP (Figura 5.21). Por tanto, los inhibidores y los desacopladores bloquean la síntesis de ATP pero por mecanismos distintos.

5.12 Minirrevisión

Cuando los electrones se transportan por una cadena de transporte de electrones, los protones se bombean hacia el exterior de la membrana formando la fuerza motriz de protones. Los principales transportadores de electrones son las flavinas, quinonas, el complejo del citocromo bc_1 y otros citocromos, dependiendo del organismo. La célula usa la fuerza motriz de protones para hacer ATP a través de ATPasas.

- ¿Cómo generan la fuerza motriz de protones las reacciones de transporte de electrones?
- ¿Cuál es la relación de protones bombeados por cada NADH oxidado en la cadena de transporte de electrones de *Paracoccus* mostrada en la Figura 5.20? ¿En qué puntos de la cadena se establece la fuerza motriz de protones?
- ¿Qué estructura celular convierte la fuerza motriz de protones en ATP? ¿Cómo funciona?

5.13 Flujo del carbono en la respiración: el ciclo del ácido cítrico

Ahora que tenemos una idea de cómo se produce el ATP en la respiración, es necesario considerar las reacciones importantes en el metabolismo del carbono que están

asociadas con la formación de ATP. Nos centraremos en el ciclo del ácido cítrico, una vía metabólica esencial que se encuentra prácticamente en todas las células.

La respiración de la glucosa

Las etapas iniciales de la respiración de la glucosa incluyen los mismos pasos bioquímicos que en la glucólisis; todos los pasos desde la glucosa al piruvato son los mismos (Figura 5.15). Sin embargo, mientras que en la fermentación el piruvato se reduce y se convierte en productos fermentativos que después se excretan, durante la respiración el piruvato se oxida por completo a CO_2. La ruta por la que el piruvato se oxida totalmente a CO_2 se llama **ciclo del ácido cítrico** (CAC), que se resume en la **Figura 5.22**.

El piruvato se decarboxila primero originando la producción de CO_2, NADH y una sustancia rica en energía, el *acetil-CoA* (Figura 5.13). El grupo acetilo del acetil-CoA se combina con el oxalacetato, compuesto de cuatro átomos de carbono, formando ácido cítrico (Figura 5.22). A continuación se producen reacciones de hidratación, decarboxilación y oxidación, con la liberación de dos moléculas adicionales de CO_2,y la formación de tres más de NADH y una de FADH. Finalmente, el oxalacetato se regenera y puede funcionar de nuevo como aceptor de grupos acetilo completando el ciclo (Figura 5.22).

Liberación de CO_2 y suministro al transporte de electrones

Por cada molécula de piruvato que se oxida en el ciclo se producen tres de CO_2 (Figura 5.22). Además, los electrones liberados durante la oxidación enzimática de intermediarios del CAC son transferidos a enzimas que contienen el coenzima NAD^+ para formar NADH, o FAD para formar FADH. Sin embargo, la respiración difiere de la fermentación en la manera en la que el NADH y el FADH se reoxidan. En la respiración, los electrones del NADH en vez de usarse para reducir un intermediario como el piruvato, se transfieren al oxígeno o a otros aceptores terminales de electrones mediante la cadena de transporte de electrones. Por tanto, a diferencia de lo que ocurre en la fermentación, la presencia en la respiración de un aceptor terminal de electrones (O_2) permite la oxidación completa de la glucosa a CO_2 con mucha mayor producción de energía (Figura 5.22*b*). Así, mientras sólo se producen 2 ATP por glucosa fermentada en las fermentaciones alcohólica o láctica (Figura 5.15), se pueden obtener 38 ATP respirando la misma molécula hasta CO_2 (Figura 5.22).

Biosíntesis y ciclo del ácido cítrico

Además de jugar un importante papel en las reacciones catabólicas, el ciclo del ácido cítrico es también impor-

www.medilibros.com

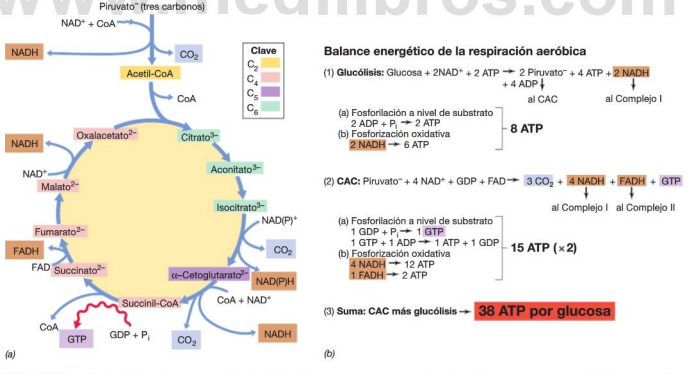


Figura 5.22 **El ciclo del ácido cítrico.** (*a*) El ciclo del ácido cítrico comienza cuando el acetil-CoA, un compuesto de dos átomos de carbono, se condensa con el oxalacetato, de cuatro átomos de carbono, para formar citrato. A través de una serie de transformaciones y oxidaciones, este compuesto de seis carbonos se convierte al final en el compuesto inicial de cuatro átomos de carbono, el oxalacetato, que comienza de nuevo el ciclo con la adición de otra molécula de acetil-CoA. (*b*) Balance global de energía (NADH/FADH) para la cadena de transporte de electrones y del CO_2 generado en el ciclo del ácido cítrico. El NADH y el FADH entran en la cadena de electrones por los Complejos I y II, respectivamente (Figura 5.20).

tante por otros motivos. El ciclo genera varios compuestos bioquímicos esenciales que pueden ser utilizados para fines biosintéticos cuando se necesitan. En este contexto, son muy importantes los intermediarios α-cetoglutarato y oxalacetato, porque son precursores de ciertos aminoácidos (Sección 5.16), y el succinil-CoA, que se necesita para formar los citocromos, la clorofila y otros compuestos tetrapirrólicos (Figura 5.17). El oxalacetato es también importante porque puede convertirse en fosfoenolpiruvato, un precursor a su vez de la glucosa. Además de éstos, el acetil-CoA representa el material de origen para la biosíntesis de ácidos grasos (Sección 5.17). Por tanto, el ciclo del ácido cítrico tiene dos funciones muy destacadas en la célula: *bioenergética* y *biosintética*. Lo mismo se puede decir acerca de la vía glucolítica, pues muchos intermediarios de tal vía se utilizan también para satisfacer necesidades biosintéticas de la célula (Sección 5.16).

5.13 Minirrevisión

La respiración es la oxidación completa de un compuesto orgánico con liberación de mucha más energía que durante la fermentación. El ciclo del ácido cítrico desempeña un papel fundamental en la respiración de compuestos orgánicos.

- ¿Cuántas moléculas de CO_2 y cuántos pares de átomos de hidrógeno se liberan por cada piruvato consumido en el ciclo del ácido cítrico?
- ¿Qué dos papeles fundamentales tienen en común el ciclo del ácido cítrico y la glucólisis?

5.14 Diversidad catabólica

Hasta ahora en este capítulo hemos considerado solamente reacciones de microorganismos quimioorganótrofos. Ahora consideraremos brevemente la diversidad catabólica, es decir, algunas alternativas al uso de los compuestos orgánicos como fuente de energía. La **Figura 5.23** resume mecanismos por los que la célula produce energía distintos a la fermentación y a la respiración aeróbica. Estos son la respiración anaerobia, la quimiolitotrofía y la fototrofía.

Respiración anaerobia

En condiciones anóxicas se pueden usar aceptores de electrones distintos del oxígeno para llevar a cabo la respiración. Estos procesos se denominan **respiración anaerobia**. Algunos aceptores de electrones utilizados en la respiración anaerobia son nitratos (NO_3^-), hierro férrico (Fe^{3+}), sulfatos (SO_4^{2-}), carbonatos (CO_3^{2-}) e incluso algunos compuestos orgánicos. Debido a sus posiciones en la escala electrónica (ninguno de estos aceptores tiene un E_0' tan electropositivo como el par O_2/H_2O) (Figura 5.10), se libera menos energía cuando se usan estos aceptores en vez de oxígeno (hay que recordar que $\Delta G^{0'}$ es proporcional a $\Delta E_0'$; Sección 5.6). Sin embargo, como el oxígeno es a menudo limitante en ambientes anóxicos, la respiración anaerobia puede ser muy importante para el crecimiento de los procariotas en dichos hábitats. La respiración anaerobia, como la respiración aerobia, depende del transporte de electrones, de la generación de una fuerza motriz de protones y de la actividad de la ATPasa.

Quimiolitotrofía

Los organismos capaces de usar compuestos inorgánicos como donadores de electrones se llaman **quimiolitótrofos**. Como ejemplo de donadores inorgánicos encontramos sulfuro de hidrógeno (H_2S), gas hidrógeno (H_2), hierro ferroso (Fe^{2+}) y amoníaco (NH_3).

El metabolismo de los quimiolitótrofos es típicamente aerobio, pero comienza con la oxidación de un donador de electrones inorgánico en vez de orgánico (Figura 5.23). Sin embargo, como los microorganismos quimioorganótrofos, los quimiolitótrofos tienen cadenas de transporte de electrones y generan fuerza motriz de protones. No obstante, una importante diferencia entre los quimiolitotrofos y los quimioorganótrofos se establece a nivel de sus fuentes de carbono para la biosíntesis. Los quimioorganótrofos usan compuestos orgánicos (como glucosa, acetato, etc.) como fuente tanto de carbono como de energía, pero los quimiolitótrofos no pueden usar como fuente de carbono sus donadores de electrones inorgánicos y utilizan CO_2, siendo por tanto **autótrofos**. En el Capítulo 20 se presentan muchos ejemplos de quimiolitotrofía

Fototrofia

Muchos microorganismos, son **fotótrofos**, es decir, usan la luz como fuente de energía en el proceso de fotosíntesis. Los mecanismos por los que la luz se usa como energía son singulares y complejos, pero el efecto final es el mismo que en la respiración: la creación de una fuerza motriz de protones que puede ser usada para la síntesis de ATP. La síntesis de ATP llevada a cabo por la luz se llama **fotofosforilación**. La mayor parte de los fotótrofos usan la energía conservada en ATP para la asimilación del CO_2 como fuente de carbono para la biosíntesis y son llamados *fotoautótrofos*. Sin embargo, algunos fotótrofos emplean compuestos orgánicos como fuente de carbono y la luz como fuente de energía y se denominan *fotoheterótrofos* (Figura 5.23).

Como se indicó en el Capítulo 2, la fotosíntesis puede ser de dos tipos: oxigénica y anoxigénica. La fotosíntesis oxigénica, realizada por cianobacterias y microorganismos relacionados, es similar a la de las plantas y desprende O_2. La fotosíntesis anoxigénica es un proceso más simple llevado a cabo por bacterias rojas y por bacterias verdes en la que no existe liberación de O_2. Las reaccio-

www.medicapanamericana.com

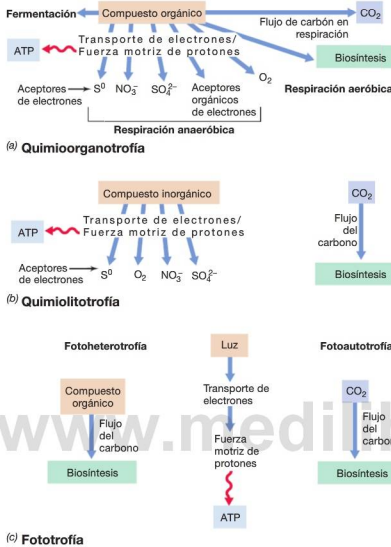


Figura 5.23 Diversidad catabólica. (*a*) Metabolismo quimioorganotrófico, (*b*) metabolismo qimiolitotrófico y (*c*) metabolismo fototrófico. Adviértase que en el metabolismo de los fotótrofos el carbono para la biosíntesis puede proceder del CO_2 (fotoautotrofía) o de compuestos orgánicos (fotoheterotrofía). Nótese también en cada caso la importancia del transporte de electrones que conduce a la fuerza motriz de protones.

www.mediLibros.com

nes que permiten la formación de la fuerza motriz de protones en ambas formas de fotosíntesis tienen mucha semejanza, como se expone en el Capítulo 20.

Fuerza motriz de protones y diversidad catabólica

Los microorganismos muestran una increíble diversidad de estrategias bioenergéticas. Miles de compuestos orgánicos, muchos compuestos inorgánicos y la luz pueden servir como fuente de energía a uno u otro microorganismo. Sin embargo, excepto en el caso de la fermentación, donde ocurre la fosforilación a nivel de sustrato, la síntesis de ATP en la respiración y en la fotosíntesis requiere la generación de una fuerza motriz de protones.

Independientemente de si los electrones proceden de la oxidación de un compuesto orgánico o inorgánico, o de procesos fotosintéticos, en todas las formas de respiración y de fotosíntesis, los electrones circulan por un sistema de transporte de electrones asociado a la membrana que está ligado a la fuerza motriz de protones a través de la ATPasa (Figura 5.21). Desde este punto de vista, la respiración aeróbica y la anaeróbica son simplemente variaciones metabólicas que emplean aceptores de electrones diferentes. De modo similar, la quimioorganotrofía, la quimiolitotrofía y la fotosíntesis son simples variaciones sobre el tema en cuanto a la diversidad de donadores de electrones. El transporte de electrones y la fuerza motriz de protones ligan todos estos procesos, convirtiendo todas estas formas de catabolismo, aparentemente tan dispares, en una estrategia común. En los Capítulos 20 y 21 volveremos a tratar este tema.

5.14 Minirrevisión

Para generar energía, pueden funcionar aceptores de electrones diferentes del oxígeno como aceptores terminales. En ausencia de oxígeno, este proceso se denomina respiración anaerobia. Los quimiolitótrofos usan compuestos inorgánicos como donadores de electrones, mientras que los fotótrofos usan la luz para

originar la fuerza motriz de protones. En todas las formas de respiración o fotosíntesis, se genera la fuerza motriz de protones.

- Diferencie entre los quimioorganótrofos y los quimiolitótrofos en cuanto a sus donadores de electrones.
- ¿Cuál es la fuente de carbono de un microorganismo autótrofo?
- Diferencie entre *fotoautótrofo* y *fotoheterótrofo*.

V BASES DEL ANABOLISMO

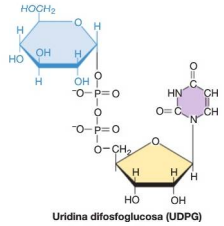
Terminamos este capítulo con algunas consideraciones sobre biosíntesis, centrándonos en la biosíntesis de las unidades individuales (azúcares, aminoácidos, nucleótidos y ácidos grasos) que forman las cuatro clases de macromoléculas. El conjunto de estos procesos se denomina **anabolismo**. En el Capítulo 7 estudiamos la síntesis de las propias macromoléculas, particularmente la de los ácidos nucleicos y las proteínas.

Detrás de los modelos metabólicos que presentamos existen muchos procesos bioquímicos detallados, pero nuestro enfoque principal son los grandes principios generales. Finalizamos esta unidad con un breve análisis de las actividades enzimáticas implicadas en estos procesos biosintéticos y su control por la célula. Para que una célula sea competitiva, debe regular su metabolismo. Esto puede realizarse de varios modos y a varios niveles, uno de los cuales es el control de la actividad enzimática, cuya importancia también expondremos.

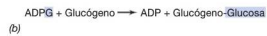
5.15 Biosíntesis de azúcares y polisacáridos

Los polisacáridos son constituyentes esenciales de las paredes celulares de muchos organismos y recordemos que en *Bacteria* el peptidoglicano de la pared celular tiene un esqueleto polisacarídico (*véase* Sección 4.6). Además, las células acumulan a menudo carbono y energía en forma de polisacáridos como almidón y glucógeno (*véanse* Secciones 3.3 y 4.10). Las unidades monoméricas de estos polisacáridos son azúcares de seis carbonos llamados *hexosas*, particularmente glucosa o derivados de glucosa. Además de las hexosas, en la célula también son comunes los azúcares de cinco carbonos llamados *pentosas*. Estos incluyen la ribosa y la desoxirribosa que están presentes en el RNA y DNA, respectivamente.

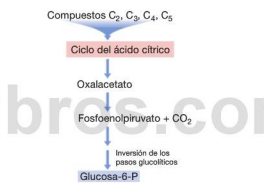
En los procariotas los polisacáridos se sintetizan a partir de uridina difosfoglucosa (UDPG, **Figura 5.24***a*) o de adenosina difosfoglucosa (ADPG), que son formas



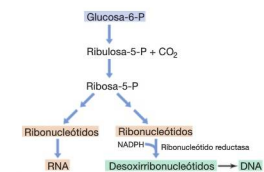
(*a*)



(*b*)



(*c*)



(*d*)

Figura 5.24 Metabolismo de azúcares. (*a*) Los polisacáridos se sintetizan a partir de formas activadas de las hexosas como UDPG. La glucosa se indica en azul. (*b*) El glucógeno se sintetiza de la adenosina-difosfoglucosa (ADPG) por adición secuencial de glucosa. (*c*) Gluconeogénesis. Cuando se necesita glucosa, se puede biosintetizar de otros compuestos carbonados, invirtiendo por lo general los pasos de la glucólisis. (*d*) Las pentosas para la síntesis de ácidos nucleicos se forman por decarboxilación de las hexosas como glucosa-6-fosfato. Los precursores de DNA se producen a partir de los precursores de RNA por la enzima ribonucleótido reductasa.

www.freelibros.com

activadas de la glucosa. ADPG es el precursor para la biosíntesis de glucógeno mientras que UDPG es el precursor de varios derivados de glucosa necesarios para la biosíntesis de otros polisacáridos celulares como el peptidoglicano o el lipopolisacárido de la membrana externa de bacterias gramnegativas (*véanse* Secciones 4.6 y 4.7).

Cuando una célula crece utilizando una hexosa como la glucosa, resulta obvio que la obtención de glucosa no supone ningún problema para la síntesis de polisacáridos. Pero cuando la célula crece sobre otros compuestos carbonados, debe sintetizar glucosa. Este proceso, llamado *gluconeogénesis*, usa como material inicial el *fosfoenolpiruvato*, que es uno de los intermediarios de la glucólisis (Figura 5.15). El fosfoenolpiruvato se puede sintetizar a partir del oxalacetato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico (Figura 5.22). Una visión general de la gluconeogénesis se expone en la Figura 5.24*c*.

Biosíntesis de pentosas

Las pentosas se forman a partir de hexosas mediante la pérdida de un átomo de carbono, por lo general como CO_2. Las pentosas que se requieren para la síntesis de ácidos nucleicos, es decir la ribosa y la desoxirribosa, se forman como se indica en la Figura 5.24*d*. La enzima ribonucleótido reductasa convierte la ribosa en desoxirribosa por reducción del carbono 2′ del anillo. Resulta interesante que esta reacción ocurre después, no antes, de la síntesis de nucleótidos, de modo que los ribonucleótidos son sintetizados en primer lugar y luego algunos de ellos se reducen a desoxirribonucleótidos que actúan como precursores de DNA.

5.15 Minirevisión

Los polisacáridos son componentes estructurales importantes de las células y se sintetizan a partir de formas activadas de sus monómeros.
La gluconeogénesis es la producción de glucosa a partir de precursores que no son azúcares.

▮ ¿Qué forma de glucosa se usa en la biosíntesis de glucógeno?

5.16 Biosíntesis de aminoácidos y nucleótidos

Los monómeros constitutivos de las proteínas y los ácidos nucleicos son los aminoácidos y los nucleótidos, respectivamente. Su biosíntesis supone a menudo largas vías con varias etapas que requieren la intervención de muchas enzimas para completarse. Analizamos aquí su biosíntesis identificando el esqueleto carbonado que es necesario para comenzar las respectivas vías biosintéticas.

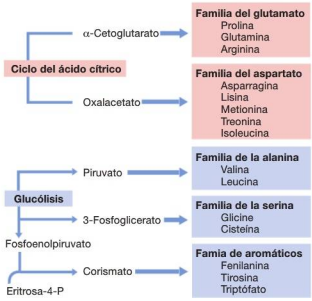


Figura 5.25 Familias de aminoácidos. La mayoría de los aminoácidos deriva del ciclo del ácido cítrico o de la glucólisis. La síntesis de aminoácidos de una familia requiere a menudo muchos pasos distintos catalizados enzimáticamente a partir del aminoácido parental (mostrado en negrita).

Monómeros de proteínas: aminoácidos

Los organismos que no pueden obtener alguno o todos los aminoácidos preformados del medio deben sintetizarlos a partir de otras fuentes. Los aminoácidos se pueden agrupar en familias relacionadas estructuralmente y que comparten etapas biosintéticas. Los esqueletos carbonados de los aminoácidos derivan casi exclusivamente de intermediarios de la glucólisis o del ciclo del ácido cítrico (**Figura 5.25**).

El grupo amino de los aminoácidos procede con frecuencia de alguna fuente nitrogenada inorgánica del medio, como el amoniaco (NH_3) que típicamente se incorpora en la formación de los aminoácidos glutamato o glutamina por las enzimas *glutamato deshidrogenasa* o *glutamina sintetasa*, respectivamente (**Figura 5.26**). Cuando existen altos niveles de amonıaco, se usa la glutamato deshidrogenasa u otra aminoácido deshidrogenasa. Sin embargo, cuando los niveles son bajos, se emplea la glutamina sintetasa, que emplea un mecanismo de reacción que consume energía (Figura 5.26*b*) y que presenta una elevada afinidad por el sustrato.

Una vez que el amonıaco se ha incorporado, puede ser a continuación transferido para formar otros compuestos nitrogenados requeridos. Por ejemplo, el glutamato puede donar su grupo amino al oxalacetato mediante una reaccion de transaminación para formar α-cetoglutarato y aspartato (Figura 5.26*c*). Alternativamente, la glutamina puede reaccionar con el α-cetoglutarato para formar dos moléculas de glutamato en una reacción catalizada por una *aminotransferasa* (Figura

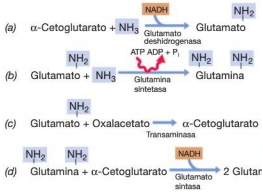


Figura 5.26 **Incorporación de amoníaco en bacterias.** Para el seguimiento del flujo del nitrógeno, el amoníaco y los grupos amino de todos los aminoácidos se indican en azul. Las dos vías principales de asimilación de NH_3 en bacterias son las catalizadas por las enzimas (*a*) glutamato deshidrogenasa y (*b*) glutamina sintetasa. (*c*) Las reacciones de transaminasa transfieren un grupo amino de un aminoácido a un ácido orgánico. (*d*) En la reacción catalizada por la enzima glutamato sintasa, se forman dos glutamatos a partir de una glutamina y de un α-cetoglutarato.

5.26*d*). El resultado final de este tipo de reacciones es la incorporación del amoníaco en varios esqueletos carbonados a partir de los cuales ocurren posteriores reacciones biosintéticas que permiten formar los 22 aminoácidos necesarios para fabricar proteínas (*véase* Figura 3.12).

Monómeros de ácidos nucleicos: nucleótidos

La biosíntesis de las purinas y las pirimidinas es bastante compleja. Las purinas se forman literalmente átomo a átomo a partir de varias fuentes carbonadas y nitrogenadas, incluyendo CO_2 (**Figura 5.27***a*). El *ácido inosínico* (Figura 5.27*b*) es el primer eslabón que actúa como precursor de los nucleótidos con purinas, adenina y guanina (*véase* Figura 3.9). Una vez que éstos se sintetizan (en su forma de trifosfatos) y se unen a la pentosa correcta, están listos para ser incorporados en DNA o RNA.

De modo análogo, el anillo de las pirimidinas también se forma a partir de varias fuentes (Figura 5.27*c*) y el primer compuesto clave es el uridilato, a partir del cual derivan las pirimidinas timina, citosina y uracilo (*véase* Figura 3.9) (Figura 5.27*d*).

5.16 Minirrevisión

Los aminoácidos se forman de esqueletos carbonados que se generan en el catabolismo, y los nucleótidos se sintetizan usando el carbono derivado de varias fuentes.

- ¿Qué forma de nitrógeno se usa normalmente para formar el grupo amino de los aminoácidos?
- ¿Cuáles son las bases nitrogenadas púricas y cuáles son las pririmidínicas?

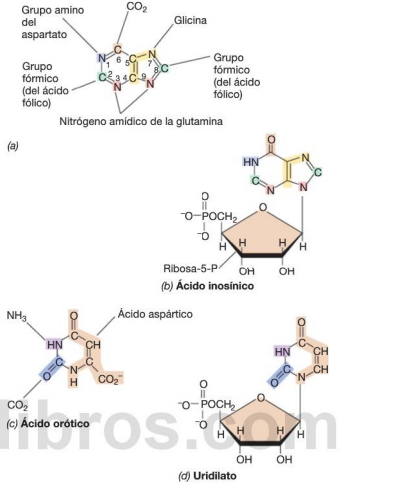


Figura 5.27 **Biosíntesis de purinas y pirimidinas.** (*a*) Precursores del esqueleto de las purinas. (*b*) Ácido inosínico, el precursor de todos los nucleótidos de purinas. (*c*) Precursor del esqueleto de las pirimidinas, el ácido orótico. (*d*) Uridilato, el precursor de todos los nucleótidos de pirimidinas. El uridilato se forma del orotato tras una decarboxilación y la adición de ribosa-5-fosfato.

5.17 Biosíntesis de ácidos grasos y lípidos

Los lípidos son constituyentes importantes de las células por ser componentes principales de las membranas. Además, los lípidos pueden ser reservas de carbono y de energía. Otros lípidos, en particular el lipopolisacárido de la membrana externa de bacterias gramnegativas (*véase* Sección 4.7), funcionan a nivel de la superficie celular. La célula produce muchos tipos diferentes de lípidos, algunos de los cuales se producen sólo bajo ciertas condiciones o tienen funciones específicas. La biosíntesis de ácidos grasos constituye, por tanto, una serie importante de reacciones en la mayoría de las células.

www.medilibros.com

Biosíntesis de ácidos grasos

Los ácidos grasos se sintetizan en bloques de dos átomos de carbono con ayuda de una pequeña proteína llamada *proteína transportadora de grupos acilo* (ACP, del inglés *acyl carrier protein*). La ACP está unida al ácido graso en crecimiento y se libera una vez que ha alcanzado la longitud adecuada (**Figura 5.28**; *véase* Figura 3.7). Aunque el ácido graso se va construyendo por bloques sucesivos de *dos* carbonos, resulta interesante que esos dos carbonos los dona cada vez un compuesto de *tres* carbonos, el malonato unido a ACP en forma de malonil-ACP. Por cada residuo de malonil que se incorpora, se libera una molécula de CO_2 (Figura 5.28).

La composición celular en ácidos grasos varía de especie a especie, y dentro de una especie determinada también puede variar en función de la temperatura (el crecimiento a baja temperatura favorece la síntesis de ácidos grasos de cadena corta y a temperatura alta la de ácidos grasos de cadena larga). Los ácidos grasos C_{12}-C_{20} son los más comunes en los lípidos de *Bacteria*.

Además de ácidos grasos saturados y de número par de átomos de carbono, los ácidos grasos pueden ser también no saturados, ramificados o contener un número impar de átomos de carbono. Los no saturados contienen uno o más dobles enlaces en la larga porción hidrofóbica de la molécula y el número y posición de estos dobles enlaces es con frecuencia específico para cada especie o grupo. El doble enlace se suele lograr por desaturación de un ácido graso saturado. Los ácidos grasos ramificados o de cadena *impar* de átomos de carbono se forman a partir de una molécula iniciadora que contiene una cadena ramificada o a partir de un grupo propionil (C_3), respectivamente.

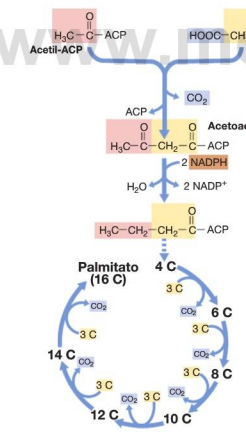


Figura 5.28 **Biosíntesis de ácidos grasos.** Se indica la síntesis del ácido graso C_{16} palmitato (*véase* Figura 3.7). ACP, proteína transportadora de grupos acilo. La condensación de acetil-ACP y malonil-ACP forma acetoacetil-CoA. Cada adición sucesiva de unidades de acetilo procede del malonil-CoA.

Lípidos

El ensamblaje final de los lípidos en bacterias y eucariotas supone la adición de los ácidos grasos a una molécula de glicerol. En el caso de los triglicéridos simples, los tres carbonos del glicerol se esterifican con ácidos grasos, pero en el caso de los lípidos complejos uno de los carbonos del glicerol contiene una molécula de fosfato, etanolamina, un azúcar o algún otro compuesto polar (*véase* Figura 3.7). En las arqueas, los lípidos contienen cadenas de fitano en vez de ácidos grasos (*véase* Sección 4.3) y la biosíntesis de fitano es distinta de lo descrito aquí para los ácidos grasos. Sin embargo, como en bacterias y eucariotas, en arqueas el tercer carbono del glicerol normalmente contiene un grupo polar de algún tipo que permite formar la típica estructura de membrana: un interior hidrofóbico con superficies hidrofílicas (*véase* Sección 4.3).

www.medilibros.com

5.17 Minirrevisión

Los ácidos grasos se sintetizan mediante bloques de dos carbonos y luego se unen al glicerol para formar lípidos. Solamente los lípidos de bacterias y eucariotas contienen ácidos grasos.

- Explique por qué los ácidos grasos se forman mediante adición de bloques de dos átomos de carbono mientras el donador de éstos contiene tres átomos de carbono.

5.18 Regulación de la actividad de enzimas biosintéticas

Hemos visto los principios básicos de la biosíntesis celular. En estos procesos anabólicos ocurren cientos de reacciones enzimáticas y muchas de las enzimas que las llevan a cabo están bajo un estricto control de regulación. La ventaja de este tipo de regulación en una vía biosintética parece clara: no se debe gastar fuente carbonada ni energía cuando un metabolito necesario ya está presente en el medio en cantidad suficiente, evitando el gasto que significa ser sintetizado por la célula.

Existen dos tipos principales de regulación en la célula, uno que controla la *cantidad* (o incluso la total ausencia o presencia) de una enzima y otra que controla la *actividad* de una enzima preexistente inactivando temporalmente la proteína. En los procariotas, la regulación del número de copias (cantidad) de una enzima dada ocurre a nivel genético y este tema será tratado después de que consideremos las bases de la biología molecular. Aquí nos centraremos en el control de la actividad de enzimas que ya existen en la célula.

La inhibición de la actividad de una enzima es consecuencia de cambios covalentes o no covalentes en la estructura de la enzima. Comenzamos con el caso simple de inhibición por retroalimentación y de isoenzimas, que son ejemplos de interacciones no covalentes, y terminaremos con el caso clásico de la modificación covalente de la enzima glutamina sintetasa.

Inhibición por retroalimentación

Un mecanismo importante para el control de la actividad enzimática es la **inhibición por retroalimentación**, que es un mecanismo para detener las reacciones de una vía biosintética completa, como la ruta de biosíntesis de un aminoácido o nucleótido. La regulación por retroalimentación ocurre porque un exceso del producto final de la vía inhibe la actividad de la *primera* enzima de esta vía. La inhibición del primer paso silencia de modo eficaz toda la vía porque no se generan intermediarios para otras enzimas que actúan posteriormente en la vía (**Figura 5.29**). Sin embargo, la inhibición por retroalimentación es reversible y cuando los niveles del producto final son de nuevo limitantes su síntesis se reinicia.

¿Cómo puede el producto final de una vía inhibir la actividad de una enzima cuyo sustrato no guarda relación estructural con él? Es posible porque la enzima inhibida es una **enzima alostérica**. Tales enzimas tienen dos sitios

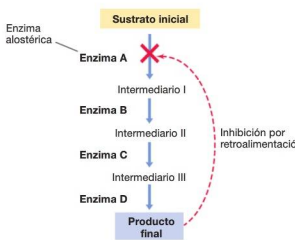


Figura 5.29 Inhibición de la actividad enzimática por retroalimentación. La actividad de la primera enzima de la vía es inhibida por el producto final, bloqueando así la producción del producto final.

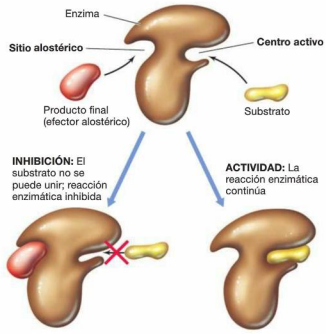


Figura 5.30 Alosterismo, el mecanismo de inhibición enzimática por el producto final de una vía. Cuando el producto final se combina con el sitio alostérico, se altera la conformación de la enzima de modo que el sustrato ya no se une al centro activo.

de unión, el sitio activo, que une el sustrato (Sección 5.5), y el sitio alostérico, que une reversiblemente el producto final de la vía. Cuando el producto final se une al sitio alostérico, la conformación de la enzima cambia de modo que el sustrato ya no se puede unir al sitio activo (**Figura 5.30**). Cuando la concentración del producto final comienza a descender en el citoplasma, la enzima vuelve a su forma catalítica y recobra su actividad.

Isoenzimas

Algunas vías biosintéticas controladas mediante inhibición por retroalimentación emplean *isoenzimas* («iso» significa igual), que son enzimas diferentes que catalizan la misma reacción pero que están sujetas a diferentes controles de regulación. Un ejemplo es la síntesis de los aminoácidos aromáticos tirosina, triptófano y fenilalanina en *Escherichia coli*.

La enzima 3-deoxi-D-arabino-heptulosonato 7-fosfato (DAHP) sintasa juega un papel central en la biosíntesis de aminoácidos aromáticos (**Figura 5.31**). En *E. coli*, hay tres isoenzimas DAHP sintasas que catalizan la primera reacción de esa vía, y cada una es regulada independientemente por sólo uno de los aminoácidos que son productos terminales. Sin embargo, a diferencia del ejemplo de inhibición por retroalimentación, donde el producto final inhibe por completo la actividad enzimática, en el caso de la DAPH sintasa, la actividad disminuye de forma escalonada; la actividad enzimática cae a cero cuando *los tres* productos están presentes en exceso. Algunos orga-

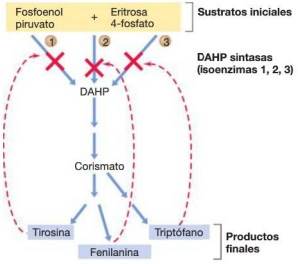


Figura 5.31 **Isoenzimas e inhibición por retroalimentación.** La vía que conduce a la síntesis de aminoácidos aromáticos contiene tres isoenzimas de DAHP sintasa. Cada una de estas tres enzimas es específicamente inhibida por retroalimentación por uno de los aminoácidos aromáticos. Se requiere un exceso de los tres aminoácidos para bloquear completamente la síntesis de DAHP.

nismos usan una única enzima para lograr lo mismo, y en ellos ocurre una inhibición por retroalimentación *concertada*. Cada producto final inhibe la actividad enzimática sólo parcialmente. La inhibición completa se logra sólo cuando los tres productos finales están en exceso.

Regulación enzimática por modificación covalente

Algunas enzimas biosintéticas están reguladas por modificación covalente, generalmente por unión o eliminación de alguna pequeña molécula de la proteína. Como en las proteínas alostéricas, la unión de la pequeña molécula cambia la conformación de la proteína, inhibiendo su actividad catalítica. La eliminación de la molécula devuelve el estado activo a la enzima. Los modificadores más comunes son los nucleótidos adenosina-monofosfato (AMP) y adenosina-difosfato (ADP), el fosfato inorgánico (PO_4^{2-}) y los grupos metilo (CH_3). Aquí consideraremos el caso bien estudiado de la glutamina sintetasa (GS), una enzima que es clave en la asimilación del amonífaco (**Figura 5.32** y Figura 5.26*b*) y cuya actividad es modulada por *adenilación*, es decir, la adición de AMP.

Cada molécula de GS se compone de 12 subunidades idénticas, y cada subunidad puede ser adenilada. Cuando la enzima está completamente adenilada (con 12 grupos AMP) es inactiva. Cuando está parcialmente adenilada es parcialmente activa. Si en la célula aumenta el nivel de glutamina, GS se adenila gradualmente y su actividad disminuye. Cuando esos niveles disminuyen, GS se desadenila y su actividad aumenta otra vez (Figura 5.32).

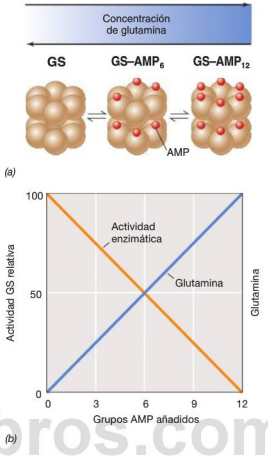


Figura 5.32 **Regulación de la glutamina sintetasa por modificación covalente.** (*a*) Cuando las células crecen en un medio rico en nitrógeno fijado, la glutamina sintetasa (GS) se modifica covalentemente por adenilación progresiva; se pueden añadir hasta 12 grupos adenilo (AMP). Cuando el medio es pobre en nitrógeno, los grupos se eliminan formándose ADP. (*b*) Las subunidades de GS adeniladas son enzimáticamente inactivas, y la actividad GS global disminuye a medida que se adenilan más subunidades. *Véase* la Figura 5.26*b* para consultar la reacción llevada a cabo por la glutamina sintetasa.

Otras enzimas celulares añaden o eliminan grupos AMP de la molécula de GS y estas enzimas están a su vez controladas por los niveles de amonífaco en la célula. ¿Por qué existe esta regulación tan elaborada sobre el enzima GS? La actividad de GS requiere ATP (Figura 5.26*b*), y la asimilación del nitrógeno es un proceso importante para la célula. Sin embargo, cuando hay altos niveles de amonífaco en la célula, éste puede ser asimilado en aminoácidos mediante enzimas que no consumen ATP (Figura 5.26*a*); en tales condiciones GS permanece inactiva. Cuando los niveles de amonífaco son muy bajos GS es necesaria y entonces se hace catalíticamente activa. Empleando GS para asimilar el amonífaco sólo cuando está presente a bajos niveles, la célula conserva ATP que sería empleado innecesariamente si GS fuera activa en presencia de altos niveles de amonífaco.

www.ebooklibros.com

5.18 Minirrevisión

Un mecanismo para modular la actividad de una enzima es la inhibición por retroalimentación, por la que el producto final de una vía biosintética inhibe la primera enzima específica de dicha vía. Un segundo modo de regulación es el empleo de isoenzimas, y otro la modificación covalente reversible.

- ¿Qué es una inhibición por retroalimentación?
- ¿Qué es una enzima alostérica?
- ¿Qué hace la adenilación a la actividad de enzimática de la glutamina sintetasa?

Glosario de términos

Aceptor de electrones: una sustancia que puede aceptar electrones de otra sustancia y que se reduce durante el proceso.

Adenosina trifosfato (ATP): nucleótido que es la principal forma en que las células conservan y utilizan la energía química.

Anabolismo: la suma total de todas las reacciones biosintéticas de la célula.

ATP Sintasa (ATPasa): complejo enzimático multiproteico anclado en la membrana que cataliza la síntesis de ATP acoplada a un gasto de fuerza motriz de protones.

Autótrofo: un organismo capaz de biosintetizar todo el material celular a partir del CO_2 como única fuente de carbono.

Catabolismo: conjunto de reacciones bioquímicas que conducen a la producción de energía utilizable por la célula (normalmente ATP).

Catalizador: una sustancia que acelera una reacción química pero que no se consume en la reacción.

Ciclo del ácido cítrico: una serie de reacciones en ciclo que dan como resultado la conversión del acetato en dos moléculas de CO_2.

Coenzima: una pequeña molécula no proteica que participa en una reacción catalítica como parte de una enzima.

Cultivo puro: un cultivo microbiano que contiene una única clase de microorganismo.

Donador de electrones: una sustancia que puede ceder electrones a un aceptor y que se oxida durante el proceso.

Endergónica: que requiere energía.

Energía de activación: es la energía requerida para llevar al sustrato a un estado reactivo.

Energía libre (G): energía disponible para la realización de un trabajo; $G^{0'}$ es la energía libre en condiciones estandar.

Enzima: una proteína que tiene la capacidad de acelerar (catalizar) una reacción química específica.

Enzima alostérica: enzima que además del sitio activo contiene un sitio alostérico para unir una molécula efectora.

Estéril: que carece de todo tipo de microorganismos, incluyendo los virus.

Exergónica: que libera energía.

Fermentación: catabolismo anaeróbico en el que un compuesto orgánico sirve al mismo tiempo como donador y como aceptor de electrones y en el que el ATP se produce por fosforilación a nivel de sustrato.

Fosforilación a nivel de sustrato: producción de ATP por transferencia directa de una molécula de fosfato de alta energía desde un compuesto orgánico fosforilado hasta ADP.

Fosforilación oxidativa: producción de ATP a expensas de la fuerza motriz de protones generada por el transporte de electrones de donadores orgánicos o inorgánicos.

Fotofosforilación: producción de ATP mediante la fuerza motriz de protones formada por reacciones fotosintéticas.

Fotótrofos: organismos que usan la luz como fuente de energía.

Fuerza motriz de protones: un estado energético de la membrana que deriva de la separación de la carga y de protones e iones hidróxilo a través de la membrana.

Glucólisis: ruta bioquímica mediante la cual se fermenta la glucosa para producir energía (ATP) y varios productos resultantes de la fermentación. También se denomina ruta de Embden-Meyerhof.

Inhibición por retroalimentación: proceso en el que el exceso de producto final de un proceso de múltiples etapas inhibe la actividad de la enzima que actúa en el primer paso del proceso.

Medio complejo: un medio de cultivo compuesto de sustancias digeridas, no definidas químicamente, como extractos de levadura o de carne.

Medio de cultivo: una solución acuosa de varios nutrientes adecuada para el crecimiento de microorganismos.

Medio definido: un medio de cultivo cuya composición química exacta es conocida.

Metabolismo: la suma total de todas las reacciones químicas que ocurren en una célula.

Potencial de reducción (E_0'): la tendencia intrínseca (medida en voltios) de una sustancia para donar electrones.

Quimiolitótrofos: organismos que pueden crecer usando compuestos inorgánicos como donadores de electrones en la energía del metabolismo.

Respiración: proceso en el que un compuesto es oxidado con O_2 (o un sustituto de O_2), que funciona como aceptor terminal de electrones, y que normalmente se acompaña de producción de ATP por fosforilación oxidativa.

Respiración anaeróbica: forma de respiración en ausencia de oxígeno donde se reducen aceptores de electrones alternativos.

Sideróforos: agentes quelantes de hierro que pueden unir hierro presente en muy bajas concentraciones.

Técnica aséptica: conjunto de manipulaciones utilizadas para evitar contaminaciones durante el manejo de objetos estériles o de cultivos microbianos.

www.elsolucionario.com

Preguntas de repaso

1. ¿Por qué el carbono y el nitrógeno son macronutrientes y el cobalto es un micronutriente (Sección 5.1)?
2. ¿Qué son los sideróforos y para qué se usan (Sección 5.1)?
3. ¿Por qué el siguiente medio no puede ser considerado un medio definido: glucosa, 5 g; NH_4Cl, 1 g; KH_2PO_4, 1 g; $MgSO_4$, 0,3 g; extracto de levadura, 5 g; agua destilada, 1 litro (Sección 5.2)?
4. ¿Qué es una técnica aséptica y para qué resulta necesaria (Sección 5.3)?
5. Describa cómo calcularía el valor $\Delta G^{0'}$ en la reacción: glucosa + $6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$. Si se le dijera que esta reacción es muy exergónica, ¿cual sería el signo de $\Delta G^{o'}$ (negativo o positivo) (Sección 5.4)?
6. Diferencie entre $\Delta G^{0'}$, ΔG y ΔG^0_f (Sección 5.4).
7. ¿Para qué necesita la célula enzimas (Sección 5.5)?
8. Describa diferencias entre coenzima y grupo prostético (Sección 5.5).
9. La siguiente lista es una serie de donadores y aceptores de electrones acoplados. Usando los datos de la Figura 5.10, ordene esta serie en función de la energía producida de mayor a menor: H_2/Fe^{3+}, H_2S/O_2, metanol/NO_3^- (produciendo NO_2^-), H_2/O_2, Fe^{2+}/O_2, NO_2^-/Fe^{3+}, H_2S/NO_3^- (Sección 5.6)
10. ¿Cuál es el potencial de reducción del par NAD^+/NADH (Sección 5.7)?
11. ¿Por qué el acetil fosfato es un compuesto rico en energía y la glucosa-6-fosfato no lo es (Sección 5.8)?
12. ¿Cómo se produce ATP en la fermentación y en la respiración (Sección 5.9)?
13. ¿Dónde se produce NADH en la glucólisis y dónde se consume (Sección 5.10)?
14. ¿Qué es necesario para reducir la NAD^+ a NADH? ¿Y para reducir el citrocromo $bc_{1\text{-oxidado}}$ a $bc_{1\text{-reducido}}$ (Sección 5.11)?
15. Comente el significado del término fuerza motriz de protones y por qué este concepto es tan importante en biología (Sección 5.12).
16. ¿Cómo se utiliza la energía rotacional de la ATPasa para producir ATP (Sección 5.12)?
17. El dinitrofenol y el cianuro actúan como venenos celulares de modo muy diferente. Compare y diferencie los modos de acción de estos dos compuestos (Sección 5.12).
18. Repase el balance energético de la fermentación y de la respiración definiendo todos los pasos que permiten síntesis de ATP. Los organismos pueden obtener aproximadamente 20 veces más de ATP cuando crecen aeróbicamente sobre glucosa que por fermentación. Escriba una frase que explique esta diferencia (Sección 5.13).
19. ¿Por qué se dice que el ciclo del ácido cítrico desempeña dos funciones importantes en la célula (Sección 5.13)?
20. Señale diferencias en lo que respecta al donador de electrones y a la fuente de carbono que utilizan *Escherichia coli* y el quimiolitótrofo *Thiobacillus thioparus* (Sección 5.14 y Tabla 5.4).
21. ¿Qué dos vías catabólicas proporcionan el esqueleto carbonado para la biosíntesis de azúcares y de aminoácidos (Sección 5.15 y 5.16)?
22. Describa el proceso por el que se sintetiza en la célula un ácido graso saturado lineal como el palmitato (C_{16}) (Sección 5.17).
23. Compare la regulación de la DAPH sintasa y de la glutamina sintetasa (Sección 5.18).

www.medilibros.com

Ejercicios prácticos

1. Diseñe un medio de cultivo definido para un organismo que puede crecer aeróbicamente sobre acetato como fuente de carbono y energía. Compruebe que todos los nutrientes requeridos por el organismo están presentes y en las proporciones relativas correctas.
2. *Desulfovibrio* puede crecer anaeróbicamente con H_2 como donador de electrones y SO_4^{2-} como aceptor de electrones (que es reducido hasta H_2S). Con esta información y los datos de la Tabla A1.2 del Apéndice 1, indique cuál de los siguientes componentes no podría existir en la cadena de transporte de electrones de este organismo y por qué: citocromo *c*, ubiquinona, citocromo c_3, citocromo aa_3, ferredoxina.
3. De nuevo, utilizando los datos de la Tabla A1.2, establezca la secuencia de transportadores de electrones en un organismo que crece aeróbicamente y contiene los siguientes transportadores; ubiquinona, citocromo aa_3, citocromo *b*, NADH, citocromo *c*, FAD.
4. Explique la siguiente observación: las células de *Escherichia coli* que fermentan glucosa crecen más deprisa si se añade al cultivo NO_3^- (produciéndose NO_2^-) y crecen aún más deprisa (a la vez que dejan de producir NO_2^-) cuando al cultivo se suministra aireación.

6

Crecimiento microbiano

I DIVISIÓN CELULAR BACTERIANA 155

6.1 Crecimiento celular y fisión binaria **155**

6.2 Proteínas Fts y división celular **156**

6.3 MreB y los determinantes de la morfología celular **157**

6.4 Síntesis de peptidoglicano y división celular **159**

II CRECIMIENTO DE POBLACIONES BACTERIANAS 161

6.5 Terminología y concepto de crecimiento exponencial **161**

6.6 Formulación del crecimiento exponencial **162**

6.7 Ciclo del crecimiento microbiano **163**

6.8 Cultivo continuo: el quimiostato **165**

III MEDIDA DEL CRECIMIENTO MICROBIANO 167

6.9 Determinación del número total de células: recuento microscópico **167**

6.10 Recuento de células viables **168**

6.11 Medida de la masa microbiana: métodos turbidimétricos **170**

IV TEMPERATURA Y CRECIMIENTO MICROBIANO 172

6.12 Efecto de la temperatura sobre el crecimiento microbiano **172**

6.13 Crecimiento microbiano a bajas temperaturas **175**

6.14 Crecimiento microbiano a altas temperaturas **178**

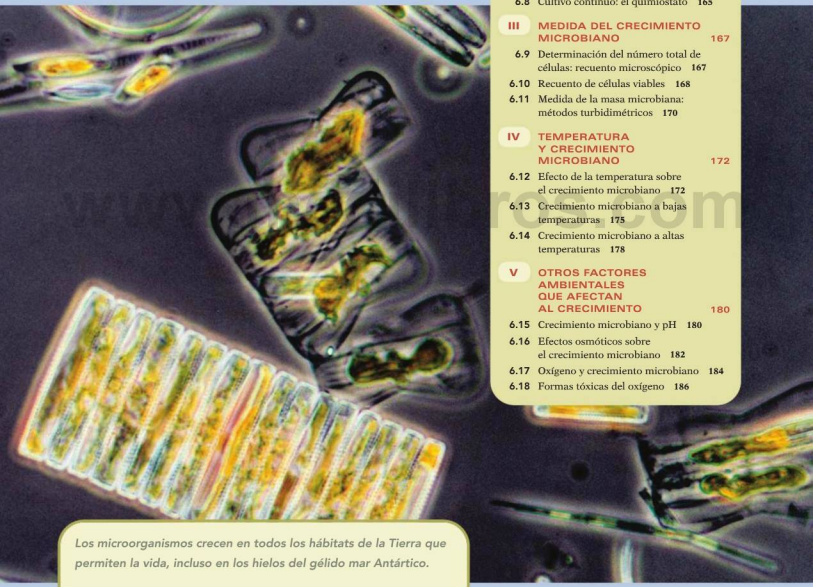
V OTROS FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN AL CRECIMIENTO 180

6.15 Crecimiento microbiano y pH **180**

6.16 Efectos osmóticos sobre el crecimiento microbiano **182**

6.17 Oxígeno y crecimiento microbiano **184**

6.18 Formas tóxicas del oxígeno **186**



Los microorganismos crecen en todos los hábitats de la Tierra que permiten la vida, incluso en los hielos del gélido mar Antártico.

I DIVISIÓN CELULAR BACTERIANA

En los últimos tres capítulos hemos comentado la estructura de las macromoléculas celulares (Capítulo 3), la relación entre estructura y función (Capítulo 4) y los principios generales de la nutrición microbiana y del metabolismo (Capítulo 5). Antes de comenzar el estudio de la biosíntesis de macromoléculas en los microorganismos (Capítulos 7 y 8), vamos a considerar el crecimiento microbiano. El crecimiento es la finalidad última de la célula, es decir, que una célula se convierta en dos.

6.1 Crecimiento celular y fisión binaria

En microbiología, la palabra **crecimiento** se define como *un incremento en el número de células*. La célula microbiana tiene un período de vida finito y la especie sólo se mantiene como resultado del crecimiento continuo de la población. Además de la comprensión de aspectos básicos del crecimiento microbiano, muchas situaciones prácticas hacen necesario el control del crecimiento microbiano. El conocimiento de cómo las poblaciones bacterianas crecen rápidamente es muy útil para el diseño de métodos de control del crecimiento microbiano; estudiaremos estos métodos en el Capítulo 27.

El crecimiento celular bacteriano depende de un gran número de reacciones químicas de una amplia variedad de tipos. Algunas de estas reacciones son transformaciones energéticas. Otras implican biosíntesis de pequeñas moléculas, las unidades básicas de las macromoléculas, así como los diversos cofactores y coenzimas necesarios para las reacciones enzimáticas. Sin embargo, las principales reacciones de síntesis celular son reacciones de polimerización, por las que se forman los polímeros (macromoléculas) a partir de los monómeros. Una vez que se acumulan en el citoplasma de la célula, se ensamblan en nuevas estructuras celulares como la pared celular, la membrana citoplásmica, los flagelos, los ribosomas, los cuerpos de inclusión, los complejos enzimáticos, etc., lo cual conduce finalmente a la división.

Fisión binaria

En un bacilo en crecimiento, la elongación continúa hasta que la célula se divide en dos células hijas. Este proceso se denomina **fisión binaria** («binaria» expresa el hecho de que se forman dos células a partir de una). En un cultivo de una bacteria bacilar como *Escherichia coli*, las células se alargan hasta alcanzar aproximadamente dos veces su longitud original y luego se forma un tabique que separa a la célula en dos células hijas (**Figura 6.1**).

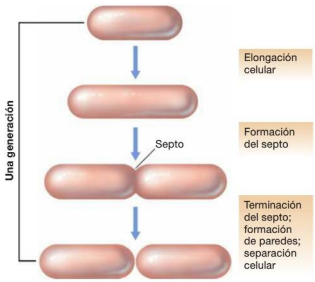


Figura 6.1 Fisión binaria en un procariota bacilar. El número de células se duplica en cada generación.

Este tabique se conoce como *septo* y es el resultado del crecimiento hacia dentro de la membrana citoplásmica y de la pared celular desde direcciones opuestas hasta que las dos células hijas se separan. Por definición, cuando una célula se divide para formar dos, el tiempo transcurrido en el proceso se llama **tiempo de generación** (Figura 6.1).

Durante el tiempo de generación, todos los constituyentes celulares aumentan proporcionalmente, y se dice que están en *crecimiento equilibrado*. Cada célula hija recibe un cromosoma completo y suficientes copias de todas las otras macromoléculas, monómeros e iones inorgánicos, para existir como célula independiente. El reparto del DNA duplicado entre las dos células hijas depende de la unión del DNA a la membrana durante la división, y la segregación real de las dos copias es facilitada por la formación del septo (ver Figura 6.3).

El tiempo necesario para completar una generación en las bacterias es muy variable y depende de varios factores, tanto nutricionales como genéticos. Bajo las mejores condiciones nutritivas la bacteria *Escherichia coli* puede completar el ciclo en unos 20 minutos. Unas cuantas bacterias pueden crecer incluso más rápidamente, pero la mayoría lo hacen más lentamente. En la naturaleza es probable que las células microbianas crezcan mucho más despacio que a su velocidad máxima, porque raramente se presentan a la vez las condiciones y los recursos que permiten un crecimiento óptimo.

6.1 Minirrevisión

El crecimiento microbiano supone toda una serie de reacciones necesarias para doblar la cantidad de todos los componentes celulares y también la división celular

www.libros.com

para formar dos células hijas. La mayoría de los microorganismos crece por fisión binaria.

▮ Defina el término generación. ¿Qué es el tiempo de generación?

6.2 Proteínas Fts y división celular

Para la división celular normal son esenciales varias proteínas presentes en todos los procariotas; las llamadas *proteínas Fts*. Este nombre deriva del inglés «*F*ilamentous *t*emperature *s*ensitive», que describe las propiedades de las células con mutaciones en los genes que las codifican. Tales células no se dividen normalmente y forman largos filamentos incapaces de dividirse. En *Escherichia coli* y otras bacterias se ha estudiado con detalle una proteína clave del grupo, la proteína **FtsZ**.

Las proteínas Fts están distribuidas universalmente entre los procariotas, incluyendo *Archaea*, y se han encontrado también proteínas de este tipo en las mitocondrias y cloroplastos, lo que apoya la existencia de lazos evolutivos con *Bacteria*. Resulta interesante que FtsZ muestra similitudes estructurales con la tubulina, una proteína importante en la división celular de los eucariotas (*véase* Sección 18.5).

Proteínas Fts y división celular

En la célula, las proteínas Fts forman un aparato de división que se llama el **divisoma**. En células bacilares, su formación comienza con la unión de moléculas de FtsZ formando un anillo alrededor del cilindro celular que se sitúa hacia el centro de la célula (Figura 6.2). Este área define el plano de la futura división celular. En una célula de *E. coli* se polimerizan unas 10.000 moléculas de FtsZ hasta formar un anillo continuo que luego atrae otras proteínas del divisoma como *FtsA* y *ZipA* (**Figura 6.2**). ZipA sirve de anclaje para conectar el anillo de FtsZ con la membrana citoplasmática y lograr su estabilización (Figura 6.2). FtsA, que es una proteína relacionada con la actina, también ayuda a conectar el anillo FtsZ con la membrana citoplasmática y tiene el papel adicional de reclutar otras proteínas del divisoma. El divisoma se forma bastante después de que haya comenzado la elongación de la célula. Por ejemplo, en células de *E.coli* se forma hacia la última cuarta parte del proceso de división. Antes de que el divisoma se forme, la célula ya se está elongando y el DNA se está duplicando (*véase* Figura 6.3).

El divisoma también contiene proteínas Fts necesarias para la síntesis de peptidoglicano, como la FtsI (Figura 6.2), que es una de las *proteínas de unión a la penicilina* que están presentes en la célula. Estas proteínas se denominan así porque su actividad resulta bloqueada por el antibiótico penicilina (Sección 6.4). El divisoma parece dirigir en el centro de la célula bacilar la síntesis del nuevo material de membrana y de pared celular, el llamado *septo de división*, hasta que la célula alcanza aproximadamente el doble de su longitud original. A continuación, ocurre una constricción para formar las dos células hijas (Figura 6.1).

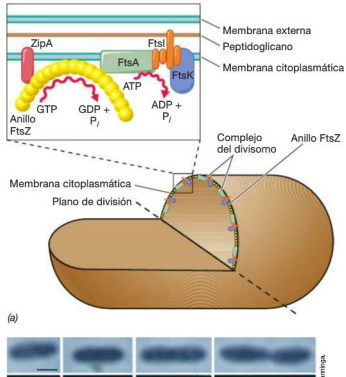


Figura 6.2 El anillo FtsZ y la división celular. *(a)* Corte de una célula bacilar que muestra el anillo de moléculas de FtsZ alrededor del plano de división. La zona aumentada muestra la disposición de las proteínas individuales del divisoma. ZipA es una proteína de fijación de FtsZ, FtsI es una proteína de biosíntesis de peptidoglicano, FtsK ayuda en la separación de los cromosomas, y FtsA es una ATPasa. *(b)* Aparición y degradación del anillo FtsZ durante el ciclo celular de *Escherichia coli*. Microscopía: fila superior, contraste de fases; segunda fila, tinción de nucleoide; tercera fila, células teñidas con un reactivo específico para FtsZ. Procesos de división celular: primera columna, anillo FtsZ aún sin formar; segunda columna, aparición del anillo FtsZ cuando el nucleoide comienza la segregación; tercera columna, anillo FtsZ completo durante la elongación; cuarta columna, degradación del anillo FysZ y división celular. La barra indicadora en la foto superior izquierda, 1 µm.

Duplicación del DNA, proteínas Min y división celular

Como se ha indicado, la replicación del DNA ocurre previamente a la formación del anillo de FtsZ (**Figura 6.3**).

www.medi

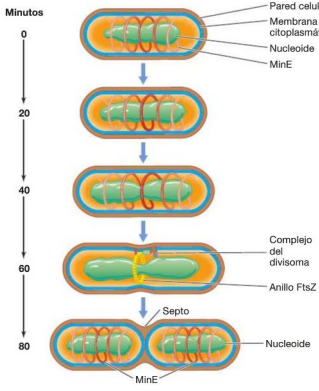


Figura 6.3 Duplicación del DNA y fases de la división celular. La proteína MinE dirige la formación del anillo FtsZ y el complejo del divisoma en el plano de división celular. En el esquema se muestran células de *Escherichia coli* creciendo con un tiempo de generación de 80 minutos. MinC y MinD (no mostradas) son más abundantes en los polos de la célula.

El anillo se forma en el espacio entre los nucleoides duplicados porque, antes de que los nucleoides se separen, éstos bloquean la formación del anillo FtsZ. La localización del punto medio real parece debida a una serie de proteínas llamadas Min, especialmente MinC, MinD y MinE. MinD forma una estructura en espiral en la superficie de la membrana citoplasmática y oscila moviéndose de un polo a otro; MinD también es necesaria para que MinC se localice en la membrana. MinC y MinD inhiben conjuntamente la formación del anillo FtsZ. MinE también se mueve de polo a polo barriendo en su movimiento a MinC y D. Como MinC y MinD permanecen más tiempo en los polos que en otras partes de la célula durante su oscilación, el centro de la célula es la zona que tiene en promedio la concentración más baja de estas proteínas. Por tanto, el centro de la célula es el lugar más permisivo para el ensamblaje del anillo FtsZ, y este anillo define el plano de división. De este modo, las proteínas Min aseguran que la formación del divisoma tenga lugar sólo en el centro de la célula y no en los polos (Figura 6.3).

A medida que progresa la elongación celular y comienza la formación del septo, las dos copias del cromosoma se separan y cada una termina en una célula hija (Figura 6.3). La proteína *FtsK* y otras proteínas participan en el proceso. Cuando ocurre la constricción, el anillo de FtsZ comienza a despolimerizarse y hacia el interior de esa zona se inicia la síntesis de los materiales de la pared celular que forman el septo y que finalmente llegan a sellar la región de unión de una célula con otra. La proteína FtsZ tiene actividad enzimática y es capaz de hidrolizar guanosina trifosfato (GTP), liberando la energía necesaria para la polimerización y despolimerización del anillo FtsZ (Figuras 6.2 y 6.3).

La funcionalidad de las proteínas Fts constituyen un engranaje clave en el proceso de división celular. En los últimos años, se ha acumulado mucha información nueva sobre la división celular en bacterias y arqueas, y los estudios genómicos han confirmado que las proteínas Fts están muy conservadas evolutivamente. Existe un gran interés en comprender la división celular bacteriana a nivel molecular, no sólo por motivos de investigación básica sino también porque tal conocimiento puede conducir al desarrollo de nuevos compuestos dirigidos a puntos específicos del proceso durante el crecimiento de bacterias patógenas. Como en el caso de la penicilina (un antibiótico que interfiere la síntesis de la pared celular bacteriana, Sección 6.4), ciertos compuestos capaces de interferir con la función de las proteínas Fts y de otras proteínas bacterianas relacionadas con la división podrían tener aplicaciones clínicas.

6.2 Minirrevisión

La división celular y la replicación del cromosoma están reguladas de modo coordinado, y las proteínas Fts son esenciales en estos procesos. Con la ayuda de MinE, FtsZ define el plano de división en los procariotas y dirige la formación del divisoma.

- ¿Cuándo se duplica el cromosoma bacteriano en el proceso de división binaria?
- ¿Cómo determina FtsZ el punto medio de la célula?

6.3 MreB y los determinantes de la morfología celular

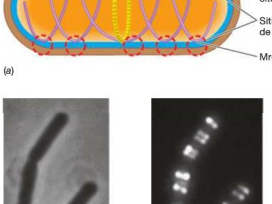
Así como existen proteínas que dirigen la división celular, existen otras proteínas específicas que determinan la forma celular. Tales proteínas muestran una homología muy notable con proteínas del citoesqueleto de células eucarióticas. A medida que se ha ido conociendo su naturaleza se ha evidenciado que, como los eucariotas, los procariotas también contienen un citoesqueleto celular muy dinámico y que presenta muchas facetas funcionales.

Forma celular y proteínas semejantes a la actina en procariotas

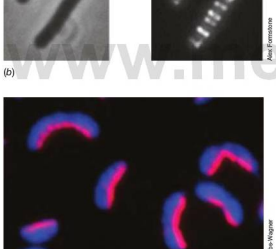
La principal proteína que determina la forma en procariotas se denomina *MreB*. Esta proteína forma en bacte-

rias, y también probablemente en arqueas, una especie de citoesqueleto similar al de la actina. La proteína MreB se dispone en bandas filamentosas en espiral por el interior de la célula, justo bajo la membrana citoplásmica (**Figura 6.4**). Parece que el citoesqueleto de MreB determina la forma celular reclutando otras proteínas que dirigen el crecimiento de la pared celular en modelos específicos.

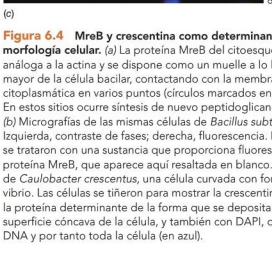
La inactivación del gen que codifica MreB en bacilos, convierte a las células en cocos. Las bacterias con forma de coco carecen de proteínas MreB y de los genes que las codifican. Esto sugiere que la forma de una bacteria «por defecto» es la esférica y que las variaciones en la disposición de los filamentos MreB en las células no cocoides determinan la forma bacilar y otras morfologías celulares típicas de varios procariotas (*véase* Figura 4.1).



(*a*)



(*b*)



(*c*)

Figura 6.4 MreB y crescentina como determinantes de la morfología celular. *(a)* La proteína MreB del citoesqueleto es análoga a la actina y se dispone como un muelle a lo largo del eje mayor de la célula bacilar, contactando con la membrana citoplasmática en varios puntos (círculos marcados en rojo). En estos sitios ocurre síntesis de nuevo peptidoglicano. *(b)* Micrografías de las mismas células de *Bacillus subtilis*. Izquierda, contraste de fases; derecha, fluorescencia. Las células se trataron con una sustancia que proporciona fluorescencia a la proteína MreB, que aparece aquí resaltada en blanco. *(c)* Células de *Caulobacter crescentus*, una célula curvada con forma de vibrio. Las células se tiñeron para mostrar la crescentina (en rojo), la proteína determinante de la forma que se deposita en la superficie cóncava de la célula, y también con DAPI, que tiñe el DNA y por tanto toda la célula (en azul).

Mecanismo de acción de MreB

¿Cómo determina MreB la forma celular? La respuesta no está aclarada por completo, pero los experimentos realizados sobre la división celular y su relación con la síntesis de la pared celular han aportado dos datos importantes. Primero, la estructura helicoidal formada por MreB (Figura 6.4) no es estática sino que rota dentro de una célula en crecimiento. Segundo, el peptidoglicano recién sintetizado (Sección 6.4) se asocia con las hélices de MreB en puntos donde las hélices contactan con la membrana citoplasmática. Así, parece que MreB funciona localizando la síntesis de nuevo peptidoglicano y de otros componentes de la pared en lugares específicos a lo largo del cilindro de una célula bacilar durante el crecimiento. Esto podría explicar el hecho de que, en la elongación de una célula bacilar, el material de la pared celular se deposita en varios puntos a lo largo de su eje mayor en vez de en una sola localización definida por fuera del sitio FtsZ, como ocurre en una célula esférica (Figura 6.5). Mediante rotación dentro del cilindro celular, e iniciando la síntesis de la pared celular en los puntos de contacto con la membrana citoplasmática, MreB podría dirigir la síntesis de nueva pared de modo que la elongación de una célula bacilar ocurriría sólo a lo largo de su eje mayor.

Crescentina

Caulobacter crescentus, una especie de bacteria con forma de vibrio (*véase* Sección 15.16), produce además de MreB una proteína determinante de la forma celular llamada *crescentina*. La proteína crescentina se organiza en filamentos de unos 10 nm de anchura que se localizan en la cara cóncava de la célula curvada. Se piensa que la disposición y localización de estos filamentos determinan la morfología característicamente curvada de las células de *Caulobacter* (Figura 6.4*c*). *Caulobacter* es una bacteria acuática con un ciclo de vida en el que hay *células nadadoras* que llegan a formar un pedúnculo de fijación a superficies. Las células fijadas se dividen para formar nuevas células nadadoras que colonizan nuevos hábitats. Las fases de este ciclo vital están controladas a nivel genético y *Caulobacter* se ha empleado como modelo para el estudio de expresión de genes de diferenciación (*véase* Sección 9.13). Aunque hasta ahora la

www.medi

crescentina sólo se ha encontrado en este género, se han detectado proteínas similares en otras células con morfología helicoidal, como *Helicobacter*, lo que sugiere que estas proteínas pueden ser necesarias para la formación de células curvadas.

Morfología celular en arqueas y evolución de la división y la forma celular

Aunque se conoce menos del control de la morfología celular en arqueas que en bacterias, los genomas de la mayoría de arqueas contienen genes que codifican proteínas similares a MreB y es probable que funcionen en este dominio como lo hacen en bacterias. Además de la existencia de FtsZ en arqueas, parece que existen fuertes paralelismos en los procesos de división celular y en los determinantes morfológicos de todos los procariotas.

Se puede hacer una comparación entre los determinantes de la forma y la división celular entre procariotas y eucariotas. Resulta interesante advertir que la proteína MreB está estructuralmente relacionada con la proteína actina de los eucariotas y que FtsZ está asimismo relacionada con la proteína tubulina de los eucariotas. En las células eucarióticas la actina se ensambla en estructuras llamadas *microfilamentos* que funcionan como andamiaje interno del citoesqueleto celular y en la citoquinesis, mientras que la tubulina forma los *microtúbulos* que son importantes en la mitosis y en otros procesos eucarióticos (*véanse* Secciones 8.6, 18.1 y 18.5). Además, la proteína morfogenética crescentina de *Caulobacter* está relacionada con las proteínas de la queratina que forman los *filamentos intermedios* en las células eucarióticas y que también forman parte del citoesqueleto de los eucariotas. Parece por tanto que las proteínas que controlan la división celular y la forma en las células eucarióticas tienen sus raíces evolutivas en las células procarióticas, que precedieron su existencia en la Tierra miles de millones de años antes (*véase* Figura 1.6).

6.3 Minirrevisión

La proteína MreB participa en la definición de la forma celular. En células bacilares, MreB forma una hélice que dirige la síntesis de la pared celular a lo largo del eje mayor de la célula. La proteína crescentina probablemente realiza un papel semejante en *Caulobacter*, favoreciendo la formación de una célula curvada. Las proteínas determinantes de la forma y la división celular en los eucariotas tienen analogías con las presentes en procariotas.

- ¿Qué proteína eucariótica está relacionada con MreB? ¿Qué función cumple esta proteína en las células eucarióticas?
- ¿Qué es la crescentina y cuál es su función?

6.4 Síntesis de peptidoglicano y división celular

En la sección anterior resumimos los principales sucesos que ocurren en la división binaria e indicamos que una característica importante de la división celular es la producción de nuevo material de pared celular. En los cocos, las paredes celulares crecen en direcciones opuestas a nivel del anillo FtsZ (**Figura 6.5**) mientras que las paredes de células bacilares crecen en varios puntos a lo largo del eje mayor (Figura 6.4). Sin embargo, en ambos casos el peptidoglicano preexistente debe ser cortado para permitir la inserción del peptidoglicano recién sintetizado. Veamos cómo ocurre esto.

En la zona del anillo FtsZ (Figuras 6.2 y 6.3) se abren en la pared pequeños huecos que son creados por enzimas llamadas *autolisinas*, las cuales son funcionalmente similares a la lisozima (*véase* Sección 4.6) porque hidrolizan los enlaces glicosídicos β-1,4 que unen la N-acetil glucosamina y el ácido N-acetil murámico en la estructura del peptidoglicano. El nuevo material se añade a través de estas aberturas (Figura 6.5*a*). La unión entre el peptidoglicano nuevo y el antiguo forma un reborde en la superficie de las bacterias grampositivas llamado *banda de pared* (Figura 6.5*b*), que es análogo a una cicatriz. En la síntesis del nuevo peptidoglicano, resulta esencial que

www.libros.com

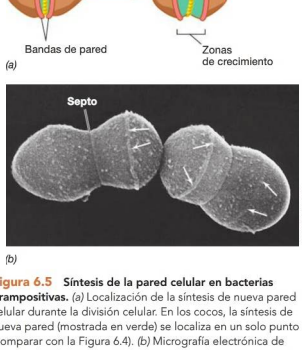


Figura 6.5 Síntesis de la pared celular en bacterias grampositivas. *(a)* Localización de la síntesis de nueva pared celular durante la división celular. En los cocos, la síntesis de nueva pared (mostrada en verde) se localiza en un solo punto (comparar con la Figura 6.4). *(b)* Micrografía electrónica de barrido de células de *Streptococcus hemolyticus* que muestran las bandas de la pared (flechas). Cada célula tiene aproximadamente 1 µm de diámetro.

los nuevos precursores (glucosamina/ácido murámico/tetrapéptido) se incorporen dentro del preexistente de una manera coordinada para evitar una discontinuidad en la integridad del peptidoglicano. Una ruptura podría ocasionar la **autólisis** (lisis celular espontánea).

Biosíntesis de peptidoglicano

La estructura general del peptidoglicano se presentó en el Capítulo 4 (*véase* Sección 4.8). La capa de peptidoglicano actúa como una malla anti-estrés, a modo de cubierta de un neumático. Durante el crecimiento celular, la síntesis de nuevo peptidoglicano supone el corte controlado del peptidoglicano preexistente por las autolisinas y la inserción simultánea de precursores. En este proceso interviene, como transportador, una molécula lipídica llamada **bactoprenol** (**Figura 6.6**).

El bactoprenol es un alcohol muy hidrofóbico de C_{55} que se une a la unidad precursosa del peptidoglicano N-acetilglucosamina/N-acetilmurámico/pentapéptido (**Figura 6.7*a***). El bactoprenol transporta estas unidades estructurales a través de la membrana convirtiendo a los precursores en moléculas lo suficientemente hidrofóbicas como para atravesarla. Una vez en el periplasma, el bactoprenol conecta con enzimas llamadas *glicolasas* que insertan los precursores en el punto de crecimiento de la pared celular y catalizan la formación de los enlaces glicosídicos (Figura 6.7*b*).

Transpeptidación

El paso final de la síntesis de peptidoglicano, conocido como **transpeptidación**, es la formación de los puentes interpeptídicos entre unidades de ácido murámico de cadenas adyacentes de glicano (*véanse* Sección 4.6 y Figuras 4.18 y 4.19). En bacterias gramnegativas como *Escherichia coli*, los enlaces se establecen entre el ácido diaminopimélico de un péptido y la D-alanina de otro adyacente (Figura 6.7*b*). Inicialmente, hay dos residuos de D-alanina al final del precursor de peptidoglicano, pero una molécula de D-alanina se pierde en la reacción de transpeptidación (Figura 6.7*b*). Esta reacción, que es exergónica, proporciona la energía necesaria para llevar a cabo la reacción (la transpeptidación ocurre fuera de la membrana citoplasmática donde no hay ATP). En *E. coli* se cree que la proteína FtsI (Figura 6.2*a*) es una proteína esencial en la transpeptidación. En las bacterias grampositivas, donde es frecuente un puente de glicina, los enlaces a través del puente se suelen establecer entre una L-lisina de un péptido y una D-alanina del otro (*véase* Sección 4.6 y Figuras 4.19 y 4.20).

Figura 6.6 **Bactoprenol (undecaprenol difosfato).** Esta molécula muy hidrofóbica es la que transporta los precursores del peptidoglicano de la pared celular a través de la membrana citoplasmática.

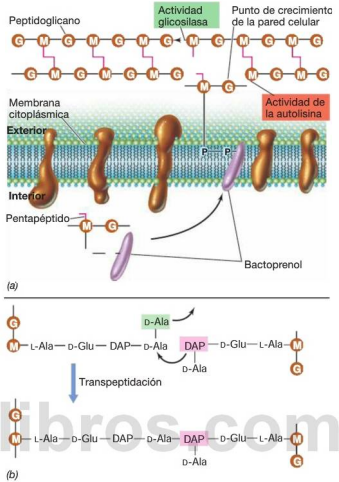


Figura 6.7 **Síntesis de peptidoglicano.** *(a)* Transporte de los precursores del peptidoglicano a través de la membrana citoplásmica hasta el punto de crecimiento de la pared celular. La autolisina rompe los enlaces glicosídicos del peptidoglicano preexistente y la glicolasa los sintetiza, uniendo el peptidoglicano preexistente con el nuevo. *(b)* La reacción de transpeptidación que conduce al entrecruzamiento final de dos cadenas de peptidoglicano. La penicilina inhibe esta reacción.

Transpeptidación y penicilina

Desde el punto de vista médico la transpeptidación es muy importante porque es la reacción que resulta inhibida por el antibiótico penicilina. Se han identificado en las bacterias varias proteínas de unión a la penicilina, incluyendo la previamente mencionada FtsI (Figura 6.2*a*). Cuando la penicilina se une a ellas dejan de ser catalíticamente activas. En ausencia de nueva síntesis de pared

www.medilibros.com

celular, se produce la lisis celular debido a la acción continuada de las autolisinas (Figura 6.7) que debilitan la pared.

La penicilina ha tenido éxito en medicina clínica por al menos dos motivos. En primer lugar, los humanos pertenecen al dominio *Eukarya* y por consiguiente carecen de peptidoglicano; el agente puede así suministrarse a altas dosis sin resultar tóxico. Por otra parte, prácticamente todas las bacterias patógenas contienen peptidoglicano y son por tanto dianas potenciales de este compuesto. Sin embargo, el uso continuado de la penicilina desde los años 1940, probablemente excesivo, ha seleccionado mutantes resistentes de muchos patógenos frecuentes que están ahora extendidos entre el hombre y los animales. En el Capítulo 27 consideraremos este serio problema de la resistencia a los antibióticos y otros medicamentos.

6.4 Minirrevisión

Durante el crecimiento celular, la nueva pared se sintetiza insertando nuevas unidades de glicano y tetrapéptido en el material preexistente. Un alcohol hidrofóbico llamado bactoprenol facilita el transporte de las nuevas unidades a través de la membrana para incorporarse a la pared celular en crecimiento. La transpeptidación fija a los precursores en la malla formada por las cadenas de peptidoglicano.

- ¿Qué son las autolisinas y por qué son necesarias?
- ¿Cuál es la función del bactoprenol?
- ¿Qué es la transpeptidación y por qué es importante?

II CRECIMIENTO DE POBLACIONES BACTERIANAS

Como hemos dicho, el crecimiento se define como un aumento en el *número* de células microbianas de una población. Ahora pasamos, de considerar el crecimiento y la división de una célula individual, a considerar la dinámica del crecimiento poblacional.

6.5 Terminología y concepto de crecimiento exponencial

Mediante la división celular una célula se convierte en dos. Durante el tiempo transcurrido para que esto ocurra (el tiempo de generación) tanto el *número* de células como la *masa* celular se duplica. Los tiempos de generación varían ampliamente entre los distintos microorganismos. En general, la mayoría de las bacterias tienen tiempos de generación más cortos que la mayoría de los microorganismos eucariotas. Para un organismo determinado, el tiempo de generación en cultivo depende del medio de crecimiento y de las condiciones de cultivo. Muchas bacterias tienen tiempos de generación comprendidos entre 0.5-6 horas, pero unas cuantas crecen rápidamente y se dividen en menos de 20 minutos mientras que otras tardan varios días o incluso semanas.

Crecimiento exponencial

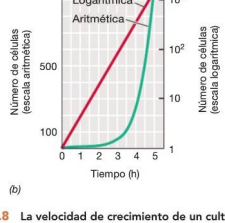
En la **Figura 6.8** se representa un experimento de crecimiento iniciado con una sola célula que tiene un tiempo de generación de 30 minutos. Este modelo de crecimiento poblacional, en el que en cada período fijo de tiempo se dobla el número de células, se denomina **crecimiento exponencial**. Cuando en un sistema de coordenadas se representa aritméticamente el número de células de un experimento en función del tiempo transcurrido, se obtiene una curva cuya pendiente aumenta constantemente (Figura 6.8*b*).

Sin embargo, si representamos el número de células en una escala logarítmica ($\log_{10}$) y el tiempo en una escala aritmética (resultando una gráfica *semilogarítmica*) obtenemos una línea recta, como se muestra en la Figura 6.8*b*. Esta función lineal es un indicador inmediato de que las células están creciendo exponencialmente: la población celular se duplica en un intervalo que es cons-

www.edilibros.com

Tiempo (h)	Número total de células	Tiempo (h)	Número total de células
0	1	4	256 (2^8)
0,5	2	4,5	512 (2^9)
1	4	5	1.024 (2^{10})
1,5	8	5,5	2.048 (2^{11})
2	16	6	4.096 (2^{12})
2,5	32	.	.
3	64	.	.
3,5	128	10	1.048.576 (2^{19})

(a)



(b)

Figura 6.8 La velocidad de crecimiento de un cultivo microbiano. *(a)* Datos de una población que se duplica cada 30 minutos. *(b)* Datos representados en escala aritmética (ordenada izquierda) o en escala logarítmica (ordenada derecha).

tante. Las gráficas semilogarítmicas son además adecuadas y simples de usar para determinar tiempos de generación a partir de una serie de resultados. El tiempo de generación puede deducirse directamente de este tipo de representaciones, como indica la **Figura 6.9**.

Consecuencias del crecimiento exponencial

Una característica del crecimiento exponencial es que el aumento del número de células es inicialmente lento pero se incrementa cada vez más con el tiempo. Esto determina que en las últimas etapas el aumento del número de células sea realmente explosivo. Por ejemplo, en el experimento de la Figura 6.8, durante los primeros 30 minutos de crecimiento la tasa de producción de células es de una célula cada 30 minutos. Sin embargo, entre las 4 y 4,5 horas de crecimiento, la tasa de producción de células es considerablemente mayor, 256 células por cada 30 minutos, y entre 5,5 y 6 horas de crecimiento se producen 2048 células en 30 minutos (Figura 6.8). Por tanto, en un cultivo bacteriano en crecimiento activo el número de células puede alcanzar rápidamente cifras muy altas.

Consideremos una consecuencia práctica del crecimiento exponencial. Cuando un producto no estéril y rico en nutrientes, como la leche, se deja unas cuantas horas en condiciones que permiten el crecimiento microbiano durante las primeras fases del crecimiento exponencial, el efecto no es muy relevante. Sin embargo, si se deja durante el mismo tiempo en fase exponencial tardía el resultado es desastroso para el producto. Las bacterias del ácido láctico que estropean la leche contaminan el producto durante su recolección. Estos organismos inocuos se mantienen controlados a temperaturas refrigeradas (unos 4° C), y sólo tras varios días de crecimiento lento y de producción de ácido láctico se manifiestan los efectos del deterioro. Pero a una temperatura ambiente o superior, el crecimiento rápido del mismo organismo acelera el proceso de deterioro y la leche se puede estropear en cuestión de horas.

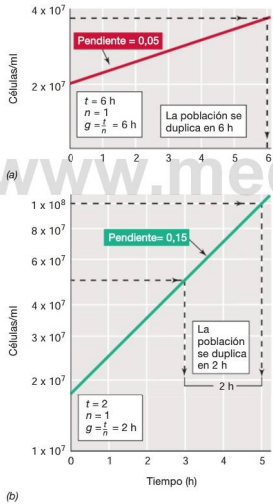


Figura 6.9 Cálculo de parámetros del crecimiento microbiano. Método de determinación de los tiempos de generación (*g*) de poblaciones creciendo exponencialmente con tiempos de generación de *(a)* 6 y *(b)* 2 horas a partir de los datos representados en gráficas semilogarítmicas. La pendiente de cada línea es igual a 0,301/*g* y *n* es igual al número de generaciones que han ocurrido en el tiempo *t*. Todos los números están expresados en notación científica; es decir, 10.000.000 como 1×10^7, 60.000.000 como 6×10^7, etc.

www.medilib.com

6.5 Minirrevisión

Las poblaciones microbianas muestran un modelo típico de crecimiento llamado exponencial que se analiza mejor representando el número de células en función del tiempo en una gráfica semilogarítmica.

- ¿Por qué el crecimiento exponencial origina grandes poblaciones celulares en cortos períodos de tiempo?
- ¿Qué es una representación semilogarítmica?

6.6 Formulación del crecimiento exponencial

El aumento en número de células que se produce en un cultivo bacteriano creciendo exponencialmente es una progresión geométrica de base 2 (Figura 6.8*a*). Cuando una célula se divide se convierte en dos y esto se puede expresar como $2^0 \rightarrow 2^1$. Cuando dos células pasan a cuatro, lo expresamos como $2^1 \rightarrow 2^2$, y así sucesivamente (Figura 6.8*a*). Existe una relación directa entre el número de células presente inicialmente en un cultivo y el número presente tras un período de crecimiento exponencial que puede expresarse matemáticamente:

$$N = N_o 2^n$$

donde N es el número final de células, N_o es el número inicial de células y n es el número de generaciones que ha ocurrido durante el período de crecimiento exponencial. El tiempo de generación (g) de la población celular exponencial es t/n, donde t indica los días, horas o minutos de

crecimiento exponencial. Por tanto, sabiendo el número inicial y final de células en una población que está creciendo exponencialmente, es posible calcular n, y conociendo n y t, calcular el tiempo de generación, g.

Relación de N y N_0 con n

Para expresar n a partir de la ecuación $N = N_o 2^n$, se pueden hacer las siguientes transformaciones:

$$N = N_o 2^n$$

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

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

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

$$= 3.3 \ (\log N - \log N_o)$$

Con esta fórmula se pueden calcular los tiempos de generación en función de términos fácilmente medibles como N y N_o. Como ejemplo para realizar estos cálculos podemos usar los datos reales de la gráfica de la Figura 6.9*b*, teniendo en cuenta que $N = 10^8$, $N_o = 5 \times 10^7$ y $t = 2$.

Por tanto,

$$n = 3{,}3 \ [\log 10^8 - \log (5 \times 10^7)] = 3{,}3 \ (8 - 7{,}69) =$$
$$= 3{,}3 \ (0{,}31) = 1$$

Así, en este ejemplo, el tiempo de generación g, que definimos como t/n, será $g = t/n = 2/1 = 2$ horas. Si el crecimiento exponencial continuara durante otras 2 horas, el número de células sería 2×10^8. Dos horas más tarde el número de células sería 4×10^8, y así sucesivamente

Otras expresiones del crecimiento

El tiempo de generación también se puede calcular de la pendiente de la recta obtenida en la representación semilogarítmica del crecimiento exponencial, pues la pendiente tiene un valor de 0,301/g. En el ejemplo anterior, la pendiente sería 0,301/2, es decir, 0,15. Como g es igual a 0,301/pendiente, llegamos al mismo valor de 2 para g. El término 0,301/g se llama *velocidad específica de crecimiento*, o abreviadamente k.

Otra expresión útil del crecimiento es el inverso del tiempo de generación, llamado *velocidad de división*, abreviadamente v. La velocidad de división se expresa como 1/g y tiene unidades de hora^{-1}. Mientras que g es una medida del *tiempo* que tarda una población en duplicar su número de células, v es una medida del número de generaciones que ocurren por unidad de tiempo en un cultivo exponencial. La pendiente de la línea que relaciona el logaritmo del número de células con el tiempo (Figura 6.9) es igual a v/3.3.

Si disponemos de los valores de n y de t, se puede calcular g, k y v para diferentes microorganismos creciendo bajo diferentes condiciones de cultivo. Esto resulta a veces útil para optimizar las condiciones de cultivo de un microorganismo particular y también para probar el efecto positivo o negativo de algún tratamiento sobre el cultivo bacteriano. Por ejemplo, con un control de comparación, los factores que estimulan o inhiben el crecimiento se pueden identificar midiendo su efecto sobre los parámetros del crecimiento que hemos considerado.

6.6 Minirrevisión

Conociendo el número inicial y final de células y el tiempo de crecimiento exponencial se puede calcular directamente el tiempo de generación y la velocidad específica de crecimiento de la población celular. Los parámetros esenciales son *n*, *g*, *v*, *k* y *t*.

- Diferencie entre los términos velocidad específica de crecimiento y tiempo de generación.
- Si una población celular en crecimiento aumenta de 5×10^6 células/ml a 5×10^8 células/ml en 8 horas, calcule *g*, *n*, *v* y *k*.

6.7 Ciclo del crecimiento microbiano

Los datos presentados en las Figuras 6.8 y 6.9 reflejan sólo parte del ciclo de crecimiento de una población celular, la fase llamada de *crecimiento exponencial*. En un sistema cerrado o con medio no renovado, también llamado **cultivo monofásico** o en *batch*, el crecimiento exponencial de una población no puede continuar indefinidamente y se obtiene una típica *curva de crecimiento* como la que se indica en la **Figura 6.10**. Esta curva de crecimiento describe un ciclo completo de crecimiento y puede dividirse en distintas fases llamadas fase *lag*, fase exponencial, fase estacionaria y fase de muerte.

Fase *lag* o de latencia

Cuando se inocula una población microbiana en un medio fresco, por lo general el crecimiento no comienza inmediatamente sino sólo tras un período de tiempo que constituye la *fase lag* o *fase de latencia*, la cual puede ser breve o prolongada dependiendo de la historia del cultivo y de las condiciones de crecimiento. Si un cultivo exponencial se inocula en el mismo medio y bajo las mismas condiciones de crecimiento, no se observa retraso y el crecimiento exponencial se inicia inmediatamente. Sin embargo, si el inóculo se toma de un cultivo viejo (fase estacionaria) y se inocula en el mismo medio, se observa normalmente un retraso incluso aunque todas las células del inóculo sean viables, es decir, sean capaces de reproducirse. Esto se debe con frecuencia a que las células carecen de varios componentes esenciales para dividirse y se requiere tiempo para su resíntesis. También se aprecia retraso cuando las células del inóculo han sido dañadas parcialmente con calor, radiaciones o compuestos tóxicos, debido al tiempo requerido para recuperarse y reparar los daños.

www.medilibros.com

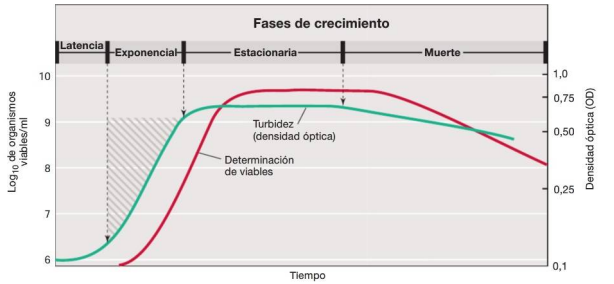


Figura 6.10 **Curva típica de crecimiento de una población bacteriana.** El recuento de viables mide las células que son capaces de dividirse en el cultivo. La densidad óptica (turbidez) es una medida cuantitaiva de la dispersión de la luz en un cultivo líquido y se incrementa cuando aumenta el número de células.

La fase de latencia también ocurre cuando se transfiere una población de un medio rico a otro medio más pobre, por ejemplo de un medio complejo a un medio definido (*véase* Sección 5.2). Para que ocurra crecimiento en un medio de cultivo particular, las células deben tener un equipamiento enzimático completo que permita la síntesis de los metabolitos esenciales que no están presentes en el medio. Al pasar a otro medio, se necesita tiempo para la síntesis de las nuevas enzimas.

Fase exponencial

La fase exponencial de crecimiento, que ya ha sido comentada en la sección anterior, es consecuencia de que cada célula se divide para formar dos, cada una de las cuales va a formar otras dos, y así sucesivamente durante un período de tiempo que puede ser breve o prolongado en función de los recursos disponibles y de otros factores. En general, las células en crecimiento exponencial están en el estado fisiológico más sano y por ello las células tomadas en crecimiento exponencial son a menudo las más indicadas para estudios enzimáticos y estructurales.

La mayoría de los microorganismos unicelulares crecen exponencialmente pero las velocidades del crecimiento exponencial son muy variables. La velocidad de crecimiento está influenciada por las condiciones ambientales (temperatura, composición del medio de cultivo) así como por las características genéticas del organismo. Por lo general, los microorganismos procariotas crecen más rápido que los eucariotas y los eucariotas pequeños lo hacen más deprisa que los mayores. Esto debería recordarnos el concepto anteriormente comentado de la relación superficie/volumen. Cuanto más pequeñas son las células, presentan mejor capacidad relativa de intercambio de nutrientes y de productos de desecho en comparación con las células más grandes, y esta ventaja metabólica afecta notablemente a su crecimiento y a otras propiedades (*véase* Sección 4.2).

Fase estacionaria

En un sistema de cultivo cerrado, monofásico o en *batch*, el crecimiento exponencial no se puede prolongar de modo indefinido. Se puede calcular que una sola bacteria con un tiempo de generación de 20 minutos produciría en tan solo 48 horas de crecimiento exponencial continuado una población que pesaría unas 4.000 veces el peso de la Tierra. Esto resulta impresionante porque una sola célula bacteriana pesa alrededor de 10^{-12} gramos.

Resulta obvio que algo debe pasar mucho antes para limitar el crecimiento de la población. Lo que generalmente sucede es que (1) un nutriente esencial del medio de cultivo se agota y llega a ser un factor limitante del crecimiento o (2) se acumulan en el medio algunos productos de desecho hasta niveles inhibitorios que hacen cesar el crecimiento exponencial. Frecuentemente ocurren ambas cosas y, al producirse esto, la población alcanza la *fase estacionaria*.

En la fase estacionaria no hay aumento ni descenso neto en el número de células. Aunque no suele haber crecimiento en la fase estacionaria, muchas funciones celulares continúan, incluyendo el metabolismo energético y algunos procesos biosintéticos. En algunos casos, puede ocurrir un lento crecimiento durante la fase estacionaria; algunas células de la población crecen, pero otras mueren y los dos procesos se equilibran de modo que no hay aumento ni disminución en el número de células. Este fenómeno se llama *crecimiento críptico*.

Libros.com

Fase de muerte

Si continúa la incubación después de que la población ha alcanzado la fase estacionaria, las células pueden continuar vivas y metabólicamente activas, pero finalmente mueren. Si ocurre esto último, se dice que la población está en *fase de muerte*. En algunos casos la muerte se acompaña de una lisis celular real. La Figura 6.10 indica que la fase de muerte del ciclo de crecimiento es también exponencial; no obstante, en la mayoría de los casos la velocidad de muerte celular es mucho más lenta que la de crecimiento exponencial.

Hay que resaltar que las fases de la curva de crecimiento mostradas en la Figura 6.10 corresponden a sucesos que ocurren a nivel *poblacional*, no en células individuales. Por tanto, los téminos fase de latencia, fase exponencial, fase estacionaria y fase de muerte no se aplican a las células aisladas sino sólo a poblaciones celulares. El crecimiento poblacional es el más relevante en estudios de ecología microbiana, porque las actividades microbianas que son medibles se deben a poblaciones microbianas, no a células microbianas individuales.

6.7 Minirrevisión

Cuando se inoculan en un medio de cultivo fresco, los microorganismos muestran una curva de crecimiento característica. Normalmente hay una fase de latencia, y luego una fase exponencial. Cuando se agotan los nutrientes esenciales o se acumulan productos tóxicos, cesa el crecimiento y la población entra en fase estacionaria. Si la incubación continúa, las células pueden empezar a morir.

- ¿En qué fase de la curva de crecimiento de la Figura 6.10 se dividen las células de una manera regular y ordenada ?
- ¿Cuándo no se presenta la fase de latencia?
- ¿Por qué entran las células en la fase estacionaria?

6.8 Cultivo continuo: el quimiostato

Nuestra exposición del crecimiento microbiano se ha referido hasta ahora a cultivos cerrados o en *batch,* es decir, cuando el crecimiento ocurre en un volumen fijo de medio de cultivo que está siendo continuamente modificado por la acción de los microorganismos que crecen hasta que ya no es adecuado para sustentar más crecimiento. En los cultivos cerrados, las condiciones pueden ser relativamente constantes al principio de la fase exponencial de crecimiento pero después, cuando el número de células llega a ser muy grande ocurren cambios drásticos en la composición química del medio.

En muchos estudios, sin embargo, es deseable que los cultivos se mantengan en un ambiente constante durante largos períodos. Por ejemplo, si se está estudiando un proceso como la síntesis de una enzima particular, el disponer fácilmente de células en crecimiento exponencial puede ser de gran ayuda. Esto sólo puede lograrse empleando cultivos continuos. A diferencia de los cultivos con medio no renovado, un cultivo continuo es un sistema *abierto*. El recipiente del cultivo continuo mantiene un volumen constante, al que se añade continuamente medio fresco a una velocidad constante y del que rebosa continuamente medio usado con células a la misma velocidad. Una vez que se alcanza el equilibrio, el volumen del quimiostato, el número de células en el sistema y el estado metabólico permanecen constantes y se dice entonces que el sistema está en *estado de equilibrio*.

El quimiostato

El tipo más común de aparato utilizado para cultivo continuo es el **quimiostato** (**Figura 6.11**) que puede controlar tanto la velocidad de crecimiento como la densidad de población de un cultivo de modo independiente y simultáneo. Para lograr este control en un quimiostato son importantes dos factores (1) la velocidad de dilución, que es la velocidad con que se bombea el medio fresco y se retira medio gastado y (2) la concentración de un nutriente limitante, tal como la fuente de carbono o de nitrógeno, que está presente en el medio estéril que entra en el recipiente del quimiostato.

En un cultivo cerrado, la concentración de nutrientes afecta a la velocidad de crecimiento y a la producción de

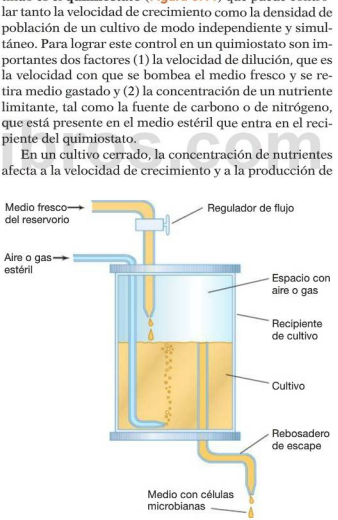


Figura 6.11 Esquema de un aparato de cultivo continuo (quimiostato). La densidad de población se controla por la concentración del nutriente limitante presente en el reservorio, y la velocidad de crecimiento se controla por la velocidad de flujo o salida (véase Figura 6.15). Ambos parámetros pueden fijarse por el experimentador.

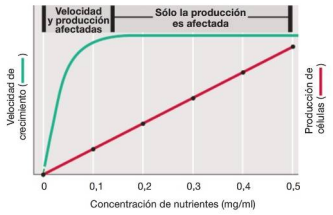


Figura 6.12 Efecto de los nutrientes sobre el crecimiento. Relación entre la concentración de nutrientes, velocidad de crecimiento (línea verde) y la tasa de producción de células (línea roja) en un sistema cerrado. A baja concentración de nutrientes tanto la velocidad de crecimiento como la tasa de producción se ven afectadas.

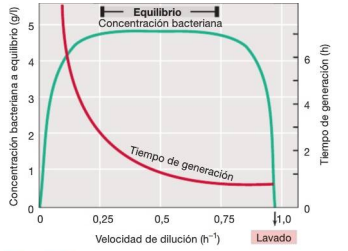


Figura 6.13 Relaciones en un quimiostato en estado de equilibrio. La velocidad de dilución viene determinada por la velocidad de flujo o de salida y por el volumen del recipiente del cultivo. Así, con un recipiente de 1.000 ml y una velocidad de flujo de 500 ml/h la velocidad de dilución será de 0,5 h^{-1}. Nótese que a velocidades de dilución altas, el crecimiento no puede equilibrar a la dilución y la población resulta «lavada» del cultivo. Nótese igualmente que aunque la densidad de población permanece constante en equilibrio, la velocidad de crecimiento (y el tiempo de generación) puede variar ampliamente.

microorganismo (**Figura 6.12**). A concentraciones muy bajas de un nutriente determinado la velocidad de crecimiento disminuye, debido a que el nutriente no se transporta al interior de la célula lo suficientemente deprisa como para satisfacer la demanda metabólica. A concentraciones moderadas o altas de ese mismo nutriente, la velocidad de crecimiento se estabiliza aunque la producción de células puede continuar aumentando en función de la concentración de nutrientes hasta un límite (Figura 6.12). En un quimiostato, por el contrario, la velocidad de crecimiento y la producción celular pueden controlarse independientemente una de otra, la primera mediante el ajuste de la velocidad de dilución y la segunda (número de células/ml) variando la concentración de un nutriente que actúe como factor limitante. El control independiente de estos dos parámetros del crecimiento es imposible en un sistema cerrado porque las condiciones varían continuamente con el tiempo.

Variación de los parámetros de un quimiostato

En la **Figura 6.13** se representan los efectos que se producen al variar la velocidad de dilución y la concentración del nutriente limitante. Como puede verse, los límites en los que la velocidad de dilución controla la velocidad de crecimiento son muy amplios, aunque a valores extremos el equilibrio se rompe. A velocidades de dilución muy altas, el organismo no puede crecer lo suficientemente rápido como para evitar su dilución, y el cultivo desaparece por «lavado» del quimiostato. Por el contrario, a velocidades de dilución muy bajas, una gran parte de la población celular puede morir debido a que el nutriente limitante no llega a ser suministrado a velocidad adecuada como para permitir el mantenimiento del metabolismo celular. Sin embargo, entre estos límites, se pueden lograr distintas velocidades de crecimiento variando simplemente la velocidad de dilución.

En el quimiostato, la densidad celular (células/ml) se controla por el nivel del nutriente que actúa como factor limitante, de igual manera que se controla la biomasa celular en un cultivo cerrado (Figura 6.12). Si se eleva la concentración de este nutriente en el medio entrante, manteniendo constante la velocidad de dilución, la densidad celular aumentará mientras que la velocidad de crecimiento será la misma Por lo tanto, manipulando la velocidad de dilución y el nivel de nutrientes, el experimentador puede obtener a voluntad densidades de población celular diluida (por ejemplo, 10^5 células/ml), moderada (por ejemplo, 10^7 células/ml) o densa (por ejemplo, 10^9 células/ml) creciendo a bajas, moderadas o altas velocidades de crecimiento.

Usos experimentales del quimiostato

Una ventaja práctica del quimiostato es que permite mantener una población en fase exponencial de crecimiento durante largo tiempo, días e incluso semanas. Como las células en fase exponencial de crecimiento suelen ser las más adecuadas para experimentos fisiológicos, mediante el quimiostato se puede disponer de tales células en cualquier momento. Además, los experimentos se pueden repetir sabiendo que la población celular es prácticamente la misma cada vez. En algunos casos, como el estudio de una enzima particular, las actividades enzimáticas suelen más bajas en células en fase estacionaria que en fase exponencial y por tanto los cultivos en quimiostato son muy adecuados. En la práctica, cuando se retira una muestra del quimiostato, se necesita un perí-

odo de tiempo para que el recipiente vuelva a su volumen original y se reestablezca el estado de equilibrio. Una vez que esto ocurre, se puede obtener una nueva muestra.

El quimiostato resulta también muy útil en estudios de ecología microbiana. Por ejemplo, como el quimiostato puede simular las bajas concentraciones de sustrato que ocurren a menudo en la naturaleza, es posible el estudio en un quimiostato de poblaciones bacterianas mixtas para determinar cuestiones de competitividad de un organismo sobre otro a concentraciones particulares de nutrientes. Utilizando estos métodos, así como poderosas técnicas de tinción filogenética y de rastreo génico (*véase* Capítulos 14 y 22), se pueden ir estudiando los cambios en la comunidad microbiana del quimiostato en función de las diferentes condiciones de crecimiento. A menudo, estos experimentos revelan interacciones entre componentes de la población que no resultan evidentes mediante estudios de crecimiento en cultivos cerrados.

Los quimiostatos también se usan para el aislamiento y enriquecimiento de bacterias. A partir de un inóculo mixto de una muestra natural, se puede seleccionar una población estable bajo determinadas condiciones de nutrientes y de velocidad de dilución elegidas, y luego ir incrementando lentamente la velocidad de dilución hasta que sólo quede un tipo de microorganismo. De este modo, se ha conseguido recientemente aislar del suelo una bacteria con un tiempo de generación de 6 minutos, que es la bacteria de crecimiento más rápido conocida.

6.8 Minirrevisión

Los instrumentos de cultivo continuo (quimiostatos) permiten mantener poblaciones celulares en crecimeinto exponencial por largos períodos. En un quimiostato, la velocidad de dilución del cultivo gobierna la velocidad de crecimiento, mientras que el tamaño de la población está determinado por la concentración de nutriente limitante que entra en el recipiente.

- ¿En qué se diferencian los microorganismos de un *quimiostato* de los procedentes de un cultivo en *sistema cerrado*?
- Explique lo que ocurre en un quimiostato si la velocidad de dilución supera la velocidad de crecimiento de un organismo
- ¿Se tienen que usar cultivos puros en un quimiostato?

III MEDIDA DEL CRECIMIANTO MICROBIANO

El crecimiento de una población se mide estimando los cambios en el número de células, en la cantidad de algún componente de las mismas, como proteínas, ácidos nucleicos o el peso seco de las células. Aquí consideraremos dos métodos frecuentes de medir el crecimiento: el recuento del número de células y la determinación de la turbidez, éste último como medida de la biomasa.

6.9 Determinación del número total de células: recuento microscópico

El número total de células microbianas se puede obtener usando un microscopio para observar y contar las células presentes en un cultivo o en una muestra natural. El método es simple pero los resultados pueden ser poco seguros.

Recuento de células totales

El método más frecuente para determinar el número de células totales es el recuento microscópico directo. El contaje microscópico directo se puede hacer en muestras secas sobre porta o en muestras líquidas. Las muestras secas se pueden teñir para aumentar el contraste entre las células y el fondo (*véase* Sección 2.2). Con muestras líquidas se emplean cámaras de recuento especiales, que en esencia son portas excavados y modificados sobre cuya superficie de vidrio está marcada una rejilla con pequeños cuadrados de área conocida (**Figura 6.14**). Cada

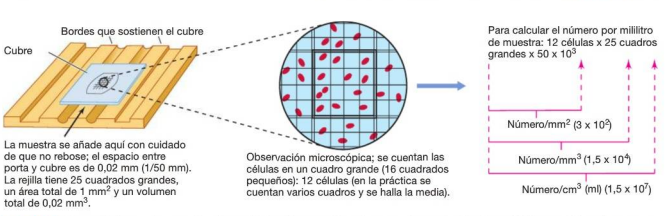


Figura 6.14 Procedimiento de contaje microscópico directo utilizando una cámara de tipo Petroff-Hausser. Normalmente se usa un microscopio de contraste de fases para el recuento de células, evitándose la necesidad de tinción.

cuadrado de la parrilla contine un volumen conocido, muy pequeño pero determinado con precisión. Bajo el microscopio se puede contar el número de células por cada unidad de área de la parrilla, lo que permite conocer el número de células por el volumen que determina cada área. La conversión de tal valor a número de células por mililitro de la suspensión original se hace fácilmente multiplicando por un factor de conversión que depende del volumen del tipo de cámara (Figura 6.14).

Un segundo método de contar células en muestras líquidas es el citómetro de flujo. Este aparato emplea un rayo láser y un sistema electrónico para contar células individuales. El método se usa poco para la determinación rutinaria de recuentos de células microbianas pero tiene aplicaciones en el campo de la medicina para diferenciar glóbulos rojos de otros tipos celulares en muestras clínicas (*véase* Figura 32.21). Se ha empleado también en ecología microbiana porque permite separar células de diferentes tipos a fin de lograr aislamientos.

El contaje microscópico directo es un método rápido de conocer el número de células. Sin embargo, presenta ciertas limitaciones: (1) sin técnicas especiales de tinción (*véase* Secciones 2.2 y 22.3) no permite distinguir entre células vivas y células muertas; (2) las células pequeñas son difíciles de ver bajo el microscopio y algunas se pierden en el recuento; (3) es difícil en ocasiones la precisión; (4) se requiere un microscopio de contraste de fases cuando las muestras no se tiñen; (5) el método no suele ser adecuado para suspensiones de baja densidad celular (menos de 10^6 células bacterianas por mililitro) pues es posible que no se vean bacterias en el campo del microscopio a menos que la muestra se concentre primero y se resuspenda luego en un pequeño volumen; (6) las células móviles se deben inmovilizar antes del contaje; (7) los restos presentes en la muestra pueden contarse erróneamente como células.

En ecología microbiana, la determinación de células totales se realiza a menudo en muestras naturales empleando tinciones para visualizar las células. El colorante DAPI tiñe todas las células porque reacciona con el DNA. Por otra parte, se pueden preparar colorantes fluorescentes muy específicos para marcar organismos o grupos determinados uniéndolos a sondas específicas de ácidos nucleicos (*véase* Sección 22.4). Si las células están presentes a baja densidad de población, como por ejemplo sucede en muestras oceánicas, primero se concentran sobre un filtro y luego se cuentan tras la tinción. Como es fácil de realizar y puede proporcionar una información muy útil, el recuento de células totales por uno u otro método es frecuente en estudios microbiológicos de ambientes naturales. **www.microbiologyplace.com Tutorial online 6.1: Procedimiento del recuento microscópico directo.**

6.9 Minirrevisión

El contaje celular microscópico mide el número total de células en un cultivo de laboratorio o en una muestra natural.

▮ ¿Cuáles son los problemas que pueden surgir cuando se emplean preparaciones no teñidas para el recuento de células totales en muestras de ambientes naturales?

6.10 Recuento de células viables

Una célula **viable** es aquella que es capaz de dividirse y originar descendencia, y en la mayoría de las situaciones éste es el tipo de células que nos interesa. Con este fin se han desarrollado métodos de recuento de viables. Normalmente se determina el número de células de la muestra que es capaz de formar colonias sobre un medio sólido adecuado. Por esta razón, la determinación de viables a menudo se llama también **recuento en placa** o **recuento de colonias**. En este procedimiento se supone que cada célula viable puede crecer y dividirse hasta formar una colonia. Así, el número de colonias y el número de células son proporcionales.

Hay al menos dos maneras de realizar un recuento en placa para viables: el *método de extensión en placa* y el *método de vertido en placa* (**Figura 6.15**). En el método de extensión en placa un volumen de cultivo diluido apropiadamente, que no suele ser superior a 0,1 ml, se extiende sobre la superficie de una placa con medio sólido utilizando un asa estéril de extensión. La placa se incuba a continuación hasta que aparecen las colonias y se cuenta su número. Es importante que la superficie del medio esté seca de modo que el líquido de la muestra se absorba y las células queden fijadas. No se suelen usar volúmenes mayores de 0,1 ml porque el exceso de líquido no se absorbe y origina problemas en el contaje al favorecer la extensión y mezcla de las colonias.

En el método del vertido en placa (Figura 6.15) se pipetea un volumen conocido (normalmente 0,1-1,0 ml) de cultivo en una placa Petri estéril sobre la que se añade el medio con agar fundido y se mezcla todo bien con suaves movimientos de la placa sobre la superficie de la mesa antes de dejar solidificar. Como la muestra se mezcla con el medio fundido, se pueden usar volúmes de inóculo mayores que en el método de contaje por extensión; sin embargo, con este método el organismo que se cuenta debe ser capaz de resistir la temperatura del agar fundido (45°-50°C). Aquí las colonias se forman por toda la placa y no solamente por la superficie como en el método por extensión. Por consiguiente, la placa debe examinarse cuidadosamente para tener la seguridad de contar todas las colonias. Si este método se usa para enumerar células de una muestra natural, puede surgir otro problema; cualquier resto presente en la muestra debe distinguirse de las colonias bacterianas reales o el recuento será erróneo.

Dilución de las suspensiones celulares antes de la siembra en placa

En los dos métodos señalados anteriormente es importante que el número de colonias que aparezca en las placas no sea demasiado grande ni demasiado pequeño. En

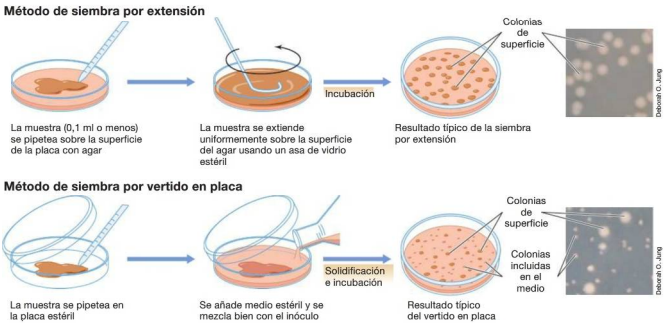


Figura 6.15 **Dos métodos para determinación de viables** (recuento en placa). En el método de vertido en placa, las colonias se forman tanto en la superficie como en el interior del agar. En la cuarta columna se muestra una fotografía de colonias de *Escherichia coli* formadas por células sembradas por extensión (arriba) o por vertido en placa (abajo).

placas muy cargadas algunas células pueden no formar colonias y algunas colonias se pueden fusionar originando estimaciones erróneas. También es importante que el número de colonias no sea demasiado bajo para que el cálculo sea estadísticamente significativo. En la práctica, lo habitual y estadísticamente válido es que el número de colonias por placa oscile entre 30 y 300.

Para obtener el número apropiado de colonias, casi siempre se diluye la muestra. Como raramente se conoce de antemano el número de células viables, normalmente se hace más de una dilución. Lo más usual es realizar diluciones decimales de la muestra (**Figura 6.16**). Para hacer una dilución de 10^{-1} se mezclan 0,5 ml de la muestra con 4,5 ml de diluyente o 1 ml de la muestra con 9 ml del diluyente. Si se necesita una dilución de 10^{-2}, se pueden mezclar 0,05 ml de la muestra con 4,95 ml de diluyente o 0,1 ml con 9,9 ml. Alternativamente, una dilución 10^{-2} se puede hacer de modo seriado haciendo sucesivamente dos diluciones decimales de tipo 10^{-1}. En la mayor parte de los casos se realizan tales diluciones seriadas con cultivos densos para alcanzar la dilución final deseada. Así, si se requiere una dilución 10^{-6} se puede lograr haciendo tres diluciones sucesivas de 10^{-2} o seis sucesivas de 10^{-1} (Figura 6.16).

Fuentes de error en el recuento en placa

El número de colonias que se obtiene en una determinación de viables no sólo depende del tamaño del inóculo sino también de lo adecuado que sea el medio de cultivo y de las condiciones de incubación, así como también de la duración de la incubación. Por ejemplo, si se usa un cultivo mixto, no todas las células depositadas en la placa desarrollarán colonias a la misma velocidad, y si se em-

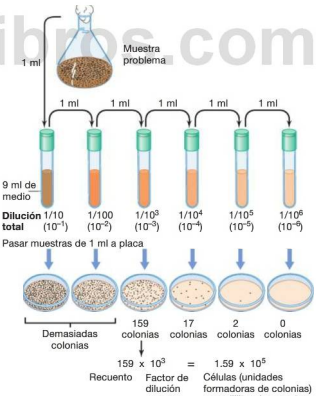


Figura 6.16 **Procedimiento para la determinación de viables usando diluciones seriadas de la muestra y el método del vertido en placa.** El líquido estéril usado para hacer las diluciones puede ser simplemente agua, pero una solución salina equilibrada o medio de cultivo suele proporcionar mejor recuperación. El factor de dilución es el inverso de la dilución.

plea un corto tiempo de incubación se obtendrán menos colonias de las posibles. Además, el tamaño de las colonias varía y si aparecen colonias muy pequeñas pueden pasar desapercibidas en el recuento. Con cultivos puros, el desarrollo de las colonias es más sincrónico y la norma es entonces una morfología uniforme de las colonias.

La determinación de células viables puede estar sujeta a grandes errores por varias razones, como irregularidades en el pipeteo, poca homogeneidad de la muestra, mezcla insuficiente, y otros motivos. Por eso, si se desean recuentos precisos se requiere un gran cuidado en la preparación de las muestras y en el pipeteo y también hacer por duplicado las placas de las diluciones más importantes. Hay que advertir que una agrupación de dos o más células solo producirá una colonia, de modo que el recuento de viables es una estimación mínima. Para resaltar más claramente el resultado, el recuento de viables se expresa a menudo como *unidades formadoras de colonias* obtenidas, en vez de como número real de células viables, ya que una unidad formadora de colonias puede contener una o mas células iniciales.

Pese a estas dificultades, el recuento de viables suministra una buena información sobre el número de células vivas y el procedimiento es de uso muy amplio en muchas áreas de la microbiología. En la alimentación, industrias lácteas, medicina y microbiología acuática, el recuento de viables se emplea de modo rutinario. El método tiene la virtud de la elevada sensibilidad porque puede detectarse la presencia de incluso una sola célula viable por muestra. Esta característica permite una detección sensible de la contaminación microbiana de alimentos y otros productos.

El empleo de medios de cultivo y de ciertas condiciones de crecimiento en el recuento de viables permite determinar sólo tipos celulares particulares en una población mixta de microorganismos, y en algunos casos incluso de una sola especie individual presente en la muestra. Por ejemplo, en aplicaciones prácticas en la industria de alimentos, la determinación de viables con medios complejos y selectivos favorece la valoración cuantitativa y cualitativa de los microorganismos que se encuentran en los productos alimentarios. Es decir, con una sola muestra, se puede emplear un medio para el recuento total y un segundo medio para detectar un organismo particular, como un patógeno específico. La determinación dirigida es frecuente en análisis de aguas residuales y en otros análisis de aguas (*véase* Figuras 36.1 y 36.2). Por ejemplo, como las bacterias entéricas proceden de materia fecal y son fáciles de detectar usando medios selectivos, si se detectan bacterias entéricas en una muestra de agua de un lugar de natación, su presencia es señal de que el agua no es adecuada para esa actividad recreativa.

La gran anomalía del recuento en placa

El recuento microscópico directo de muestras naturales suele revelar muchos más organismos que los que se recuperan en placa de cualquier medio. Por tanto, aunque es una técnica muy sensible, el recuento en placa puede ser poco fiable cuando se desea valorar el número de células en muestras naturales, como el suelo o el agua. Algunos microbiólogos consideran esto como «la gran anomalía del recuento en placa».

¿Cuál es la razón de esta paradoja? Un factor obvio es que los métodos microscópicos cuentan células muertas mientras que la determinación de viables no. Sin embargo, más importante es el hecho de que diferentes organismos, incluso los presentes en muestras naturales muy pequeñas, pueden diferir mucho en cuanto a necesidades nutricionales y condiciones de crecimiento en el cultivo en el laboratorio. Por tanto, un medio y unas condiciones de crecimiento pueden sustentar el crecimiento de tan sólo una subpoblación de la comunidad microbiana total. Si esta subpoblación representa, por ejemplo, 10^6 células/g en una comunidad total de 10^9 células viables/g, el recuento en placa revelará solamente el 0,1% de la población microbiana total, lo que supone una estimación muy baja del número real de células viables.

Los resultados del recuento en placa conllevan, por tanto, cierta incertidumbre. La determinación de grupos específicos por recuento en placa empleando medios muy selectivos como, por ejemplo, en el análisis microbiano de aguas residuales o de alimentos, puede proporcionar datos fiables. Por el contrario, el recuento de «todas las células» de las mismas muestras usando un único medio y una sola serie de condiciones de crecimiento puede resultar —y normalmente resulta— en una estimación a la baja que difiere en varios órdenes de magnitud de los números reales de células.

6.10 Minirrevisión

El recuento de células viables (recuento de colonias en placa) mide sólo la población viva presente en una muestra.

- ¿Por qué un recuento de viables es más sensible que un recuento microscópico?
- ¿Qué suposición se hace al relacionar el recuento en placa con el número de células?
- Describa cómo obtendría una dilución 10^{-7} de un cultivo bacteriano.
- ¿En qué consiste la «gran anomalía del recuento en placa»?

6.11 Medida de la masa microbiana: métodos turbidimétricos

Durante el crecimiento exponencial todos los componentes celulares aumentan en proporción al número de células. Por tanto, en vez de medir los cambios en el número de células en función del tiempo podríamos medir el

aumento en proteína, en DNA o en el peso seco de un cultivo como un indicador del crecimiento. Un método muy rápido y útil de obtener estimaciones del número de células son las *medidas de turbidez*.

Una suspensión celular aparece turbia a la vista porque las células dispersan la luz que atraviesa la suspensión. Cuantas más células estén presentes mayor será la luz dispersada y por tanto mayor la turbidez. Lo que realmente se determina por valoraciones turbidimétricas es la masa celular total. Sin embargo, como la biomasa es proporcional al número de células, en un cultivo en crecimiento podemos usar la turbidez para medir el número de células.

Densidad óptica

La turbidez puede medirse con un espectrofotómetro, un instrumento que hace pasar la luz a través de suspensiones celulares y detecta la cantidad de luz emergente no dispersada (**Figura 6.17**). El espectrofotómetro emplea un prisma o red de difracción para generar luz incidente de longitud de onda específica (Figura 6.17*a*). Las longitudes de onda más comúnmente usadas para medir la turbidez bacteriana son 480nm (azul), 540 nm (verde), 600 nm (naranja) y 660 nm (rojo). La sensibilidad es mayor a longitudes de onda cortas, pero las medidas con suspensiones celulares densas son más exactas a mayores longitudes de onda. Sin embargo, a cualquier longitud de onda lo que se mide es el descenso de luz no dispersada causado por la turbidez. En un espectrofotómetro las lecturas se expresan en unidades de *densidad óptica* (OD) a una longitud de onda determinada; por ejemplo OD_{540} indica la medida de la densidad óptica a 540 nm (Figura 6.17).

Relación entre densidad óptica y número de células

En el caso de organismos unicelulares, la densidad óptica es proporcional (dentro de ciertos límites) al número de células. Por consiguiente, las lecturas de turbidez pueden usarse como un sustituto de los métodos de contaje directo para células totales o viables. Sin embargo, antes de utilizar la turbidez como sistema para estimar el número de células, se debe preparar primero un estándar que relacione el número de células (recuento microscópico o de viables), el peso seco o el contenido en proteína con la turbidez. Como puede verse, tal curva de calibración sólo es válida dentro de ciertos límites (Figura 6.17*c*). A altas concentraciones celulares, la luz dispersada por una célula, que normalmente no alcanzaría el detector, puede ser redispersada por otra de tal modo que para la fotocélula es como si no hubiese sido dispersada nunca. Cuando esto ocurre, la correspondencia entre el número de células y la turbidez pierde linealidad (Figura 6.17*c*) y las medidas realizadas de densidad óptica son por tanto menos exactas. Sin embargo, dentro de este límite, que varía para cada organismo, las medidas de turbidez pueden ser estimaciones razonablemente precisas del número de células o del peso seco.

www.elsolucionario.com

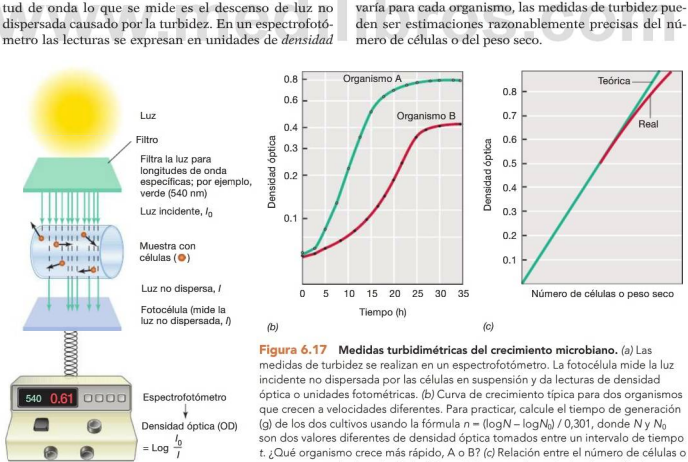


Figura 6.17 Medidas turbidimétricas del crecimiento microbiano. *(a)* Las medidas de turbidez se realizan en un espectrofotómetro. La fotocélula mide la luz incidente no dispersada por las células en suspensión y da lecturas de densidad óptica o unidades fotométricas. *(b)* Curva de crecimiento típica para dos organismos que crecen a velocidades diferentes. Para practicar, calcule el tiempo de generación (*g*) de los dos cultivos usando la fórmula $n = (\log N - \log N_0) / 0{,}301$, donde N y N_0 son dos valores diferentes de densidad óptica tomados entre un intervalo de tiempo *t*. ¿Qué organismo crece más rápido, A o B? *(c)* Relación entre el número de células o peso seco y sus lecturas turbidimétricas. Nótese que la equivalencia se pierde a valores altos de turbidez. *Véase* la Figura 1 de la sección Información adicional.

Las medidas de turbidez tienen la virtud de ser rápidas y fáciles de realizar. Además, estas determinaciones se pueden hacer normalmente sin destruir o modificar notablemente la muestra. Por estos motivos, las medidas de turbidez se usan con frecuencia para seguir el crecimiento de cultivos microbianos. La misma muestra puede medirse repetidamente y los resultados se pueden representar semilogarítmicamente frente al tiempo. A partir de estos datos, resulta fácil calcular el tiempo de generación y otros parámetros de un cultivo en crecimiento (Figura 6.17*b*).

Las determinaciones de turbidez son a veces problemáticas. Aunque muchos microorganismos crecen en medio líquido formando suspensiones uniformes, otros no lo hacen. Algunas células forman pequeñas o grandes agregaciones y en tales casos las medidas de OD pueden ser muy imprecisas como indicación de la biomasa total microbiana. Además, muchas bacterias crecen formando biofilms en los lados de los tubos y otros recipientes de cultivo reflejando, en condiciones de laboratorio, cómo crecen realmente en la naturaleza (*véase* en Información adicional: «Crecimiento microbiano en el mundo real: biopelículas»). Así, para que la OD de un cultivo líquido refleje con exactitud la masa celular (y por tanto el número de células) debe evitarse la agregación y la formación de biofilms. Esto se logra frecuentemente mediante agitación o por cualquier otro modo que mantenga las células bien mezcladas durante el proceso del crecimiento.

6.11 Minirrevisión

Las medidas de turbidez son un método indirecto pero muy útil y rápido de medir el crecimiento bacteriano. Sin embargo, para relacionar un recuento celular directo con un valor de turbidez, se requiere establecer primero una curva estándar de calibración.

- Cite dos ventajas del uso de la turbidez para medir el crecimiento celular.
- Describa cómo usaría un valor de turbidez para deducir cuántas colonias obtendría al sembrar en placa un cultivo de una OD determinada.

IV TEMPERATURA Y CRECIMIENTO MICROBIANO

Las actividades de los microorganismos se ven afectadas de modo muy importante por las condiciones químicas y físicas del medio. A este respecto se pueden considerar muchos factores ambientales, pero hay cuatro factores que juegan un papel destacado en el control del crecimiento microbiano: la temperatura, el pH, la disponibilidad de agua, y el oxígeno. Otros factores también pueden afectar potencialmente al crecimiento, como la presión y la radiación. Estos factores ambientales más especializados serán considerados más adelante en este libro cuando se analicen hábitats microbianos en los que tienen un papel importante.

6.12 Efecto de la temperatura sobre el crecimiento microbiano

La temperatura es probablemente el factor más importantes que afecta al crecimiento y a la supervivencia de los microorganismos. A temperaturas muy frías o muy calientes los microorganismos no crecerán y pueden incluso morir. Pero los valores absolutos de estas temperaturas mínimas o máximas varían mucho entre microorganismos diferentes y por lo general reflejan el rango de la temperatura media de sus hábitats naturales.

Temperaturas cardinales

La temperatura ejerce efectos opuestos sobre los organismos vivos. A medida que se eleva la temperatura, las reacciones químicas y enzimáticas de la célula son más rápidas, y el crecimiento se acelera; sin embargo, por encima de una cierta temperatura algunas proteínas particulares pueden sufrir daños de modo irreversible. En consecuencia, dentro de un cierto margen, un aumento de temperatura acarrea un aumento en el crecimiento y en el funcionamiento metabólico hasta que las reacciones de inactivación se ponen en marcha. Por encima de tal punto, las reacciones celulares caen a cero.

Para cada microorganismo existe una temperatura mínima por debajo de la cual no produce crecimiento, una temperatura óptima a la que se produce el crecimiento más rápido, y una temperatura máxima por encima de la cual no es posible el crecimiento (**Figura 6.18**). La temperatura óptima está siempre más cerca de la máxima que de la mínima. Estas tres temperaturas, que se

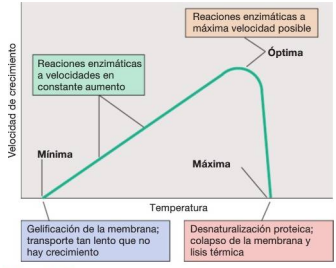


Figura 6.18 Temperaturas cardinales: mínima, óptima y máxima. Los valores reales varían para cada organismo (*véase* Figura 6.19).

Crecimiento microbiano en el mundo real: biopelículas

En este capítulo hemos presentado varios modos de medir el crecimiento microbiano, como los métodos microscópicos, los recuentos de viables y las medidas de turbidez de suspensiones celulares en medio líquido. Las estimaciones turbidimétricas del crecimiento microbiano se basan en la suposición de que las células tienen una distribución uniforme en medio líquido. Bajo tales condiciones, la densidad óptica de un cultivo es proporcional al logaritmo del número de células en suspensión (**Figura 1**). Este estilo de vida en flotación, denominado planctónico, es el modo real en el que muchas bacterias viven en la naturaleza, como por ejemplo las células que habitan en la columna de agua de un lago. No obstante, muchos otros microorganismos son sésiles, es decir, viven unidos a una superficie. Estas células unidas pueden formar **biopelículas**.

El hombre encuentra a diario biopelículas bacterianas cuando limpia el bebedero de un animal tras varios días, o cuando siente con su lengua la película que se ha desarrollado sobre los dientes no cepillados.

Una biopelícula es una matriz polisacarídica fijada que contiene células bacterianas. La formación de las biopelículas incluye varias etapas: (1) unión reversible de células planctónicas (2) unión irreversible de dichas células, (3) crecimiento celular y producción del polisacárido y (4) desarrollo posterior hasta formar la persistente y casi impenetrable malla de la biopelícula madura. En las primeras fases de la formación, la unión de las células a una superficie induce la expresión de genes que son específicos de biopelículas. Estos genes dirigen la producción de polisacáridos superficiales, cuya producción facilita la unión de más células. Finalmente, mediante crecimiento y reclutamiento, se desarrolla una comunidad microbiana completa dentro de la fina matriz polisacarídica.

Las biopelículas bacterianas pueden afectar notablemente al hombre. Por ejemplo, las infecciones bacterianas están a menudo relacionadas con patógenos que desarrollan biopelículas durante el proceso de la enfermedad. La fibrosis quística (FC) se caracteriza por el desarrollo de una biopelícula en los pulmones que contiene a *Pseudomonas aeruginosa* y a otras bacterias en los pacientes con esta enfermedad (**Figura 2**). La matriz de la biopelícula, que contiene alginato y otros polisacáridos junto con DNA bacteriano, reduce mucho la capacidad de penetración de agentes antimicrobianos como los antibióticos, y por tanto las bacterias de la biopelícula pueden no verse afectadas por los medicamentos. Las biopelículas bacterianas también se han relacionado con infecciones difíciles de tratar que van asociadas a implantes de válvulas cardíacas y articulaciones artificiales.

Las biopelículas también representan un problema para la industria, y los de origen microbiano pueden producir atascamientos de equipos y la contaminación de productos, especialmente si hay líquidos que sean un buen sustrato, como la leche. También pueden llevar a cabo un daño de largo alcance en las instalaciones de distribución de agua y en otras infraestructuras públicas. Las biopelículas que aparecen en grandes depósitos de almacenamiento, como los tanques de combustible, pueden contaminar a éste y originar acidez por compuestos químicos, como el sulfuro de hidrógeno (H_2S), que secretan las bacterias de la biopelícula.

Las biopelículas son una forma de crecimiento bacteriano frecuente en la naturaleza. La biopelícula no solo ofrece protección frente a compuestos peligrosos, sino que la gruesa matriz supone una barrera eficaz para que otros microorganismos se alimenten, e impide el desplazamiento o arrastre de las bacterias constituyentes a otro hábitat menos favorable. Aunque en el laboratorio las densidades ópticas nos dan una idea de cultivos bacterianos en perfecta suspensión, en el mundo real la norma del crecimiento bacteriano puede ser la de formar biopelículas.

Analizaremos las biopelículas con más detalle cuando en el Capítulo 23 nos centremos en las superficies como hábitats microbianos (*véanse* Secciones 23.3-23.5).

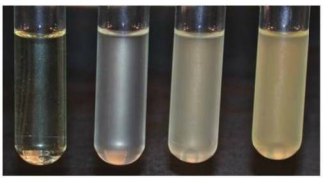


Figura 1 *Cultivos líquidos de* Escherichia coli. *En estos cultivos las células estén en un estado planctónico y suspendidas uniformemente en el medio. La densidad óptica (OD_{540}) de cada cultivo aumenta de izquierda a derecha y se muestra bajo el tubo.*

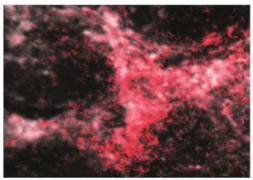


Figura 2 *Células de* Pseudomonas aeruginosa *teñidas con un colorante fluorescente en una muestra de esputo de un paciente con fibrosis quística. Las células rojas son de* P. aeruginosa *y el material blanco es alginato, un material polisacarídico producido por* P. aeruginosa.

llaman **temperaturas cardinales**, son generalmente características de cada tipo de organismo.

Las temperaturas cardinales de diferentes microorganismos difieren mucho entre sí; algunos muestran temperaturas óptimas tan bajas como 4 °C y otros tan altas como más de 100 °C. El rango de temperaturas en el que ocurre crecimiento es incluso más amplio que este margen, desde temperaturas por debajo del punto de congelación hasta temperaturas superiores a las de ebullición. No obstante, no hay ningún microorganismo que ocupe todo este intervalo de temperaturas que, para el caso de un organismo determinado, suele ser de unos 25-40 °C.

La temperatura máxima de crecimiento de un organismo determinado refleja probablemente la inactivación de una o más proteínas celulares que son esenciales. Sin embargo, los factores que determinan la temperatura mínima de crecimiento de un organismo no están tan claros. Como se mencionó antes (*véase* Sección 4.5) la membrana citoplasmática debe estar en un estado fluido para su correcto funcionamiento y tal vez la temperatura mínima de crecimiento sea el resultado de la «congelación» de esas funciones de la membrana en cuanto a transporte de nutrientes o a la formación del gradiente de protones. La temperatura *óptima* de crecimiento refleja un estado en que todos o la mayor parte de los componentes celulares están funcionando a su máxima velocidad.

Clases de microorganismos según la temperatura

Aunque existe todo un espectro continuo entre los microorganimos, desde los que tienen su temperatura óptima a temperaturas muy bajas hasta los que la tienen a temperatura alta, se pueden distinguir al menos cuatro grupo de microorganismos con relación a su temperatura óptima: **psicrófilos**, con temperaturas óptimas bajas, **mesófilos**, con temperaturas óptimas moderadas, **termófilos**, con altas temperaturas óptimas, e **hipertermófilos**, con temperaturas óptimas muy elevadas (**Figura 6.19**).

Los mesófilos tienen una amplia distribución en la naturaleza. Se encuentran en animales de sangre caliente y en medios acuáticos y terrestres de latitudes templadas y tropicales. Los psicrófilos y los termófilos se encuentran en ambientes muy fríos o muy calientes, respectivamente. Los hipertermófilos son típicos de ambientes concretos extremadamente calientes como fuentes termales, géiseres y emisiones hidrotermales submarinas.

Escherichia coli es un típico mesófilo, y se han definido con precisión sus temperaturas cardinales. La temperatura óptima para la mayoría de cepas de *E. coli* es de 39 °C, la máxima 48 °C y la mínima 8 °C. Por tanto, el *rango* de temperaturas para *E. coli* es de 40 °C, próximo al límite superior de los procariotas (Figura 6.19).

Nos centraremos ahora en los interesantes casos que representan los microorganismos que crecen a temperaturas muy bajas o muy altas, los extremófilos.

6.12 Minirrevisión

La temperatura es un factor ambiental importante en el control del crecimiento microbiano. Las temperaturas cardinales definen las temperaturas mínima, óptima y máxima a las que crece cada organismo. Los microorganismos pueden agruparse según los márgenes de temperatura que requieren.

- ¿Cuáles son las temperaturas cardinales aproximadas de *Escherichia coli*? ¿A que clase pertenece por su temperatura óptima?
- Diferencie un hipertermófilo de un psicrófilo
- *Escherichia coli* puede crecer a temperatura más alta en medio complejo que en medio definido ¿Porqué?

www.medilibros.com

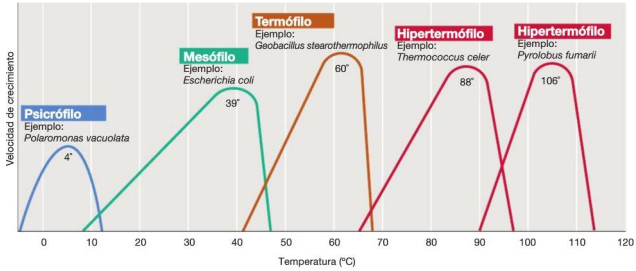


Figura 6.19 Relación entre la temperatura y las velocidades de crecimiento de psicrófilos, mesófilos, termófilos y dos hipertermófilos diferentes. En cada caso se indican las temperaturas óptimas de microorganismos representativos.

6.13 Crecimiento microbiano a bajas temperaturas

Los seres humanos vivimos y trabajamos en la superficie de nuestro planeta en lugares donde las temperaturas son generalmente moderadas, y por ello consideramos que los ambientes muy calientes y muy fríos son «extremos». Sin embargo, los hábitats normales de muchos microorganismos pueden ser extremadamente calientes o extremadamente fríos. Tales microorganismos se conocen como **extremófilos** (*véase* Sección 2.4 y Tabla 2.1) y han evolucionado hasta crecer de modo óptimo en esas condiciones. Consideraremos la biología de estos fascinantes organismos aquí y en la siguiente sección.

Ambientes fríos

Gran parte de la superficie terrestre experimenta bajas temperaturas. Los océanos, que representan más de la mitad de la superficie terrestre, tienen una temperatura media de 5 °C y las profundidades marinas tienen temperaturas constantes de 1-3 °C. En el Ártico y en el Antártico hay vastas áreas permanentemente congeladas o que se descongelan sólo durante algunas semanas al año en el verano (**Figura 6.20**). Estos ambientes fríos raramente son estériles y en ellos se encuentran microorganismos vivos y creciendo a cualquier temperatura baja a la que aún exista agua líquida. Las sales y otros solutos, por ejemplo, rebajan el punto de congelación del agua y permiten el crecimiento microbiano por debajo de la

www.medfibros.com

Figura 6.20 **Hábitats microbianos del mar Antártico y microorganismos.** *(a)* Una muestra de agua de mar permanentemente helada de McMurdo Sound, Antártida. La muestra tiene 8 cm de ancho.Nótese la intensa coloración debida a microorganismos pigmentados. *(b)* Micrografía de contraste de fases de microorganismos fotótrofos de la muestra anterior. La mayoría de los microoganismos son diatomeas o algas verdes (todos microorganismos fotótrofos eucariotas). *(c)* Micrografía electrónica de transmisión de *Polaromonas*, una bacteria con vesículas de gas que vive en los hielos marinos y tiene crecimiento óptimo a 4 °C. *(d)* Fotografía de la superficie del lago Bonney, McMurdo Dry Valleys, Antártida. Como muchos otros lagos antárticos, este lago, de unos 40 metros de profundidad, está permanentemente helado con una cubierta de hielo de unos 5 metros. La columna de agua en el lago Bonney está próxima a 0° y contiene tanto zonas óxicas como anóxicas; por tanto en el lago hay microorganismos aerobios y anaerobios. Sin embargo, ningún microorganismo eucariótico habita los lagos de Dry Valleys, lo que los convierte en un ecosistema miocrobiano único.

temperatura de congelación del agua pura, 0 °C. Incluso en muchos materiales congelados normalmente existen pequeñas zonas microscópicas con agua líquida donde se concentran solutos que los microorganismos pueden metabolizar y por tanto usar para crecer. Dentro de los glaciares, por ejemplo, existe una malla de canales de agua líquida en donde los procariotas se desarrollan y se reproducen.

Es importante distinguir entre los ambientes que son fríos todo el año y aquellos que solamente son fríos en el invierno. Los últimos, que son característicos de climas templados, pueden tener temperaturas estivales de hasta 40°C. Un lago templado, por ejemplo, puede tener un período de superficie helada en el invierno, pero el período en el que el agua está a 0 °C es relativamente corto. Tales ambientes altamente variables son muchos menos favorables para los organismos adaptados al frío que los ambientes que están constantemente fríos, como los que se encuentran en las regiones polares, a alturas elevadas, o en las profundidades oceánicas. Por ejemplo, los lagos antárticos en McMurdo Dry Valleys contienen una capa permanente de hielo de varios metros de espesor (Figura 6.20*d*). La columna de agua bajo el hielo de estos lagos permanece a 0 °C o por debajo de esa temperatura todo el año y es por tanto un hábitat ideal para los microorganismos que son activos en el frío.

Microorganismos psicrófilos

Como se indicó, los organismos con temperatura óptima baja se llaman *psicrófilos*. Un psicrófilo puede definirse como un organismo que tiene una temperatura óptima de crecimiento de 15 °C o inferior, una temperatura máxima de crecimiento por debajo de 20 °C y una temperatura mínima de crecimiento de 0 °C o más baja. Los organismos que crecen a 0 °C pero tienen temperaturas óptimas de 20-40 °C se llaman **psicrotolerantes**.

Los psicrófilos se encuentran en ambientes permanentemente fríos y mueren rápidamente si se exponen a tan solo 20 °C. Por esta razón, su estudio en el laboratorio requiere un gran cuidado para estar seguros de que nunca se calientan durante el muestreo, el transporte al laboratorio, el aislamiento y otras manipulaciones. En aguas oceánicas abiertas, donde la temperatura permanece constante alrededor de 3 °C, están presentes varias *Bacteria* y *Archaea*, aunque solamente se han logrado aislar y cultivar unas pocas en el laboratorio. Los ambientes templados, que se calientan en el verano, no pueden mantener a los psicrófilos sensibles al calor debido a que no sobreviven a las temperaturas estivales.

Las algas psicrófilas crecen en masas densas entre, o bajo el hielo de las regiones polares (Figura 6.20*a*,*b*) y se observan a menudo sobre la superficie de zonas nevadas y glaciares en número tan elevado que prestan un color rojo o verde a la superficie (**Figura 6.21***a*). El alga de las nieves más común es *Chlamydomonas nivalis*, cuyas esporas de color rojo brillante son las responsables del ocasional color rojizo de la nieve (Figura 6.21*b*). Esta alga

Figura 6.21 **Algas de las nieves.** *(a)* Banco de nieve en Sierra Nevada, California, con coloración roja debida a la presencia de algas. La nieve rosada es común en todo el mundo durante el verano en bancos de nieve de elevadas altitudes. *(b)* Micrografía de esporas pigmentadas del alga de las nieves *Chlamydomonas nivalis*. Las esporas germinan originando células del alga verdes y móviles. Algunas cepas de algas de la nieve son verdaderas psicrófilas, pero muchas son psicrotolerantes y crecen mejor a temperaturas superiores a 20°C.

www.medilibros.com

verde crece dentro de la nieve como células vegetativas con pigmentación verdosa y luego esporula; cuando la nieve se derrite, la erosión y la vaporización facilitan que las esporas se concentren en la superficie. Otras especies de algas relacionadas contienen diversos carotenoides y las zonas de nieve con estas algas pueden ser también verdes, naranja, marrón o violáceas.

Además de las algas de las nieves, se han aislado bacterias psicrófilas, muchas de las cuales proceden de sedimentos marinos o del Antártico. Algunas de éstas, en particular algunos aislamientos de mares helados como *Polaromonas* (Figura 6.20*c*), tienen la menor temperatura óptima y máxima de crecimiento de todos los microorganismos conocidos (4 °C y 12 °C, respectivamente).

Microorganismos psicrotolerantes

Los microorganismos psicrotolerantes tienen una distribución mucho más amplia que los psicrófilos y se pueden aislar de suelos y aguas de climas templados así como de carnes, leche y productos derivados, sidra, vegetales y fruta almacenada bajo refrigeración (4 °C). Como se ha señalado, los psicrotolerantes crecen mejor a temperaturas entre 20-40 °C. Además, aunque los psicrotolerantes son capaces de crecer a 0 °C, no crecen muy bien a esa temperatura, y se debe esperar a veces varias semanas antes de que se pueda apreciar el crecimiento de colonias en medios de cultivo en el laboratorio. Varios géneros de bacterias y arqueas y microorganismos eucariotas tienen representantes que son psicrotolerantes.

Adaptaciones moleculares a la psicrofilia

Los psicrófilos producen enzimas que funcionan de modo óptimo en el frío y que con frecuencia se desnaturalizan o inactivan incluso a temperaturas muy moderadas. Las bases moleculares de este hecho no se conocen por completo pero se ha observado que, en general, las enzimas activas en frío tienen en su estructura secundaria mayor cantidad de hélices-α y menor cantidad de hojas-β (*véase* Sección 3.7) que las enzimas que son inactivas en frío. La disposición en hoja-β tiende a ser una estructura más rígida, y la mayor cantidad de hélice-a en las enzimas activas en frío puede permitir a estas proteínas mayor flexibilidad en esas condiciones.

Las enzimas activas en frío también suelen tener más aminoácidos polares y menos aminoácidos hidrofóbicos que las enzimas presentes en mesófilos y termófilos. Además, suelen presentar menos enlaces débiles (*véase* Sección 3.1) y una menor interacción entre dominios estructurales respecto a las proteínas de microorganismos que crecen mejor a mayores temperaturas. Ambas características pueden servir igualmente de ayuda para mantener flexibles y enzimáticamente activas a baja temperatura a las proteínas de estas enzimas en el ambiente altamente polar del citoplasma.

Otra característica de los psicrófilos es que, en comparación con los mesófilos, el transporte activo (*véase* Sección 4.5) funciona mejor a baja temperatura, lo que constituye una indicación de que la membrana citoplásmica de los psicrófilos está construida de tal modo que las bajas temperaturas no inhiben estos fenómenos. La composición de las membranas citoplasmáticas en los psicrófilos tiene un mayor contenido en ácidos grasos no saturados (*véase* Sección 5.17), y esto facilita el estado semifluido de las membranas a baja temperatura (las membranas compuestas fundamentalmente por ácidos grasos saturados se vuelven céreas y no funcionales a esas temperaturas). Los lípidos de algunas bacterias psicrófilas también contienen ácidos grasos poliinsaturados e hidrocarburos de cadena larga con muchos enlaces dobles. A este respecto, en los lípidos de algunas bacterias del Antártico se ha identificado un hidrocarburo con nueve dobles enlaces ($C_{31:9}$), y la bacteria *Psycroflexus* contiene ácidos grasos con 4 y 5 dobles enlaces. Estos ácidos grasos permanecen más flexibles a baja temperatura que los ácidos grasos saturados o monoinsaturados.

Congelación

A pesar de la capacidad de algunos organismos para crecer a bajas temperaturas, existe un límite por debajo del cual es imposible la reproducción. El agua pura se congela a 0 °C y el agua de mar a –2,5 °C, pero la congelación no es un proceso homogéneo e incluso a las temperaturas más bajas existen microbolsas de agua no congelada. Mientras exista agua líquida disponible, es posible el crecimiento microbiano por debajo del punto de congelación. Hay evidencias convincentes que demuestran que existe crecimiento microbiano a –12 °C, pero no por debajo de este valor.

Aunque la congelación evita el crecimiento microbiano no causa necesariamente la muerte celular. Las células microbianas pueden continuar metabolizando a temperaturas muy inferiores a las que permiten el crecimiento. Por ejemplo, se ha demostrado respiración con producción de CO_2 en suelos de tundra a temperaturas tan bajas como –39 °C. Por tanto, hay enzimas que continúan funcionando a temperaturas muy inferiores a las que limitan el crecimiento.

Además, el medio de suspensión de las células afecta su sensibilidad al frío. Si en el medio están presentes solutos como el glicerol o el dimetilsulfóxido (DMSO), se rebaja el punto de congelación. Estos solutos penetran en las células y las protegen de los efectos de la deshidratación a la vez que evitan la formación de cristales de hielo. De hecho, la adición de tales agentes, que se denominan *crioprotectores*, es un método normal de conservar cultivos microbianos a temperaturas muy bajas. Para mantener células durante largo tiempo, las células se suelen suspender en un medio con 10% de DMSO o glicerol y se congelan rápidamente de –70 a –196 °C. Las células congeladas, preparadas adecuadamente y que no hayan sido congeladas y descongeladas repetidamente, pueden permanecer viables por largo tiempo, al menos por décadas.

Nos movemos ahora al otro extremo del termómetro para considerar los microorganismos que viven a temperaturas elevadas.

6.13 Minirrevisión

Los organismos con temperaturas óptimas bajas se llaman psicrófilos y los representantes más extremos habitan ambientes permanentemente fríos. Los psicrófilos presentan biomoléculas que funcionan mejor a baja temperatura pero que son anormalmente sensibles a temperaturas templadas.

- ¿En qué se diferencia un organismo psicrófilo de un psicrotolerante?
- ¿Qué adaptaciones presenta la membrana citoplásmica de los psicrófilos y porqué son necesarias?

6.14 Crecimiento microbiano a altas temperaturas

La vida microbiana florece en ambientes de elevada temperatura, incluso en el agua hirviendo. Por encima de 65 °C solo viven formas procariotas, pero en esas condiciones existe una enorme diversidad de microorganismos pertenecientes a *Bacteria* y *Archaea*.

Ambientes con temperaturas altas

Aquellos microorganismos cuya temperatura óptima está por encima de 45 °C se llaman *termófilos* y aquellos cuya temperatura óptima está por encima de 80 °C son los *hipertermófilos* (Figura 6.19). En la naturaleza se encuentran temperaturas tan altas sólo en algunas áreas muy restringidas. Por ejemplo, en suelos muy expuestos a la luz solar se alcanzan a mediodía temperaturas superiores a 50 °C, e incluso se puede llegar a los 70 °C. Los materiales en fermentación, como los acúmulos de compost y los ensilados, pueden alcanzar también temperaturas de 70 °C. Pero las temperaturas más altas en la naturaleza están asociadas con fenómenos volcánicos, en particular con las fuentes termales.

Muchos escapes de agua caliente tienen temperaturas próximas a la de ebullición y las fumarolas pueden alcanzar los 150-500 °C. Las emisiones hidrotermales de los fondos marinos tienen temperaturas de 350 °C o superiores (*véase* Sección 24.11). Las fuentes termales se encuentran distribuidas por todo el mundo, pero se concentran particularmente en el oeste de los Estados Unidos de América, Nueva Zelanda, Islandia, Japón, Italia, Indonesia, América Central y África Central. La zona de mayor concentración de este tipo de emisiones es el Parque Nacional de Yellowstone, Wyoming (USA).

Aunque en algunos casos la temperatura de las fuentes termales es variable, en otros es muy constante, con variaciones menores de 1–2 °C a lo largo del año. Estas fuentes tienen diversas composiciones químicas y valores de pH. Por encima de 65 °C, sólo se presentan procariotas (**Tabla 6.1**), pero la diversidad de *Bacteria* y *Archaea* puede ser muy amplia.

Tabla 6.1 Límites de temperatura conocidos en la actualidad para el crecimiento de seres vivos

Grupo	*Límites térmicos superiores (°C)*
Macroorganismos	
Animales	
Peces y otros vertebrados acuáticos	38
Insectos	45-50
Ostrácodos (crustáceos)	49-50
Plantas	
Plantas vasculares	45
Musgos	50
Microorganismos	
Microorganismos eucariotas	
Protozoos	56
Algas	55-60
Hongos	60-62
Procariotas	
Bacteria	
Cianobacterias	73
Fotótrofos anoxigénicos	70-73
Bacterias quimiorganótrofas/ quimiolitótrofas	95
Archaea	
Archaea quimiorganótrofas/ quimiolitótrofas	121[a]

[a]La temperatura límite superior a la que puede crecer el organismo *Pyrolobus fumarii* es de 113 °C. La especie *Pyrodictium* puede crecer incluso a 121 °C.

Hipertermófilos en fuentes termales

En muchas fuentes termales (**Figura 6.22**) se presenta una gran variedad de hipertermófilos típicos, tanto especies quimioorganótrofas como quimiolitótrofas. El crecimiento de estos organismos puede estudiarse mediante la inmersión de portas en el agua y su extracción al cabo de unos días; el examen microscópico de los portas revela colonias de procariotas que se desarrollan a partir de bacterias aisladas que se adhieren y crecen sobre la superficie del vidrio (Figura 6.20*b*). Los estudios ecológicos sobre estos organismos que viven en agua hirviendo demuestran que las velocidades de crecimiento son notablemente rápidas y que se presentan tiempos de generación tan cortos como 1 hora.

Se han obtenido cultivos de muchos de estos procariotas hipertermófilos, que corresponden a tipos morfológicos y fisiológicos variados de bacterias y arqueas. Estudios filogenéticos basados en la secuenciación del RNA ribosomal también han revelado una gran diversi-

medilibros.com

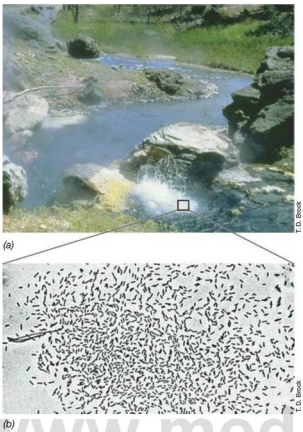


Figura 6.22 Crecimiento de hipertermófilos en agua hirviendo. *(a)* Boulder Spring, un pequeño arroyo de agua hirviendo en el parque nacional de Yellowstone. Este arroyo caliente presenta una temperatura de 1-2°C por encima del punto de ebullición. Los depósitos minerales cerca del cauce son de sílice y azufre. *(b)* Micrografía de una microcolonia de procariotas desarrollada sobre un porta inmerso en el agua del cauce de una fuente termal semejante a la mostrada en *(a)*.

www.medilibros.com

dad entre los hipertermófilos. Algunas arqueas hipertermófilas presentan temperaturas óptimas por encima de los 100 °C y por tanto sólo crecen en cámaras presurizadas que permiten alcanzar en el laboratorio temperaturas superiores al punto de ebullición. Ninguna especie conocida de bacterias es capaz de crecer por encima de 95 °C.

Termófilos

Muchos termófilos (con temperaturas óptimas de 45-80 °C) se presentan también en fuentes termales y en otros ambientes de aguas calientes. En las fuentes termales, a medida que el agua hirviendo fluye y corre por los bordes, se enfría gradualmente y origina un gradiente de temperatura. A lo largo de este gradiente, crecen varios microorganismos y cada especie diferente crece en un margen distinto de temperaturas (**Figura 6.23**). Estudiando la distribución de las especies en el gradiente y en distintas partes del mundo es posible determinar los límites de temperatura superior para cada clase de organismo (Tabla 6.1). A partir de esta información se ha llegado a la conclusión de que (1) los organismos procariotas son capaces de crecer a temperaturas más altas que los eucariotas; (2) dentro de los procariotas, los más termofílicos son especies de arqueas y (3) los organismos no fotótrofos son capaces de crecer a temperatura más elevada que los fotótrofos.

Los procariotas termófilos se encuentran también con frecuencia en ambientes artificiales. Los calentadores de agua domésticos o industriales presentan temperaturas de 60–80 °C y constituyen por tanto un hábitat favorable para el crecimiento de estos procariotas termofílicos. Se han aislado de calentadores de agua organismos semejantes a *Thermus aquaticus*, que es un termófilo común en arroyos de agua caliente (*véase* Sección 16.17). Las centrales eléctricas, las industrias que usan agua caliente y otras fuentes artificiales de naturaleza térmica son sitios donde pueden crecer los termófilos. Muchos de ellos se pueden aislar fácilmente utilizando medios complejos incubados a la temperatura del hábitat de la muestra original.

Estabilidad de las proteínas a elevadas temperaturas

¿Cómo pueden los termófilos y los hipertermófilos prosperar a tan altas temperaturas? En primer lugar, sus en-

Figura 6.23 Crecimiento de una cianobacteria termófila en un arroyo de agua caliente del Parque Nacional de Yellowstone. Patrón de desarrollo característico en forma de V (marcado por líneas rojas discontinuas) en el gradiente térmico, formado por cianobacterias en el límite superior de temperatura para la vida fotótrofa, 70-74 °C. El patrón cambia porque el agua se enfría más rápidamente en los bordes que en el centro del cauce. El agua fluye desde detrás de la fotografía hacia el frente de la misma. El color verdoso se debe a una cepa de la cianobacteria *Synechococcus* que es resistente a la temperatura. A medida que fluye el agua en el gradiente, la densidad celular aumenta porque se desarrollan cepas menos termofílicas, y el color verde se intensifica.

zimas y otras proteínas son mucho mas estables frente a la temperatura que las de los mesófilos y sus macromoléculas funcionan de modo *óptimo* a altas temperaturas. ¿Cómo logran esta estabilidad frente al calor? Los estudios de los enzimas termoestables indican que a menudo su secuencia difiere en muy pocos aminoácidos de la de los enzimas que llevan a cabo reacciones análogas en los mesófilos. Parece que unos cuantos cambios en puntos clave permiten un plegamiento diferente de la cadena polipeptídica, que es responsable de la termoestabilidad.

La estabilidad en los hipertermófilos se debe también a un aumento en el establecimiento de enlaces iónicos entre las cargas positivas y negativas de diversos aminoácidos presentes y al empaquetamiento altamente hidrofóbico del interior de las proteínas que favorece la resistencia natural a la desnaturalización en el ambiente acuoso del citoplasma. Además, los hipertermófilos contienen cantidades significativas de solutos, como di-inositol fosfato, di-glicerol fosfato y manosilglicerato, que ayudan a estabilizar las proteínas evitando su degradación térmica.

Estabilidad de las membranas a elevadas temperaturas

Junto a los enzimas y a otros componentes celulares, las membranas citoplásmicas de los termófilos y de los hipertermófilos necesitan ser termoestables. Anteriormente mencionamos que los psicrófilos tienen membranas con lípidos ricos en ácidos grasos poliinsaturados que mantienen las membranas funcionales y en estado semifluido a bajas temperaturas. A la inversa, los termófilos presentan típicamente lípidos muy ricos en ácidos grasos saturados, permitiendo a las membranas permanecer funcionalmente estables a elevadas temperaturas. Los ácidos grasos saturados forman un microambiente más hidrofóbico que los no saturados, favoreciendo la estabilidad de la membrana.

Los hipertermófilos, en su mayoría arqueas, no presentan ácidos grasos en sus membranas sino hidrocarburos de tipo C_{40} que están compuestos de unidades isoprenoides repetitivas de cinco átomos de carbono que se unen por enlace éter al glicerol fosfato (*véase* Figuras 4.7*c* y 4.8*b*). Además la estructura global de estas membranas es la de una *monocapa* lipídica en vez de *bicapa* lipídica (Figura 4.8*d*). Esta estructura mejora la capacidad de las membranas para resistir la disgregación a las temperaturas vitales tan altas de los hipertermófilos. Consideraremos otros aspectos sobre la estabilidad al calor de los hipertermófilos, incluyendo la del DNA, en las Secciones 17.13-17.15.

Termofilia y biotecnología

Los microorganismos termófilos e hipertermófilos resultan interesantes por algo más que por razones de biología fundamental. Estos microorganismos ofrecen importantes ventajas para procesos industriales y biotecnológicos, muchos de los cuales funcionan de modo más rápido y eficaz a altas temperaturas. Las enzimas de los termófilos y de los hipertermófilos se usan ampliamente en microbiología industrial porque son capaces de catalizar reacciones bioquímicas a temperaturas elevadas y son más estables que las de los mesófilos, de modo que la vida media de estas preparaciones enzimáticas es más prolongada.

Un ejemplo clásico de enzima resistente al calor y de gran importancia biológica es la DNA polimerasa aislada del termófilo *Thermus aquaticus*. Esta enzima, conocida como *Taq polimerasa*, se usa para la repetición automática de los pasos que tienen lugar en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*), una técnica muy importante en biología (*véase* Sección 12.8). Se conocen otros usos de enzimas termoresistentes y de otros productos celulares estables al calor que están siendo desarrollados para aplicaciones industriales.

6.14 Minirrevisión

Los organismos cuyas temperaturas óptimas de crecimiento se sitúan entre 45 y 80 °C se llaman termófilos, y aquellos cuyas temperaturas óptimas son superiores a 80 °C se llaman hipertermófilos. Estos organismos habitan ambientes calientes que pueden alcanzar temperaturas superiores a los 100 °C. Los termófilos y los hipertermófilos producen macromoléculas termoestables.

- ¿Cuál es el dominio de organismos que incluye especies que pueden crecer por encima de 100 °C?
- ¿Cuál es la estructura de la membrana de una arquea hipertermófila y porqué esta estructura es funcional a elevada temperatura?
- ¿Qué es la Taq polimerasa y por qué es importante?

V OTROS FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN AL CRECIMIENTO

La temperatura tiene un efecto importante sobre el crecimiento microbiano. Pero muchos otros factores también, entre ellos el pH, la osmomolaridad y el oxígeno.

6.15 Crecimiento microbiano y pH

La acidez o alcalinidad de una solución se expresa por su pH en una escala en la que la neutralidad es pH 7 (**Figura 6.24**). Los valores de pH por debajo de 7 son *ácidos* y los mayores de 7 son *alcalinos* o *básicos*. Es importante tener en cuenta que el pH es una función logarítmica ; por ello, un cambio en una unidad de pH representa un cambio de 10 veces en la concentración de hidrogeniones. Así, el vinagre (con pH cercano a 2) y el amoníaco do-

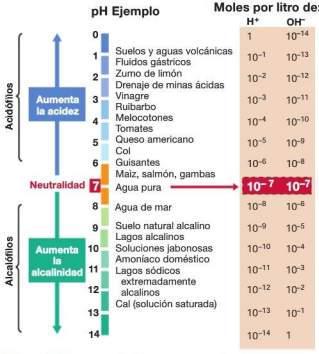


Figura 6.24 **La escala de pH.** Aunque algunos microorganismos pueden vivir a pH muy alto o muy bajo, el pH intracelular permanece próximo a la neutralidad.

méstico (con pH próximo a 11) difieren mil millones de veces en la concentración de hidrogeniones.

Cada microorganismo tiene un rango de pH dentro del cual es posible el crecimiento y normalmente posee un pH óptimo bien definido. La mayoría se desenvuelve e un margen de pH de 2-3 unidades. Muchos ambientes naturales tienen un valor de pH entre 4 y 9, y los organismos con pH óptimos de este orden son los más comunes. Sólo unas cuantas especies pueden crecer por debajo de 3 o por encima de 9.

Acidófilos

Los organismos que crecen mejor a pH bajo constituyen un tipo de extremófilos llamados **acidófilos**. El grupo de los hongos suele ser más acidófilo que las bacterias. Muchos hongos crecen de modo óptimo a pH 5 o inferior y unos cuantos crecen bien incluso a pH 2. Algunas bacterias son también acidófilas. De hecho, hay bacterias que son acidófilas *obligadas*, incapaces de crecer a pH neutro. Entre éstas se encuentran varias especies de *Acidithiobacillus* y varias *Archaea* como *Sulfolobus*, *Thermoplasma* y *Ferroplasma*.

El factor crítico más importante para el carácter acidófilo obligado es la estabilidad de la membrana citoplasmática. Cuando el pH es neutro, la membrana citoplasmática de las bacterias acidófilas se destruye y las células se lisan. Esto indica que estos organismos no son meramente *tolerantes* al ácido sino que *requieren* altas concentraciones de iones hidrógeno para su estabilidad. Por ejemplo, el procariota más acidófilo conocido, *Picrophilus oshimae* (arquea), crece a un pH óptimo de 0,7. Cuando el pH se eleva por encima de 4, las células de *P. oshimae* se lisan. Este microorganismo vive en suelos muy calientes y extremadamente ácidos asociados con actividades volcánicas.

Alcalófilos

Unos cuantos extremófilos presentan un pH óptimo para crecimiento muy elevado, a veces tan alto como pH 10. Los microorganismos que crecen a pH óptimos de 9 o más, se designan como **alcalófilos** o basófilos. Los alcalófilos se encuentran por lo general en hábitats muy básicos, como lagos sódicos o suelos ricos en carbonatos. Los procariotas alcalófilos mejor estudiados han sido especies de *Bacillus*, como *B. firmus*. Este organismos es alcalófilo pero tiene un amplio poco usual rango de crecimiento, a pH de 7.5 a 11. Algunos microorganismos alcalófilos extremos son también halófilos (amantes de sal), y la mayor parte de éstos pertenecen a *Archaea*. Muchas bacterias fotótrofas rojas (*véase* Sección 15.2) son también fuertemente alcalófilas. Algunos alcalófilos tienen aplicación industrial porque producen enzimas hidrolíticas, como proteasas y lipasas, que funcionan bien a pH alcalino y se usan como aditivos de los detergentes domésticos.

Los alcalófilos tienen interés básico por varias razones y resultan también muy interesantes por los problemas bioenergéticos que plantean al vivir a pH tan alto. Por ejemplo, no resulta obvio racionalizar cómo pueden establecer una fuerza motriz de protones cuando la superficie externa de la membrana es tan alcalina (*véase* Sección 5.12). En estudios realizados con *B. firmus* se ha evidenciado que, en lugar de la usual fuerza motriz de protones, es una fuerza motriz de Na^+ la que suministra la energía para el transporte y la movilidad. Sorprendentemente, sin embargo, también se genera una fuerza motriz de protones en células de *B. firmus*, incluso aunque la cara externa de la membrana está repleta de iones hidroxilo. En *B. firmus*, la fuerza motriz de protones es la responsable de la síntesis respiratoria de ATP.

pH intracelular

El pH óptimo para el crecimiento de un organismo representa solo el pH del medio *extracelular*. El pH *intracelular* debe permanecer próximo a la neutralidad para evitar la destrucción de macromoléculas celulares. En la mayor parte de los microorganismos cuyo pH óptimo para el crecimiento está entre 6 y 8, los llamados *neutrófilos*, el citoplasma permanece neutro o muy próximo a la neutralidad (Figura 6.24). Sin embargo, en los acidófilos y alcalófilos el pH interno puede variar. Por ejemplo, en el acidófilo antes mencionado, *P. oshimae*, el pH intracelular es 4,6 y en alcalófilos extremos se han logrado medir valores de pH intracelular de hasta 9,5. No se sabe con certeza si estos valores representan respectivamente los valores más bajos y más altos de pH intracelular, pero tales límites deben de ser muy próximos a éstos, pues el DNA es lábil al ácido y el RNA es lábil al álcali; si una cé-

www.medilibros.com

lula no pudiera mantener la estabilidad de estas macromoléculas esenciales no podría sobrevivir.

Tampones

En cultivos cerrados el pH cambia durante el crecimiento a consecuencia de las reacciones metabólicas que consumen o producen sustancias ácidas o básicas. Por eso, a los medios de cultivo microbianos se añaden con frecuencia sustancias amortiguadoras o tampones para mantener el pH relativamente constante. Tales tampones de pH funcionan en un rango estrecho de valores y, por tal motivo, se usan diferentes tampones para mantener diferentes valores de pH.

Para valores próximos a la neutralidad el fosfato potásico (KH_2PO_4) y el carbonato cálcico ($CaCO_3$) suelen ser tampones adecuados. Existen muchos otros tampones que se emplean en los medios de crecimiento o en el ensayo de enzimas extraídos de microorganismos, y el mejor sistema para un organismo puede ser considerablemente diferente del apropiado para otro caso. Por tanto, el más adecuado para cada caso debe determinarse de modo empírico, aunque en ensayos enzimáticos *in vitro*, un determinado tampón que funcione bien con el enzima de un organismo suele funcionar bien en el ensayo del mismo enzima de otros microorganismos.

6.15 Minirrevisión

La acidez o alcalinidad de un medio influencia notablemente el crecimiento microbiano. Algunos microorganismos crecen mejor a pH alto o bajo, aunque la mayoría lo hacen a pH entre 6 y 8. El pH intracelular debe estar próximo a la neutralidad.

- ¿Cuál es el incremento en protones de una solución que pasa de pH 7 a pH 3?
- ¿Qué son los tampones y para qué se usan?

6.16 Efectos osmóticos sobre el crecimiento microbiano

El agua es el disolvente de la vida y la disponibilidad de agua es un factor importante que determina el crecimiento de los microorganismos. La disponibilidad de agua no solo es función del contenido en agua que está presente en un medio, es decir, de la humedad o sequedad de un determinado hábitat, sino que también depende de la concentración de solutos, como sales, azúcares y otras sustancias que puedan estar presentes en el agua. Las sustancias disueltas tienen una cierta afinidad por el agua que hace que el agua asociada a los solutos no esté disponible para los organismos.

Actividad hídrica y ósmosis

En términos físicos, la disponibilidad del agua se expresa como la **actividad de agua**, abreviadamente a_w, que es el cociente entre la presión de vapor del aire en equilibrio con una sustancia o solución y la presión de vapor del agua pura a la misma temperatura. Los valores de a_w varían de 0 a 1, y algunos valores representativos se indican en la **Tabla 6.2**. La actividad hídrica de suelos agrícolas oscila generalmente entre 0,90 y 1.

El agua difunde desde regiones de alta concentración de agua (baja concentración de solutos) a regiones de menor concentración de agua (mayor concentración de solutos) en un proceso denominado *ósmosis* (*véase* Sección 4.6 y Figura 4.21). El citoplasma de una célula tiene una concentración de solutos mayor que el medio, por lo que el agua tiende a entrar dentro de la célula. En esas condiciones se dice que existe un *balance de agua positivo*. Sin embargo, cuando una célula está en un medio de baja actividad hídrica, existe una tendencia del agua a salir de ella. Esto puede representar un grave problema si la célula no tiene medios para evitarlo, pues una célula deshidratada no puede crecer.

Halófilos y organismos relacionados

En la naturaleza los efectos osmóticos son notables, principalmente en ambientes con altas concentraciones de sal. El agua de mar contiene aproximadamente un 3% de NaCl además de pequeñas cantidades de otros minerales y elementos. Los microorganismos marinos tienen generalmente una dependencia específica de NaCl y crecen de modo óptimo al valor de actividad hídrica propio del agua de mar (**Figura 6.25**). Tales microorganismos se llaman **halófilos**. El crecimiento de los halófilos requiere al menos algo de NaCl, pero la concentración óptima varía con el organismo concreto. Así, se usan los términos *halófilos discretos* y *halófilos moderados* para describir en cada caso requerimientos bajos (1-6%) y moderados (6-15%) de NaCl, respectivamente (Figura 6.25).

Tabla 6.2 Actividad del agua en varias sustancias

Actividad del agua (a_w)	*Material*	*Ejemplo de organismo*[a]
1,000	Agua pura	*Caulobacter, Spirillum*
0,995	Sangre humana	*Streptococus, Escherichia*
0,980	Agua marina	*Pseudomonas, Vibrio*
0,950	Pan	Muchos bacilos grampositivos
0,900	Jarabe de arce, jamón	Cocos grampositivos como *Staphylococcus*
0,850	Salami	*Saccharomyces* (levadura)
0,800	Pastel de frutas, mermelada	*Saccharomyces rouxii* (hongo)
0,750	Lagos salinos, pescado salado	*Halobacterium, Halococcus*
0,700	Cereales, caramelos, frutos secos	*Xeromyces bisporus* y otros hongos xerófilos

[a]Ejemplos seleccionados de procariotas u hongos conocidos que son capaces de crecer en medios de cultivo ajustados a la actividad hídrica mencionada.

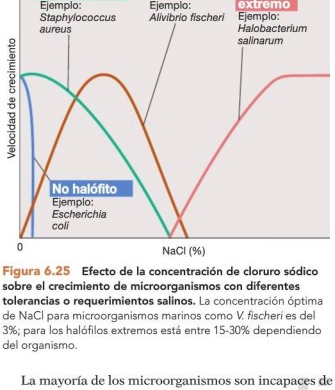


Figura 6.25 Efecto de la concentración de cloruro sódico sobre el crecimiento de microorganismos con diferentes tolerancias o requerimientos salinos. La concentración óptima de NaCl para microorganismos marinos como *V. fischeri* es del 3%; para los halófilos extremos está entre 15-30% dependiendo del organismo.

La mayoría de los microorganismos son incapaces de prosperar en ambientes con muy baja actividad hídrica y mueren, o se deshidratan y pasan a un estado de latencia, en tales circunstancias. Los organismos **halotolerantes** pueden soportar alguna reducción en el valor a_w del medio, pero generalmente crecen mejor en ausencia de solutos añadidos (Figura 6.25). Por el contrario, algunos organismos se desarrollan a muy baja actividad hídrica, y éstos son de gran interés no solo desde el punto de vista de su adaptación a la vida en dichas condiciones sino también desde el punto de vista aplicado en la industria alimentaria, donde solutos como la sal y la sacarosa se emplean frecuentemente como conservantes para inhibir el crecimiento microbiano.

Los organismos capaces de crecer en ambientes muy salinos se llaman **halófilos extremos** (Figura 6.25). Estos microorganismos requieren 15-30% de NaCl para su crecimiento óptimo, según las especies. Los organismos capaces de crecer en ambientes con alta concentración de azúcares se denominan **osmófilos**, y aquellos capaces de crecer en ambientes muy secos (por la falta de agua más bien que por presencia de solutos) se llaman **xerófilos**. La Tabla 6.2 recoge ejemplos de estos organismos.

Solutos compatibles

Cuando un organismo crece en un medio con baja actividad hídrica sólo puede obtener agua del ambiente incrementando su concentración interna de solutos. Tal incremento puede llevarse a cabo a partir del medio ambiente aumentando el bombeo de iones inorgánicos hacia dentro de la célula, o bien sintetizando o concentrando un soluto orgánico. Se conocen organismos que emplean uno u otro de estos mecanismos y la **Tabla 6.3** presenta algunos ejemplos.

El soluto utilizado en el interior celular para ajustar la actividad hídrica del citoplasma no debe inhibir los procesos bioquímicos celulares. Tales compuestos se llaman **solutos compatibles**. En los microorganismos existen diferentes solutos compatibles. Todas estas sustancias son muy solubles en agua y se trata de azúcares o de alcoholes derivados de azúcares, de otro tipo de alcoholes, de aminoácidos o de sus derivados (Tabla 6.3 y **Figura 6.26**). En el caso de *Archaea* halófilas extremas, como *Halobacterium* y unas cuantas *Bacteria* del mismo tipo, el soluto compatible es K^+ (*véase* Sección 17.3).

Tabla 6.3 Solutos compatibles de microorganismos

Organismo	*Principales solutos acumulados*	a_w *mínima para crecimiento*
Bacteria, no fotótrofas	Glicina betaína, prolina (principalmente grampositivas), glutamato (principalmente gramnegativas)	0,97-0,90
Cianobacterias de agua dulce	Sacarosa, trehalosa	0,98
Cianobacterias marinas	α-glucosilglicerol	0,92
Algas marinas	Manitol, varios glicósidos, prolina, propionato de dimetilsulfonio	0,92
Cianobacterias de lagos salinos	Glicina betaína	0,90-0,75
Bacterias halófilas fotótrofas anoxigénicas (especies de *Ectothiorhodospira/Halorhodospira* y *Rhodovibrio species*)	Glicina betaína, ectoína, trehalosa	0,90-0,75
Archaea halófilas extremas (por ejemplo, *Halobacterium*) y algunas *Bacteria* (por ejemplo, Haloanaerobium)	KCl	0,75
Dunaliella (alga verde halófila)	Glicerol	0,75
Levaduras xerófilas	Glicerol	0,83-0,62
Hongos filamentosos xerófilos	Glicerol	0,72-061

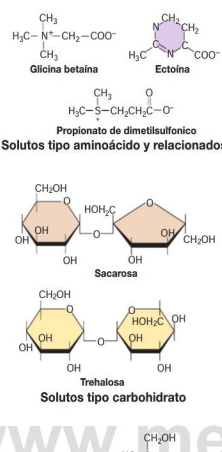


Figura 6.26 **Estructura de algunos solutos compatibles solubles que son frecuentes en microorganismos.** Las estructuras del glutamato y prolina, que son también frecuentes, se mostraron en la Figura 3.12. El nombre formal de la ectoína es 1,4,5,6-tetrahidro-2-metil-4-pirimidina carboxilato.

La concentración intracelular de los solutos compatibles depende del nivel de los solutos externos, y para cada organismo la cantidad máxima que puede sintetizar o acumular es una característica genética. Esto origina que diferentes organismos puedan tolerar diferentes rangos de actividad de agua (Tablas 6.2 y 6.3). En consecuencia, los microorganismos no halotolerantes, los halotolerantes, los halófilos y los halófilos extremos se definen en gran medida por su distinta capacidad genética para sintetizar o acumular solutos compatibles.

Los cocos grampositivos del género *Staphylococcus* son notablemente halotolerantes (de hecho, un procedimiento normal para aislarlos se basa en usar medios que contienen 7,5-10% de NaCl), y estos organismos usan el aminoácido prolina como soluto compatible. La glicina betaína es un derivado del aminoácido glicina en el que los átomos de hidrógeno del grupo amino se han sustituido por tres grupos metilo. Esto deja una carga positiva permanente en el átomo de nitrógeno, que aumenta la solubilidad de la sustancia (Figura 6.26). La glicina betaína está ampliamente distribuida como soluto compatible, especialmente entre bacterias halófilas y cianobacterias (Tabla 6.3).

Algunas bacterias halófilas extremas producen otro soluto compatible llamado ectoína (Figura 6.26) que es un derivado cíclico del aspartato. Las algas marinas producen como solutos compatibles una gran variedad de glicósidos y dimetilsulfoniopropionato (Figura 6.24), pero con raras excepciones sólo los acumulan en baja cantidad porque no suelen ser muy halófilas. Las levaduras xerófilas y las algas verdes halófilas producen principalmente glicerol como soluto compatible.

6.16 Minirrevisión

La actividad de agua de un hábitat microbiano está controlada por la concentración de soluto disuelto en el medio. Para sobrevivir en medios con alta concentración de solutos, los organismos producen o acumulan solutos compatibles que mantienen a la célula en un balance de agua positivo. Algunos microorganismos son capaces de crecer mejor con actividad de agua reducida, e incluso algunos requieren elevados niveles salinos para crecer.

- ¿Cuál es el valor a_w del agua pura?
- ¿Qué es un soluto compatible y para qué se necesita?
- ¿Cuál es el soluto compatible en especies de *Halobacterium*?

6.17 Oxígeno y crecimiento microbiano

Como los animales tienen necesidad absoluta de oxígeno molecular (O_2), resulta fácil suponer que todas las formas de vida también requieren O_2. Sin embargo, esto no es cierto; muchos microorganismos pueden (y algunos deben) vivir en ausencia total de O_2.

El oxígeno es débilmente soluble en agua y puede desaparecer rápidamente debido a las actividades respiratorias de los microorganismos en los hábitats acuáticos y húmedos. Por eso, existen en nuestro planeta abundantes hábitats microbianos anóxicos, como fangos y otros sedimentos, pantanos y ciénagas, suelos forestales inundados, tracto intestinal de los animales, vertidos de aguas negras, zonas profundas de la subcorteza terrestre y otros muchos ambientes. En estos hábitats anóxicos proliferan microorganismos, particularmente procariotas.

Tipos de microorganismos con relación al oxígeno

Los microorganismos son muy variados en cuanto a la necesidad o tolerancia del oxígeno. Como se señala en la

www.medilib.com

Tabla 6.4, se pueden dividir en varios grupos dependiendo del efecto del oxígeno. Los **aerobios** son especies capaces de crecer a tensiones normales de oxígeno (el 21% del aire es O_2) y respiran oxígeno en su metabolismo. Muchos aerobios pueden incluso tolerar concentraciones más elevadas de oxígeno (oxígeno hiperbárico). Los **microaerófilos**, por el contrario, son aerobios que pueden usar el O_2 sólo cuando está presente a niveles mas bajos que en el aire (condiciones microóxicas), normalmente a causa de su limitada capacidad para respirar o porque contienen alguna molécula sensible al oxígeno como enzimas que son lábiles en su presencia. Muchos aerobios son **facultativos**, lo que significa que bajo las apropiadas condiciones nutritivas y de cultivo pueden crecer tanto en condiciones óxicas como anóxicas.

Algunos microorganismos no pueden respirar O_2 ; tales organismos se llaman **anaerobios**. Existen dos clases de anaerobios: los **anaerobios aerotolerantes**, que pueden tolerar el oxígeno y crecer en su presencia aunque no pueden usarlo, y los **anaerobios obligados o estrictos** que son inhibidos o incluso mueren en presencia de oxígeno (Tabla 6.4). La razón por la que los anaerobios obligados mueren en presencia de oxígeno es desconocida, pero puede deberse a que son incapaces de eliminar algunos productos tóxicos que se originan en el metabolismo del oxígeno (Sección 6.18).

Por lo que se sabe, la anaerobiosis obligada ocurre solamente en tres clases de microorganismos: una amplia variedad de procariotas, unos cuantos hongos y unos cuantos protozoos. Dentro de *Bacteria*, uno de los grupos mejor conocidos de anaerobios obligados es el género *Clostridium*, formado por bacilos grampositivos que forman endosporas. Los clostridios son muy frecuentes en el suelo, en sedimentos lacustres y en el tracto intestinal, y a menudo son los responsables del deterioro de alimentos enlatados. Otros anaerobios obligados son los microorganismos metanogénicos y otras muchas especies de *Archaea*, las bacterias sulfatoreductoras y las homoacetogénicas, así como muchas de las bacterias intestinales y de la cavidad oral. No obstante, entre los anaerobios obligados la sensibilidad al oxígeno varía ampliamente, pues algunos organismos son capaces de tolerar trazas de oxígeno mientras que otros no lo hacen.

Técnicas de cultivo para aerobios y anaerobios

Para el crecimiento de muchos microorganismos aerobios es necesario suministrar una intensa aireación. Esto se debe a que el O_2 es poco soluble en agua y el O_2 usado por los organismos durante el crecimiento no se reemplaza lo suficientemente rápido por difusión a partir del aire. Es deseable por tanto la aireación forzada de los cultivos, bien sea por agitación de los matraces o tubos en una bandeja de agitación o bien mediante burbujeo de aire esterilizado a través del medio mediante un tubo fino de vidrio o un disco poroso. Normalmente los aerobios crecen mejor con aireación forzada que cuando se suministra el O_2 por simple difusión.

En el caso de los cultivos de anaerobios el problema es excluir el oxígeno, no suministrarlo. Los anaerobios obligados varían en cuanto a su sensibilidad al oxígeno, y existen diversos procedimientos para reducir el contenido en O_2 de los cultivos. Algunas técnicas son muy simples y adecuadas para los organismos menos sensibles, pero otras son más complejas y necesarias para el crecimiento de los anaerobios estrictos. Para los organismos que no son demasiado sensibles a pequeñas cantidades de oxígeno, se obtienen condiciones anóxicas adecuadas llenando las botellas o tubos con medio de cultivo completamente hasta arriba y cerrando con tapones herméticos,. También es posible añadir un compuesto químico que sea un *agente reductor* capaz de reaccionar con el oxígeno y reducirlo a H_2O. Un buen ejemplo es el tioglicolato, que se añade a un medio denominado caldo de tioglicolato, que es normalmente usado para ensayar los requerimientos de O_2 de un organismo (**Figura 6.27**).

Tabla 6.4 Relaciones microbianas con el oxígeno

Grupo	*Relación con el O_2*	*Tipo de metabolismo*	*Ejemplo*[a]	*Hábitat*[b]
Aerobios				
Obligados	Necesario	Respiración aerobia	*Micrococcus luteus* (B)	Piel, polvo
Facultativos	No necesario, pero crecen mejor con O_2	Respiración aerobia, anaerobia, fermentación	*Escherichia coli* (B)	Intestino grueso de mamíferos
Microaerófilos	Necesario pero a bajas tensiones	Respiración aerobia	*Spirillum volutans* (B)	Lagos
Anaerobios				
Aerotolerantes	No necesario, no crecen mejor con O_2	Fermentación	*Streptococcus pyogenes* (B)	Tracto respiratorio superior
Obligados	Dañino o letal	Fermentación o respiración anaerobia	*Methanobacterium* (A) *formicicum*	Digestores de aguas negras, sedimentos lacustres anóxicos

[a]Los paréntesis indican la posición filogenética (B, *Bacteria;* A, *Archaea*). En cada categoría, se conocen ejemplos representativos de los dos dominios. La mayoría de los eucariotas son aerobios obligados, pero también hay anaerobios facultativos (por ejemplo, levaduras) y anaerobios obligados (por ejemplo, algunos protozoos y hongos).
[b]Hábitats típicos del microorganismo indicado en cada caso.

Figura 6.27 Crecimiento y concentración de oxígeno. *(a-e)* Crecimiento de aerobios, anaerobios, facultativos, microaerófilos y anaerobios aerotolerantes, revelado por la posición de microcolonias (representadas como puntos negros) en tubos con caldo de tioglicolato. Se añade a los cultivos una pequeña cantidad de agar para evitar perturbaciones en el medio líquido y un colorante redox como indicador, resazurina, que oxidado es rosa y reducido no muestra color. *(a)* El oxígeno penetra solo una corta distancia en el tubo, de modo que los aerobios obligados crecen sólo en la superficie. *(b)* Los anaerobios, como son sensibles al oxígeno, crecen sólo lejos de la superficie. *(c)* Los aerobios facultativos son capaces de crecer tanto en presencia como en ausencia de oxígeno y crecen por todo el tubo. Sin embargo, el crecimiento es mejor cerca de la superficie porque estos organismos pueden respirar. *(d)* Los microaerófilos crecen apartándose de la zona más óxica. *(e)* Los anaerobios aerotolerantes crecen por todo el tubo. El crecimiento no es mejor cerca de la superficie porque estos organismos solamente pueden fermentar.

El caldo de tioglicolato es un medio complejo que contiene pequeñas cantidades de agar, lo que hace que el medio sea viscoso, aunque todavía fluido. Después de que el tioglicolato reacciona con el oxígeno a lo largo del tubo, el oxígeno atmosférico sólo puede penetrar por la parte superior donde el medio contacta con el aire. Los aerobios obligados crecerán sólo en la parte superior del tubo. Los organismos facultativos crecerán por todo el tubo, pero con preferencia en la parte superior. Los microerófilos lo harán cerca del extremo superior, pero no justo en la proximidad de la interfase entre el medio y el aire. Finalmente, los anaerobios crecerán sólo cerca del fondo del tubo, donde el oxígeno no puede penetrar. Es frecuente añadir al medio un colorante redox indicador como la *resazurina* que diferencia las regiones óxicas de las anóxicas; el colorante es rosado cuando está oxidado y sin color en estado reducido, de modo que señala visualmente el grado de penetración del oxígeno en el medio (Figura 6.27).

Para eliminar completamente del cultivo de anaerobios toda traza de O_2 puede colocarse un gas que reaccione con el O_2 en una jarra que a su vez contenga los tubos o placas. El dispositivo más sencillo es la jarra anóxica de anaerobios, un contenedor con una tapadera que puede sellarse y dentro del cual se colocan los tubos o placas que se van a incubar (**Figura 6.28*a***). El aire del recipiente se reemplaza luego por una mezcla de H_2 y CO_2 y, en presencia de paladio como catalizador, las trazas de O_2 que pudieran quedar en el contenedor se consumen formando agua ($H_2 + O_2 \rightarrow H_2O$) y se establecen así condiciones anóxicas.

Para el cultivo de anaerobios estrictos no sólo es necesario eliminar todas las trazas de O_2 sino además realizar todas las manipulaciones del cultivo en una atmósfera anóxica, ya que estos microorganismos pueden morir por una breve exposición al O_2. En estos casos, el medio de cultivo se hierve primero para liberar el oxígeno y luego se añade un agente reductor como H_2S y se sella la muestra en una atmósfera de gas libre de oxígeno. Todas las manipulaciones hay que realizarlas bajo una corriente gaseosa de hidrógeno o nitrógeno, libres de O_2, que se dirige al recipiente de cultivo cada vez que se abre, evitando así que el O_2 pueda entrar. Para llevar a cabo investigaciones con anaerobios estrictos es necesario disponer de *cámaras anóxicas* que son dispositivos especiales diseñados con guantes incorporados que permiten trabajar desde fuera con cultivos abiertos en atmósferas totalmente anóxicas (Figura 6.28*b*).

elibros.com

6.17 Minirrevisión

Los aerobios necesitan oxígeno para vivir, mientras que los anaerobios no, e incluso pueden morir en su presencia. Los organismos facultativos pueden vivir con o sin oxígeno. Se requieren técnicas especiales para que crezcan a los microorganismos aerobios y anaerobios.

- ¿Qué es un aerobio facultativo?
- ¿Cómo funciona un agente reductor? Ponga un ejemplo de agente reductor.

6.18 Formas tóxicas del oxígeno

El oxígeno es un poderoso oxidante y el mejor aceptor de electrones en la respiración. Pero también puede ser un veneno para los anaerobios obligados. El oxígeno por sí mismo no es letal, pero forma derivados tóxicos que pueden dañar a las células.

Química del oxígeno

El oxígeno es su estado basal normal se llama **triplete de oxígeno ($^3O_2$)**. Sin embargo, son posibles otras configuraciones electrónicas, y la mayoría son tóxicas para las células. Una forma tóxica importante del oxígeno es el denominado **singlete de oxígeno ($^1O_2$)**, que representa una

Becton, Dickinson and Company, Cockeysville, MD 21030

Coy Laboratory Products

(a) (b)

Figura 6.28 **Incubación en condiciones anóxicas.** *(a)* Jarra anóxica. Una reacción química producida por el sobre incluido en el interior de la jarra genera H_2 + CO2. El H_2 reacciona con el O_2 para formar H_2O_2 sobre la superficie de un catalizador de paladio presente en la jarra. La atmósfera final contiene N_2, H_2 y CO_2. *(b)* Cámara anóxica con guantes para manipular e incubar cultivos bajo condiciones anaerobias. La compuerta de la derecha, que puede vaciarse y llenarse con gas libre de O_2, permite introducir o extraer materiales de la cámara con guantes.

forma mucho más energética, en la que la capa electrónica externa que rodea al núcleo es muy reactiva y es capaz de llevar a cabo espontáneamente una gran variedad de oxidaciones indeseables para la célula. El singlete de oxígeno se produce tanto fotoquímicamente como bioquímicamente, en este último caso a través de la acción de varios enzimas llamados peroxidasas. Los organismos que frecuentemente se encuentran con singletes de oxígeno, como las bacterias del aire y los microorganismos fotótrofos, a menudo contienen pigmentos llamados *carotenoides* cuya función es convertir los singletes de oxígeno en formas no tóxicas.

Superóxido y otras formas tóxicas del oxígeno

Además del singlete, existen otras formas altamente tóxicas del oxígeno, como son el *anión superóxido* (O_2^-), el *peróxido de hidrógeno* (H_2O_2) y el *radical hidroxilo* (OH*), cada uno de los cuales se produce como un producto lateral durante la reducción de O_2 a H_2O_2 en la respiración (**Figura 6.29**). Además, las flavoproteínas, quinonas, tioles, y proteínas con hierro y azufre (*véase* Sección 5.11), que se encuentran prácticamente en todas las células, también pueden llevar acabo la reducción de O_2 a O_2^-. Por tanto, se respire o no con oxígeno (Tabla 6.3), una célula puede estar expuesta ocasionalmente a especies tóxicas de oxígeno.

El superóxido y el radical hidroxilo son agentes muy oxidantes y pueden oxidar prácticamente cualquier compuesto orgánico de la célula, incluyendo las macromoléculas. Los peróxidos como el H_2O_2 también pueden dañar los componentes celulares, pero generalmente no son tan tóxicos para la célula como el anión superóxido o los radicales hidroxilo. Éstos últimos son los más reactivos de todas las especies tóxicas del oxígeno pero son solo formas transitorias que se eliminan rápidamente en otras reacciones. Más adelante veremos que las células del sistema inmune pueden producir varias especies tóxicas de oxígeno y utilizarlas para matar a los invasores microbianos (*véase* Sección 29.7).

Superóxido dismutasa y otras enzimas que destruyen formas tóxicas de oxígeno

Con tantas formas tóxicas derivadas del oxígeno, no resulta sorprendente que los organismos hayan desarrollado enzimas para destruir estos compuestos (**Figura 6.30**). El superóxido y el peróxido de hidrógeno son las formas tóxicas más frecuentes, de modo que las enzimas que destruyen estos compuestos tienen una amplia distribución. La enzima *catalasa* ataca al peróxido de hidrógeno formando oxígeno y agua; su actividad se esquematiza en la Figura 6.30*a* y en la **Figura 6.31**. Otra enzima que destruye el peróxido de hidrógeno es la *peroxidasa* (Figura 6.30*b*), que difiere de la catalasa en que requiere un reductor, normalmente NADH, para originar sólo H_2O como producto. El superóxido es destruido por la enzima *superóxido dis-*

Reactivos				Productos
$O_2 + e^-$	→	O_2^-		Superóxido
$O_2^- + e^- + 2\,H^+$	→	H_2O_2		Peróxido de hidrógeno
$H_2O_2 + e^- + H^+$	→	H_2O	+ OH•	Radical hidroxilo
OH• $+ e^- + H^+$	→	H_2O		Agua

Suma:
$O_2 + 4\,e^- + 4\,H^+ \rightarrow 2\,H_2O$

Figura 6.29 **Reducción del O_2 hasta agua por la adición secuencial de cuatro electrones.** Los intermediarios que se forman son reactivos y tóxicos para la célula, excepto el agua.

mutasa (Figura 6.30*c*) que combina dos moléculas de superóxido para formar una molécula de peróxido de hidrógeno y una molécula de oxígeno. La acción conjunta de la superóxido dismutasa y de la catalasa puede por tanto convertir el superóxido en oxígeno y agua (Figura 6.30*d*).

Los aerobios y los facultativos contienen por lo general tanto superóxido dismutasa como catalasa. La superóxido dismutasa es imprescindible en las células aerobias y su ausencia en los anaerobios obligados se pensó que era la causa por la que el oxígeno resulta tóxico para estas células (pero *véase* también a este respecto el párrafo siguiente). Algunos anaerobios aerotolerantes, como las bacterias del ácido láctico, carecen de la superóxido dismutasa pero usan complejos no proteicos de Mn^{2+} libre para lograr la dismutación de O_2^- a H_2O_2 y O_2.

$$H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2\,H_2O + O_2$$

(a) **Catalasa**

$$H_2O_2 + NADH + H^+ \rightarrow 2\,H_2O + NAD^+$$

(b) **Peroxidasa**

$$O_2^- + O_2^- + 2\,H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$$

(c) **Superóxido dismutasa**

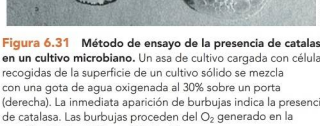
$$4\,O_2^- + 4\,H^+ \rightarrow 2\,H_2O + 3\,O_2$$

(d) **Superóxido dismutasa/catalasa en combinación**

$$O_2^- + 2\,H^+ + \text{rubredoxina}_{\text{reducida}} \rightarrow H_2O_2 + \text{rubredoxina}_{\text{oxidada}}$$

(e) **Superóxido reductasa**

Figura 6.30 Enzimas que destruyen especies tóxicas derivadas del oxígeno. *(a)* Las catalasas y *(b)* las peroxidasas son proteínas que contienen porfirinas, aunque también algunas flavoproteínas pueden consumir especies tóxicas de oxígeno. *(c)* Las superóxido dismutasas son proteínas que contienen metales, fundamentalmente cobre y zinc, manganeso o hierro. *(d)* Reacción combinada de la superóxido dismutasa y la catalasa. *(e)* La superóxido reductasa cataliza la reducción por un electrón de O_2^- a H_2O_2.



T. D. Brock

Figura 6.31 Método de ensayo de la presencia de catalasa en un cultivo microbiano. Un asa de cultivo cargada con células recogidas de la superficie de un cultivo sólido se mezcla con una gota de agua oxigenada al 30% sobre un porta (derecha). La inmediata aparición de burbujas indica la presencia de catalasa. Las burbujas proceden del O_2 generado en la reacción $H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$.

Dicho sistema no es tan eficaz como la superóxido dismutasa pero tal reacción puede haber funcionado como una forma primitiva de superóxido dismutasa en los organismos anaerobios primigenios que se enfrentaron por primera vez al oxígeno cuando aparecieron las cianobacterias sobre la Tierra.

Superóxido reductasa

Algunas *Archaea* anaerobias obligadas presentan otro método de eliminar el superóxido. Por ejemplo, en el hipertermófilo *Pyrococcus furiosus* no existe superóxido dismutasa pero está presente un enzima particular, la *superóxido reductasa*, que se encarga de la eliminación del superóxido. A diferencia de la superóxido dismutasa, la superóxido reductasa reduce el anión superóxido a H_2O_2 sin la producción de O_2 (Figura 6.30*c*), con lo que se evita la exposición del organismo al O_2. *P. furiosus* también carece de catalasa, una enzima, que como la superóxido dismutasa, también genera O_2 (Figura 6.30*a*). En este microorganismo el H_2O_2 producido por la superóxido reductasa se elimina por la actividad de enzimas semejantes a las peroxidasas que producen H_2O como producto final (Figura 6.30*b*). La superóxido reductasa tiene igualmente una amplia distribución entre los anaerobios obligados, como las bacterias sulfatoreductoras (*Bacteria*), los metanogénicos (*Archaea*), así como en especies microaerófilas de *Bacteria*, del tipo de *Treponema*. Por tanto, estos microorganismos, que se pensaba que eran anaerobios estrictos por carecer de superóxido dismutasa, tienen no obstante un mecanismo para eliminar el anión superóxido. La sensibilidad de estos microorganismos al oxígeno puede deberse por completo a otras razones aún desconocidas.

Muchos anaerobios e hipertermófilos obligados, como *Pyrococcus*, viven en chimeneas hidrotermales oceánicas (*véase* Sección 24.11) pero son muy tolerantes a condiciones óxicas. Aunque no crecen en tales condiciones, se supone que la superóxido reductasa evita su muerte cuando se exponen al O_2. La tolerancia al oxígeno puede ser un factor importante que permite el transporte de estos organismos en aguas marinas óxicas desde un escape geotérmico a otro.

6.18 Minirrevisión

En la célula se pueden originar varias formas tóxicas del oxígeno, pero existen enzimas que pueden neutralizar la mayor parte de ellas. En particular, el superóxido parece ser una forma tóxica muy frecuente.

- ¿Cómo protege a la célula la superóxido dismutasa?
- ¿En qué se diferencia la actividad de la superóxido dismutasa de la superóxido reductasa?

www.medilibros.com

Glosario de términos

Acidófilo: un organismo que crece mejor a pH bajo; normalmente a pH inferior a 6.

Actividad del agua: cociente entre la presión de vapor en equilibrio con el aire y la presión de una solución de agua pura.

Aerobio: un organismo que puede usar el O_2 en la respiración; algunos requieren O_2 para el crecimiento.

Alcalófilo: un organismo que tiene un crecimiento óptimo a pH 9 o superior.

Anaerobio: un organismo que no puede usar el O_2 en la respiración y cuyo crecimiento suele ser inhibido por el O_2.

Anaerobio aerotolerante: un microorganismo incapaz de respirar con oxígeno molecular (O_2) pero cuyo crecimiento no es afectado por la presencia de O_2.

Anaerobio obligado: organismo que no puede crecer en presencia de O_2.

Autólisis: lisis celular espontánea, normalmente debida a la actividad de proteínas líticas llamadas autolisinas.

Biofilm: matriz polisacarídoca fijada que contiene células bacterianas.

Crecimiento: incremento en el número de células.

Crecimiento exponencial: crecimiento de un microorganismo cuyo número de células se duplica en un período constante de tiempo.

Cultivo monofásico o en *batch*: cultivo microbiano en un sistema cerrado de volumen constante.

Divisoma: complejo proteico que dirige los procesos de división celular en procariotas.

Extremófilo: un organismo que crece de modo óptimo en una o más condiciones físicas o químicas extremas, como por ejemplo a alta o baja temperatura o pH.

Facultativo: con respecto al O_2, un organismo que puede crecer en su ausencia y en su presencia.

Fisión binaria: división celular que sigue al aumentar una célula dos veces su tamaño mínimo.

FtsZ: una proteína clave en la división celular que forma un anillo a lo largo del plano de división para iniciar la división celular.

Halófilo: un microorganismo que necesita NaCl para crecer.

Halófilo extremo: un microorganismo que requiere para crecer grandes cantidades de sal (NaCl), por lo general superiores al 10% y a veces próximas a la saturación.

Halotolerante: un organismo que no requiere NaCl para crecer pero que puede crecer en su presencia, en algunos casos, a niveles salinos elevados.

Hipertermófilo: procariota que tiene una temperatura óptima de 80 °C o superior.

Mesófilo: un organismo que crece mejor a temperaturas entre 20 y 45 °C.

Microaerófilo: organismo aerobio que puede crecer sólo cuando la presión parcial del oxígeno es menor que la del aire.

Osmófilo: organismo que crece mejor en presencia de elevados niveles de soluto, frecuentemente un azúcar.

pH: valor negativo del logaritmo de la concentración de iones hidrógeno (H^+) en una solución.

Psicrófilo: organismo con una temperatura óptima de crecimiento de 15 °C o menor y una temperatura máxima de crecimiento inferior a 20 °C.

Psicrotolerante: organismo capaz de crecer a bajas temperaturas pero cuya temperatura óptima de crecimiento está por encima de 20 °C.

Quimiostato: aparato que permite el cultivo continuo de microorganismos en el que se pueden controlar independientemente la velocidad de crecimiento y el número de células.

Recuento en placa: método de recuento de viables donde se usa el número de colonias en una placa como medida del número de células.

Soluto compatible: una molécula que se acumula en el citoplasma para ajustar la actividad de agua y que no inhibe los procesos bioquímicos.

Temperaturas cardinales: las temperaturas mínima, óptima y máxima que permiten el crecimiento de un organismo determinado.

Termófilo: organismo cuya temperatura óptima de crecimiento está entre 45 y 80 °C.

Tiempo de generación: el tiempo necesario para que una población de células microbianas duplique su número.

Traspeptidación: formación de puentes peptídicos entre las unidades de ácido N-acetil murámico durante la síntesis de peptidoglicano.

Viable: capaz de reproducirse.

Xerófilo: organismo que es capaz de vivir, o que vive mejor, en ambientes muy desecados.

Preguntas de repaso

1. Describa los principales procesos moleculares que ocurren cuando una célula crece y se divide. ¿Qué proteínas están implicadas en este proceso de división (Sección 6.1)?
2. Describa el papel de las proteínas Fts en el proceso de la división celular (Sección 6.2).
3. ¿En qué se diferencian microcópicamente los mutantes del bacilo *Escherichia coli* que tienen inactivada la proteína MreB de las células control no mutadas? ¿Cuál es el motivo (Sección 6.3)?
4. ¿Cómo mata la penicilina a las células bacterianas y por qué sólo elimina a las células en crecimiento (Sección 6.4)?
5. ¿Cuál es la diferencia entre la constante de la velocidad de crecimiento (k) de un organismo y su tiempo de generación (g) (Secciones 6.5 y 6.6)?

www.medilibros.com

6. Describa el ciclo de crecimiento de una población de células bacterianas desde el tiempo en que se inicia su inóculo en medio fresco (Sección 6.7).
7. ¿Cómo puede regular un quimiostato de modo independiente la velocidad de crecimiento y el número de células (Sección 6.8)?
8. ¿Cuál es la diferencia entre un recuento de células totales y un recuento de viables (Secciones 6.9 y 6.10)?
9. ¿Cómo se puede emplear la turbidez para determinar el número de células (Sección 6.11)?
10. Examine la gráfica de la Figura 6.18 que relaciona la velocidad de crecimiento y la temperatura. En términos bioquímicos, explique por qué la temperatura óptima para un organismo está normalmente más cercana a su temperatura máxima que a su mínima (Sección 6.12).
11. Describa un hábitat donde sea posible encontrar un psicrófilo; y un hipertermófilo (Secciones 6.13 y 6.14).
12. Con respecto al pH del medio y el de la célula ¿en que son diferentes los acidófilos de los alcalófilos? ¿En qué son iguales (Sección 6.15)?
13. Explique en términos moleculares cómo una célula de un halófilo es capaz de hacer que las moléculas de agua entren en su interior (Sección 6.16).
14. Compare un aerotolerante y un anaerobio obligado en lo que respecta a sensibilidad y crecimiento en presencia de oxígeno (O_2). ¿En qué difiere un anaerobio aerotolerante de un microaerófilo (Sección 6.17)?
15. Compare las enzimas catalasa, superóxido dismutasa, y superóxido reductasa desde los siguientes puntos de vista: sustratos, productos de oxígeno, organismos que los presentan, papel en la tolerancia celular al oxígeno (Sección 6.18).

Ejercicios prácticos

1. Un cultivo en medio nutritivo rico se inicia con cuatro células bacterianas por mililitro, y presenta un período 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? ¿Y tras 2 horas si una de las células del inóculo inicial estuviera muerta?
2. Calcule el valor de g y de k en un experimento de crecimiento en el que se inoculó un medio con 5×10^6 células/ml de *Escherichia coli* y que, después de un período de latencia de 1 hora, creció exponencialmente durante 5 horas alcanzando una población de $5{,}4 \times 10^9$ células/ml.
3. Consulte el Capítulo 3 y localice una figura que describa lo que sucede a los enzimas de un mesófilo como *Escherichia coli* cuando se coloca en un medio de cultivo a 80 °C. Compare esto con una figura del Capítulo 6 la que mejor describa lo qué ocurriría si una célula de *Pyrolobus fumarii* se colocara a las mismas condiciones. Describa porqué ninguno de los dos organismos crecería.
4. ¿Es probable encontrar vivo a un microorganismo psicrófilo en un agua termal? ¿Por qué? Con frecuencia resulta posible aislar microorganismos termófilos en ambientes de agua fría. Razone una explicación de estos hechos.
5. ¿En qué dirección (fuera o dentro de la célula) se moverá el agua de las células de *Escherichia coli* (que habita en el intestino) si se supendieran de pronto en una solución con 20% de NaCl? ¿Y si se suspendieran en agua destilada? Si se añadieran nutrientes a cada una de las suspensiones ¿cuál sería tal vez capaz de crecer, y porqué?

www.pdfdigital.com

7

Fundamentos de biología molecular

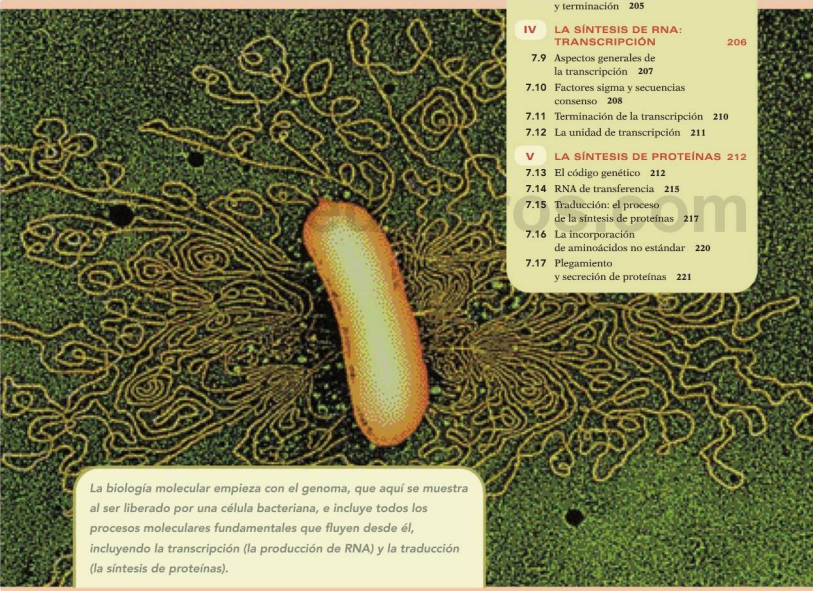
I GENES Y EXPRESIÓN GÉNICA 192
- **7.1** Macromoléculas e información genética **192**

II LA ESTRUCTURA DEL DNA 193
- **7.2** La doble hélice **193**
- **7.3** Superenrollamiento **196**
- **7.4** Cromosomas y otros elementos genéticos **198**

III LA REPLICACIÓN DEL DNA 199
- **7.5** Moldes y enzimas **199**
- **7.6** La horquilla de replicación **201**
- **7.7** La replicación bidireccional y el replisoma **203**
- **7.8** Corrección de errores y terminación **205**

IV LA SÍNTESIS DE RNA: TRANSCRIPCIÓN 206
- **7.9** Aspectos generales de la transcripción **207**
- **7.10** Factores sigma y secuencias consenso **208**
- **7.11** Terminación de la transcripción **210**
- **7.12** La unidad de transcripción **211**

V LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS 212
- **7.13** El código genético **212**
- **7.14** RNA de transferencia **215**
- **7.15** Traducción: el proceso de la síntesis de proteínas **217**
- **7.16** La incorporación de aminoácidos no estándar **220**
- **7.17** Plegamiento y secreción de proteínas **221**



La biología molecular empieza con el genoma, que aquí se muestra al ser liberado por una célula bacteriana, e incluye todos los procesos moleculares fundamentales que fluyen desde él, incluyendo la transcripción (la producción de RNA) y la traducción (la síntesis de proteínas).

En el Capítulo 1 caracterizamos las células como máquinas químicas y dispositivos codificadores. Como máquinas químicas, las células acumulan su amplia variedad de macromoléculas y las transforman en nuevas células. Como dispositivos codificadores, almacenan, procesan y utilizan los genes, la información genética de la célula. Los genes y la expresión génica son el objeto de la biología molecular. En concreto, la revisión de la biología molecular en este Capítulo incluye la naturaleza química de los genes, la estructura y la función del DNA y del RNA y la replicación del DNA. A continuación trataremos la biosíntesis de proteínas, unas macromoléculas que tienen importantes funciones tanto en la estructura como en el funcionamiento de la célula. En este Capítulo nos centraremos en estos procesos tal y como ocurren en las bacterias. En concreto en *Escherichia coli*, un miembro del grupo bacterias que es el organismo modelo para la biología molecular y, por tanto, el principal utilizado como ejemplo.

I GENES Y EXPRESIÓN GÉNICA

7.1 Macromoléculas e información genética

La unidad funcional de la información genética es el **gen**. Todos los microorganismos, y por supuesto todas las formas de vida, contienen genes, de manera que es fundamental comprender qué es un gen y cómo funciona para entender la estructura y el comportamiento de las células y los virus. Físicamente, los genes están localizados en cromosomas u otras moléculas largas conocidas colectivamente como **elementos genéticos.** En la actualidad, en la «era de la genómica», la biología tiende a definir las células en términos de su complemento génico. Así, estamos obligados a entender el proceso del flujo de la información biológica si queremos entender cómo funcionan los microorganismos.

Los genes y las etapas del flujo de información

En todas las células, los genes están compuestos por ácido desoxirribonucleico (DNA). La información en el gen está presente en forma de secuencia de bases —purinas (adenina y guanina) y pirimidinas (timina y citosina)— en el DNA. La información almacenada en el DNA es transferida al ácido ribonucleico (RNA). El RNA puede actuar como intermediario de la información (un mensajero), como elemento estructural o incluso como enzima. Finalmente, la información transportada por el RNA es utilizada para la fabricación de las proteínas. Como estas tres moléculas, el DNA, el RNA y las proteínas, contienen información genética en sus secuencias, se denominan **macromoléculas de información** (Sección 3.2).

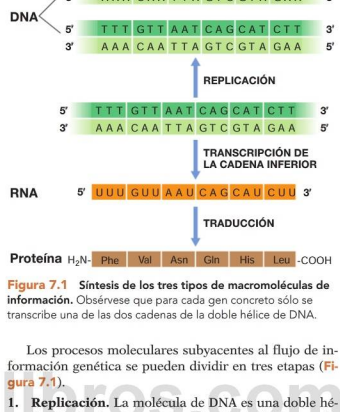


Figura 7.1 Síntesis de los tres tipos de macromoléculas de información. Obsérvese que para cada gen concreto sólo se transcribe una de las dos cadenas de la doble hélice de DNA.

Los procesos moleculares subyacentes al flujo de información genética se pueden dividir en tres etapas (**Figura 7.1**).

1. **Replicación.** La molécula de DNA es una doble hélice de dos largas cadenas (Sección 3.5). Durante la replicación, el DNA se duplica y produce dos dobles hélices nuevas (Figura 7.1).
2. **Transcripción.** El DNA participa en la síntesis de proteínas a través de un intermediario de RNA. La transferencia de la información al RNA se llama transcripción, y la molécula de RNA que codifica uno o más polipéptidos recibe el nombre de **RNA mensajero** (mRNA). Algunos genes contienen información para otros tipos de RNA, en concreto el **RNA de transferencia** (tRNA) y el **RNA ribosómico** (rRNA). Éstos actúan en la síntesis de proteínas, pero no codifican la información genética para la fabricación de éstas.
3. **Traducción.** La secuencia de aminoácidos en un polipéptido está determinada por la secuencia específica de bases en el mRNA. Existe una correspondencia lineal entre la secuencia de bases de un gen y la secuencia de aminoácidos del polipéptido correspondiente (Figura 7.1). Cada grupo de tres bases de una molécula de mRNA codifica un solo aminoácido, y cada uno de estos tripletes se llama **codón.** Este código genético se traduce en proteínas mediante el sistema de síntesis de proteínas, que está formado por los ribosomas (que están compuestos a su vez por proteínas y rRNA), el tRNA y una serie de proteínas conocidas como factores de traducción.

Estas tres etapas, que se muestran en la Figura 7.1, son utilizadas por todas las células y constituyen el

www.medilibros.com

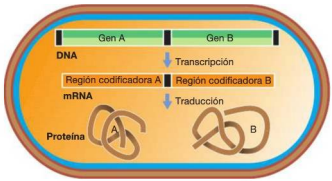


Figura 7.2 **Transcripción en procariotas.** A menudo un solo mRNA contiene más de una región codificadora.

dogma central de la biología (DNA → RNA → proteína). Obsérvese que a partir de una región relativamente corta de la larga molécula de DNA se transcriben muchas moléculas de RNA diferentes. En los eucariotas, cada gen se transcribe a una sola molécula de mRNA (Capítulo 8), mientras que en los procariotas un solo RNA mensajero puede llevar información genética de varios genes, es decir, de más de una región codificadora (**Figura 7.2**). En el Capítulo 10 aprenderemos que algunos virus violan el dogma central. Esto incluye ejemplos en los que el RNA es el material genético vírico y otros en los que funciona como mRNA directamente o codifica mRNA. Esto ocurre también en los retrovirus como el VIH —el agente causante del sida—, en el que un genoma de RNA codifica la producción de DNA, un proceso llamado transcripción inversa o retrotranscripción. Obsérvese que en ambos casos la transferencia de información sigue siendo de ácido nucleico a ácido nucleico, pero no en el sentido establecido inicialmente por el dogma central.

7.1 Minirrevisión

Los tres procesos clave en la síntesis de macromoléculas son: 1) replicación del DNA; 2) transcripción (síntesis de RNA a partir de un molde de DNA); y 3) traducción (síntesis de proteínas utilizando el RNA mensajero como molde).

- ¿Qué tres macromoléculas de información están implicadas en el flujo de información genética?
- En todas las células hay tres procesos implicados en el flujo de información genética. ¿Cuáles son?

II LA ESTRUCTURA DEL DNA

En el Capítulo 3 hemos tratado de manera general la estructura de los ácidos nucleicos. En los apartados siguientes analizaremos los detalles de la estructura del DNA, incluidos los tipos de elementos genéticos con DNA que se han encontrado en las células. Con esta información como base podremos hablar de cómo se replica el DNA, cómo se transcribe a RNA y cómo se traduce éste en proteínas.

7.2 La doble hélice

En el DNA hay cuatro bases de ácidos nucleicos: adenina (A), guanina (G), citosina (C) y timina (T). Como ya hemos visto en la Figura 3.11, el esqueleto de la cadena de DNA consiste en la repetición alternada de fosfato y el azúcar pentosa desoxirribosa; unida a cada pentosa hay una de las bases de ácido nucleico. Recordemos el sistema de numeración de las posiciones del azúcar y la base. El fosfato que une dos azúcares se extiende desde el carbono en posición 3′ de un azúcar hasta el carbono en el 5′ del azúcar adyacente (*véase* la Figura 7.4). En un extremo de cada cadena de DNA el azúcar tiene un fosfato en el hidroxilo en 5′, mientras que en el otro extremo el azúcar tiene un hidroxilo libre en la posición 3′.

El DNA como doble hélice

En todas las células y en muchos virus, el DNA existe como una molécula de doble hebra con dos cadenas polinucleotídicas cuyas secuencias de bases son complementarias. (Como se verá en el Capítulo10, los genomas de algunos virus son de cadena simple.) La complementariedad del DNA viene condicionada por el apareamiento específico de las bases púricas y pirimidínicas: la adenina siempre se aparea con la timina y la guanina lo hace siempre con la citosina (**Figura 7.3**). Las dos cade-

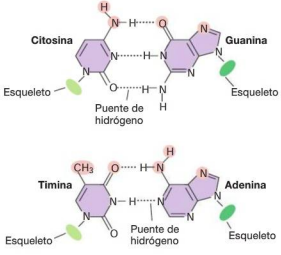


Figura 7.3 **Apareamiento específico entre adenina (A) y timina (T) y entre guanina (G) y citosina (C) mediante puentes de hidrógeno.** Éstos son los pares de bases típicos de la doble cadena de DNA. Los átomos que se encuentran en el surco mayor de la doble hélice y que interaccionan con las proteínas están marcados en rosa. También se indica el esqueleto de desoxirribosa y fosfato de las dos cadenas. Obsérvese la diferencia de tonalidad verde de las dos cadenas de DNA, una convención utilizada a lo largo de todo el libro.

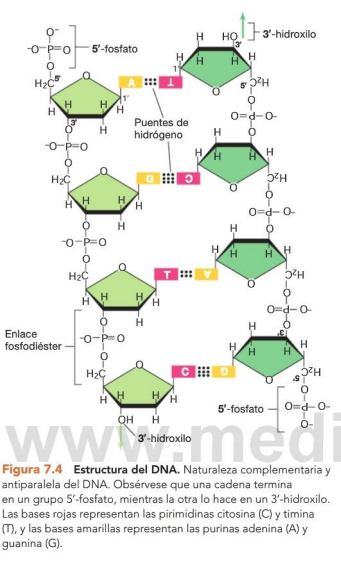


Figura 7.4 **Estructura del DNA.** Naturaleza complementaria y antiparalela del DNA. Obsérvese que una cadena termina en un grupo 5′-fosfato, mientras la otra lo hace en un 3′-hidroxilo. Las bases rojas representan las pirimidinas citosina (C) y timina (T), y las bases amarillas representan las purinas adenina (A) y guanina (G).

nas de la molécula de doble hebra resultante adoptan una disposición **antiparalela** (Figura 7.3 y **Figura 7.4**, dibujadas en forma de sombras verdes). Por ejemplo, en la Figura 7.4, la cadena de la izquierda está dispuesta de 5′ a 3′ (de arriba a abajo), y la cadena de la izquierda está dispuesta de 5′ a 3′ (de abajo a arriba).

Las dos cadenas de DNA están enrolladas entre sí para formar una doble hélice (**Figura 7.5**). En la doble hélice, el DNA forma dos surcos diferentes, el *surco mayor* y el *surco menor*. De las muchas proteínas que interaccionan específicamente con el DNA (Capítulo 9), la mayoría se unen al surco mayor, donde hay un espacio considerable. A causa de la regularidad de la doble hélice, algunos átomos de cada base están siempre expuestos en el surco mayor (y algunos en el surco menor). En la Figura 7.3 se muestran las regiones clave de los nucleótidos que son importantes en las interacciones con las proteínas.

La doble hélice del DNA puede adoptar varias estructuras posibles. La doble hélice de Watson y Crick es conocida como forma B para distinguirla de las formas A y Z. La forma A de la doble hélice es más corta y más

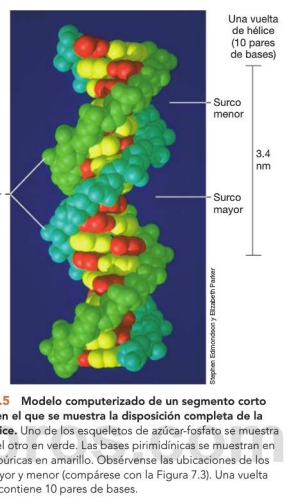


Figura 7.5 **Modelo computerizado de un segmento corto de DNA en el que se muestra la disposición completa de la doble hélice.** Uno de los esqueletos de azúcar-fosfato se muestra en azul y el otro en verde. Las bases pirimidínicas se muestran en rojo y las púricas en amarillo. Obsérvense las ubicaciones de los surcos mayor y menor (compárese con la Figura 7.3). Una vuelta de hélice contiene 10 pares de bases.

gruesa que la forma B; tiene 11 pares de bases por vuelta, y el surco mayor es más estrecho y más profundo. El RNA de doble cadena o los híbridos con una cadena de RNA y una de DNA adoptan normalmente la conFiguración en hélice A. La doble hélice de DNA Z tiene 12 pares de bases por vuelta y es levógira. Su esqueleto de azúcar-fosfato es una línea en zigzag más que una curva suave. El DNA Z se encuentra en las regiones ricas en GC o GT, especialmente en el superenrollamiento negativo. Las enzimas ocasionales y las proteínas reguladoras se unen preferentemente al DNA Z.

Tamaño de una molécula de DNA

El tamaño de una molécula de DNA se puede expresar como el número de bases nucleotídicas o de pares de bases por molécula. Así, una molécula de DNA con 1.000 bases es una kilobase (kb) de DNA. Si el DNA es de doble hélice, se habla de *pares de kilobases* (kbp). Por tanto, una doble hélice de 5.000 pares de bases tendrá un tamaño de 5 kbp. La bacteria *Escherichia coli* tiene aproximadamente 4.640 kbp de DNA en su cromosoma. Como muchos genomas son bastante grandes, es más fácil hablar de millones de pares de bases, o *pares de megabases* (Mbp). Así pues, el genoma de *E. coli* es de 4,64 Mbp.

www.medi

En términos de la longitud real, cada par de bases mide 0,34 nanómetros (nm) a lo largo de la hélice, y cada vuelta de hélice contiene aproximadamente 10 pares de bases. Por lo tanto, 1 kb de DNA tiene 100 vueltas de hélice y una longitud de 0,34 μm. Este tipo de cálculos resultan muy útiles, como veremos enseguida.

Estructura secundaria, repeticiones invertidas y estructuras tallo-bucle

Las molécula largas de DNA son bastante flexibles, pero los fragmentos de menos de 100 pares de bases son más rígidos. Algunos segmentos cortos de DNA se pueden doblar por la interacción con las proteínas. No obstante, determinadas secuencias de bases provocan por sí mismas el plegamiento del DNA. Las secuencias de este DNA doblado suelen tener varios fragmentos de cinco o seis adeninas (en la misma cadena), cada uno de ellos separados por cuatro o cinco bases diferentes. Además, algunas secuencias contribuyen a la capacidad del DNA para doblarse cuando interaccionan con determinadas proteínas. El plegamiento del DNA es un mecanismo para la regulación de la expresión génica (la activación y desactivación de los genes), como veremos en el Capítulo 9.

En las moléculas de DNA se encuentran con frecuencia las secuencias cortas y repetidas. Muchas proteínas interaccionan con las regiones de DNA que contienen secuencias repetidas dispuestas en orientación invertida (Capítulo 9). Este tipo de repetición recibe el nombre de repetición invertida, y da a la secuencia de DNA una simetría binaria. Como se muestra en la **Figura 7.6**, las repeticiones invertidas cercanas pueden provocar la formación de estructuras tallo-bucle. Los tallos son regiones cortas de doble hélice con un apareamiento normal de sus bases y cadenas antiparalelas. El bucle consiste en las bases desapareadas entre las dos unidades repetidas.

La producción de estructuras tallo-bucles en el DNA es relativamente rara en las células. Sin embargo, la producción de estas estructuras en el RNA producido a partir de la transcripción del DNA es bastante habitual. Esta estructura secundaria (Sección 3.5) formada por el apareamiento de bases en el interior de una cadena sencilla de ácido nucleico es fundamental para el funcionamiento del RNA de transferencia (Sección 7.14) y del RNA ribosómico (Sección 7.15). Aun en el caso de que no se forme una estructura tallo-bucle, las repeticiones invertidas del DNA son sitios de unión frecuentes para proteínas específicas de unión al DNA que regulan la transcripción (Capítulo 9).

Efecto de la temperatura en la estructura del DNA

Si bien los puentes de hidrógeno entre los pares de bases son muy débiles tomados de forma individual (Sección 3.1), muchos de estos enlaces en una molécula larga de

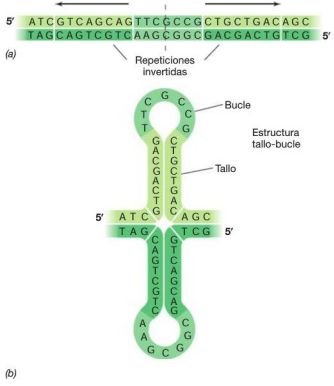


Figura 7.6 Repeticiones invertidas y formación de una estructura tallo-bucle. (*a*) Repeticiones invertidas cercanas en el DNA. Las flechas indican la simetría en torno al eje imaginario (línea de rayas). (*b*) Formación de una estructura tallo-bucle por apareamiento de bases complementarias en la misma cadena. Obsérvese que el RNA puede formar una estructura tallo-bucle independientemente de la cadena de DNA de la que proceda (compárese con la Figura 7.23).

DNA mantienen juntas de una manera eficaz las dos cadenas: puede haber cientos de millones de puentes de hidrógeno en una molécula de DNA, según el número de pares de bases presentes. Recuerde de la Figura 7.3 que cada par de bases adenina-timina tiene *dos* puentes de hidrógeno, y cada par guanina-citosina tiene *tres*. Esto hace que los pares de bases GC sean más fuertes que los AT.

Cuando se aísla de las células y se mantiene a temperatura ambiente y una concentración salina fisiológica, el DNA permanece en forma de doble hélice. Sin embargo, si se eleva la temperatura, los puentes de hidrógeno se romperán pero los enlaces covalentes que mantienen cada una de las cadenas no lo harán, de manera que las dos cadenas se separarán. Este proceso recibe el nombre de desnaturalización (o fusión) y se puede medir experimentalmente porque las cadenas sencillas y las dobles de los ácidos nucleicos difieren en su capacidad para absorber radiación ultravioleta a 260 nm (**Figura 7.7**).

El DNA con un alto porcentaje de pares GC se funde a temperaturas más altas que una molécula de tamaño similar con más pares AT. Si el DNA calentado se deja enfriar lentamente se puede volver a formar la doble hebra por un proceso llamado apareamiento. El apareamiento

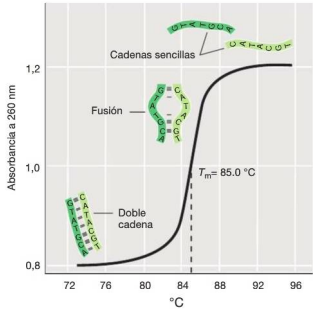


Figura 7.7 Desnaturalización térmica del DNA. El DNA absorbe más radiación ultravioleta a 260 nm cuando la doble hélice está desnaturalizada. La transición es muy brusca, y la temperatura del punto medio, T_m es proporcional al contenido en GC del DNA. Aunque el DNA desnaturalizado puede renaturalizarse por enfriamiento gradual, el proceso no sigue una curva similar. La renaturalización se hace progresivamente más completa a temperaturas muy por debajo de la T_m y sólo tras un tiempo de incubación considerable.

se puede utilizar para restablecer el DNA nativo, y además para formar moléculas híbridas cuyas dos cadenas provengan de fuentes diferentes. La hibridación, la construcción artificial de un ácido nucleico de doble cadena por el apareamiento de bases complementarias de dos cadenas sencillas es una técnica extremadamente útil en biología molecular (Sección 12.2).

7.2 Minirrevisión

El DNA es una molécula de doble cadena que forma una hélice. Su longitud se mide en términos de cantidad de pares de bases. Las dos cadenas que forman una doble hélice son antiparalelas, pero las repeticiones invertidas permiten la formación de estructuras secundarias. Las cadenas de una molécula de DNA de doble hélice se pueden desnaturalizar por calor y renaturalizarse de nuevo mediante enfriamiento.

- Explique lo que significa la palabra «antiparalelo» en términos de la estructura de doble cadena del DNA.
- Defina el término «complementario» cuando se usa para referirse a dos cadenas de DNA.
- Defina los términos «desnaturalización», «apareamiento» e «hibridación» en su aplicación a los ácidos nucleicos.

7.3 Superenrollamiento

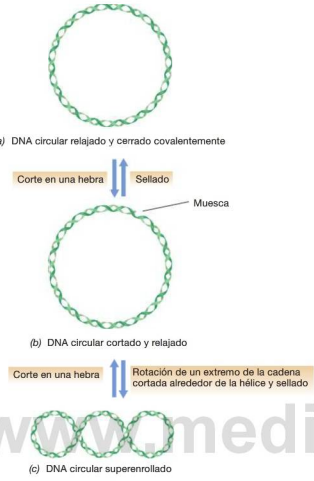
Si lo extendiéramos, el cromosoma de *Escherichia coli* tendría una longitud de más de 1 mm, unas 400 veces más que la propia célula de *E. coli*. ¿Cómo es posible empaquetar tanto DNA en un espacio tan pequeño? La solución es la imposición de una estructura de «orden superior» en el DNA, en la que el DNA de doble cadena es retorcido aún más en un proceso llamado *superenrollamiento*. En la **Figura 7.8** se muestra cómo se produce el superenrollamiento en un DNA dúplex circular. Si extendemos una molécula de DNA circular se pierde todo el superenrollamiento y el DNA se queda «relajado». Así pues, una molécula de DNA relajado tiene exactamente el número de vueltas de hélice predichas por el número de pares de bases.

El superenrollamiento coloca la molécula de DNA bajo torsión, de forma muy similar a la tensión que se añade a una cinta de goma cuando se gira. El DNA se puede superenrollar de forma positiva o negativa. En el superenrollamiento positivo la doble hélice está sobreenrollada, mientras que en el superenrollamiento negativo la hélice está infraenrollada. El superenrollamiento negativo es el resultado de la torsión del DNA sobre su eje en el sentido opuesto respecto a la doble hélice dextrorsa. El superenrollamiento negativo es la forma predominante en la naturaleza, con algunas excepciones interesantes en determinadas especies de *Archaea* (Capítulo 8). En *Escherichia coli* se cree que existen más de 100 dominios superenrollados, cada uno de los cuales es estabilizado mediante la unión a proteínas específicas.

Topoisomerasas: la DNA-girasa

Las supervueltas pueden ser introducidas o eliminadas por enzimas conocidas como topoisomerasas. Existen dos clases principales de topoisomerasas, y cada una de ellas tiene un mecanismo diferente. Las topoisomerasas de clase I realizan un corte en una sola hebra del DNA, lo que permite la rotación de una cadena de la doble hélice sobre la otra. Cada una de estas rotaciones añade una supervuelta al DNA. A continuación, el corte se repara. Las topoisomerasas de clase II realizan cortes en ambas cadenas de DNA, pasan la doble hélice intacta a través del corte y, por último, reparan el corte. Cada operación añade o suprime dos supervueltas. La inserción de supervueltas en el DNA requiere energía procedente de ATP, mientras que la eliminación de supervueltas no precisa energía.

En las bacterias y en la mayoría de las arqueas existe una enzima llamada **DNA-girasa** que introduce superenrollamiento negativo en el DNA. La DNA-girasa pertenece al grupo de topoisomerasas de tipo II. Su función se realiza en varias etapas. Primero, la molécula de DNA circular se retuerce; después, cuando las dos cadenas se tocan, se hace un corte en una de ellas. A continuación se pasa la cadena intacta a través del corte y por último se rese-



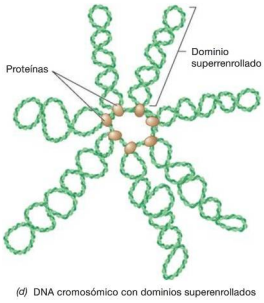


Figura 7.8 DNA superenrollado. En *(a)*, *(b)* y *(c)* se muestra el DNA circular superenrollado y el DNA circular cortado y relajado. Una muesca es un corte en un enlace fosfodiéster de una hebra. *(d)* En realidad el DNA de doble cadena del cromosoma bacteriano no se organiza en un solo dominio, sino en varios dominios superenrollados, como se muestra aquí.

www.medilibros.com

lla la doble hélice rota (**Figura 7.9**). Cabe señalar que algunos de los antibióticos que afectan a las bacterias, como la quinolona ácido nalidíxico, la fluoroquinolona ciprofloxacina y la novobiocina inhiben la actividad de la DNA-girasa. La novobiocina también es eficaz frente a algunas especies de *Archaea*, en las que también parece inhibir la DNA-girasa.

Normalmente, la eliminación del superenrollamiento adicional en el DNA la lleva a cabo la topoisomerasa I. Esta enzima introduce un corte en una sola hebra del

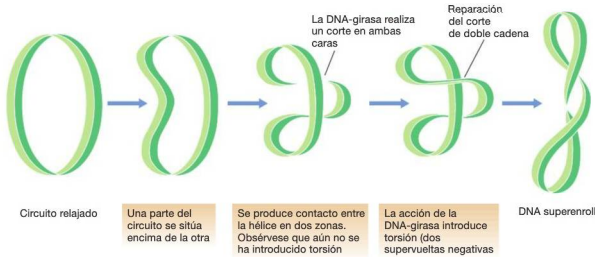


Figura 7.9 DNA-girasa. Introducción de superenrollamiento negativo en el DNA circular mediante la actividad de la DNA-girasa (topoisomerasa II), que hace cortes en la doble cadena.

DNA y provoca la rotación de una hebra de la doble hélice alrededor de la otra. Como se muestra en la Figura 7.8, un corte (una muesca) en el esqueleto de una de las cadenas permite al DNA volver al estado relajado. Sin embargo, para evitar que todo el cromosoma bacteriano se relaje cada vez que se realiza una muesca, dicho cromosoma se organiza en dominios de superenrollamiento, como se muestra en la Figura 7.8*d*. De este modo, una muesca en el DNA en uno de estos dominios no relaja el DNA en los otros. No se conoce exactamente el mecanismo de formación de estos dominios, si bien se sabe que participan proteínas específicas de unión al DNA.

Mediante la actividad de las topoisomerasas, la molécula de DNA puede superenrollarse y relajarse. Como el superenrollamiento es necesario para empaquetar el DNA en el interior de la célula y la relajación es necesaria para la replicación y la transcripción del DNA, los procesos complementarios de superenrollamiento y relajación juegan un papel muy importante en la biología de la célula. En la mayoría de los procariotas, el grado de superenrollamiento negativo es el resultado del equilibrio entre la actividad de la DNA-girasa y de la topoisomerasa I. No obstante, además de la replicación, el superenrollamiento afecta también a la expresión génica. Algunos genes se transcriben de manera más activa cuando el DNA está superenrollado, mientras que en otros la transcripción se ve inhibida por el superenrollamiento excesivo.

7.3 Minirrevisión

Las moléculas muy largas de DNA se pueden empaquetar en las células porque están superenrolladas. En los procariotas, este superenrollamiento lo llevan a cabo unas enzimas llamadas topoisomerasas. La DNA-girasa es una enzima clave en los procariotas e introduce superenrollamiento negativo en el DNA.

- ¿Por qué es importante el superenrollamiento?
- ¿Qué función realizan las topoisomerasas en el interior de las células?

7.4 Cromosomas y otros elementos genéticos

Las estructuras que contienen material genético (DNA en la mayoría de los organismos, y RNA en algunos virus) se llaman *elementos genéticos*. El **genoma** es el complemento total de genes de una célula o un virus. Si bien el elemento genético principal de los procariotas es el **cromosoma,** se conocen otros elementos genéticos que juegan papeles muy importantes en la función génica tanto en procariotas como en eucariotas (**Tabla 7.1**). En la Sección 2.6 observamos que un procariota típico posee un solo cromosoma circular que contiene todos (o prácticamente todos) los genes de la célula. La existencia de un solo cromosoma por célula es la regla entre procariotas, pero hay excepciones: algunos procariotas contienen dos cromosomas. Por su parte, el genoma de los eucariotas está compuesto por múltiples cromosomas (Sección 8.5). Así mismo, el DNA de todos los eucariotas conocidos es lineal, en contraste con la mayoría de cromosomas procarióticos, que son moléculas de DNA circular.

Tabla 7.1 Clases de elementos genéticos

Organismo	*Elemento*	*Tipo de ácido nucleico*	*Descripción*
Procariotas	Cromosoma	DNA de doble cadena	Extremadamente largo, normalmente circular
Eucariotas	Cromosoma	DNA de doble cadena	Extremadamente largo, lineal
Todos	Plásmido[a]	DNA de doble cadena	Molécula extracromosómica circular o lineal relativamente corta
Todos	Elemento transponible	DNA de doble cadena	Siempre se encuentra inserto en otra molécula de DNA
Mitocondrias y cloroplastos	Genoma	DNA de doble cadena	De longitud media, normalmente circular
Virus	Genoma	DNA o RNA de doble cadena o de cadena sencilla	Relativamente circular o lineal

[a]Los plásmidos son raros en eucariotas.

Virus y plásmidos

Además del cromosoma, se conocen otros elementos genéticos, como los genomas víricos, los plásmidos, los genomas de los orgánulos y los elementos transponibles.

Los virus contienen genomas, *de DNA o de RNA*, que controlan su propia replicación y su transferencia de célula a célula. Se conocen genomas víricos lineales y circulares. Además, el ácido nucleico en los genomas víricos circulares puede ser de cadena sencilla o de cadena doble. Los virus resultan de especial interés porque suelen causar enfermedades. En los Capítulos 10 y 19 estudiaremos los virus y en Capítulos posteriores analizaremos varias enfermedades víricas.

Los plásmidos son elementos genéticos que se replican independientemente del cromosoma. La inmensa mayoría de plásmidos son DNA de doble cadena y aunque casi todos ellos son circulares, hay algunos lineales. Los plásmidos difieren de los virus en dos aspectos: 1) no causan daño celular (generalmente son beneficiosos) y 2) no tienen formas extracelulares, mientras que los virus sí.

Si bien sólo unos pocos eucariotas contienen plásmidos, en la mayoría de especies procariotas se han encontrado uno o más plásmidos, y éstos pueden ser de

www.medi

enorme importancia. Estudiaremos los plásmidos en el Capítulo 11.

Algunos plásmidos contienen genes cuyos productos proteicos confieren propiedades importantes a la célula hospedadora, como la resistencia a antibióticos. Entonces, ¿cuál es la diferencia entre un plásmido grande y un cromosoma? Un cromosoma es un elemento genético que contiene genes cuyos productos son necesarios para las funciones celulares esenciales. Estos genes esenciales se llaman genes de mantenimiento. Algunos de ellos codifican proteínas esenciales, como las DNA y RNA-polimerasas, y otros codifican RNA esenciales como los RNA ribosómicos y de transferencia. Por el contrario, los plásmidos son normalmente prescindibles y rara vez contienen genes necesarios para el crecimiento bajo cualesquiera condiciones. En un cromosoma también existen muchos genes que no son esenciales, pero la presencia de genes *esenciales* es un requisito necesario para que un elemento genético pueda llamarse cromosoma.

Elementos transponibles

Los elementos transponibles son segmentos de DNA que pueden desplazarse de un sitio de una molécula de DNA a otro sitio de la misma molécula o de una molécula de DNA diferente. Los cromosomas, los plásmidos, los genomas víricos y cualquier otro tipo de molécula de DNA pueden actuar como moléculas hospedadoras para los elementos transponibles. Los elementos transponibles no se encuentran como moléculas de DNA independientes, sino que están insertos en otras moléculas de DNA que forman cromosomas, plásmidos o genomas víricos. Los elementos transponibles se hallan tanto en procariotas como en eucariotas y juegan un papel muy importante en la variación genética. En procariotas existen tres tipos principales de elementos transponibles: secuencias de inserción, transposones y algunos virus especiales. Las secuencias de inserción constituyen el tipo más simple de elemento transponible y no llevan más información genética que la necesaria para desplazarse por el cromosoma. Los transposones son más grandes y contienen otros genes. Hablaremos de ambos elementos con más detalle en el Capítulo 11. En el Capítulo 19 estudiaremos un virus bacteriano, Mu, que es en sí mismo un elemento transponible. La única característica común a todos los elementos transponibles es que se replican como parte de otra molécula de DNA.

7.4 Minirrevisión

Además del cromosoma, existen otros elementos genéticos en la célula. Los plásmidos son moléculas de DNA que existen de forma independiente del cromosoma de la célula. Los virus contienen un genoma, bien de DNA o de RNA, que controla su propia replicación. Los elementos transponibles existen formando parte de otros elementos genéticos.

- ¿Qué es un genoma?
- ¿Qué material genético se encuentra en todos los cromosomas celulares?
- ¿Qué define a los cromosomas de los procariotas?

III LA REPLICACIÓN DEL DNA

El flujo de información genética empieza con la replicación del DNA. La replicación del DNA es necesaria para que las células se dividan, tanto para reproducir organismos nuevos, en los microorganismos unicelulares, como para producir células nuevas como parte de un organismo multicelular. El proceso de replicación del DNA se realiza con la precisión suficiente para que las células hijas sean genéticamente idénticas a la célula madre (o casi). Esto implica una batería de enzimas y procesos especiales.

7.5 Moldes y enzimas

El DNA existe en las células en forma de doble hélice con apareamiento de bases complementarias (Figuras 7.3 y 7.4). Si la doble hélice de DNA se abre, se puede sintetizar una nueva cadena como complemento de cada una de las cadenas parentales. Como se muestra en la **Figura 7.10**, la replicación es **semiconservativa,** lo que significa que las dos dobles hélices resultantes consisten en una cadena nueva y una cadena parental. La cadena de DNA copiada se llama molde, y en la replicación del DNA cada cadena parental es un molde para una cadena hija de nueva síntesis (y complementaria a ella) (Figura 7.10).

La química del DNA, la naturaleza de los precursores y las actividades de las enzimas implicadas en la replica-

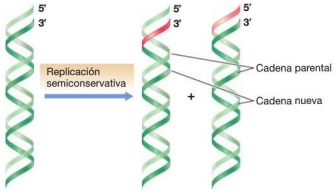


Figura 7.10 Visión general de la replicación del DNA. La replicación del DNA es un proceso semiconservativo tanto en procariotas como en eucariotas. Obsérvese que las dobles hélices nuevas contienen una cadena nueva (con un fragmento rojo en la parte superior) y una cadena parental.

ción ponen restricciones importantes a la forma de sintetizar las cadenas nuevas. El precursor de cada nuevo nucleótido en la cadena es un 5′-trifosfato de desoxinucleósido, a partir del cual se eliminan dos fosfatos terminales y el fosfato interior se une covalentemente a una desoxirribosa en la cadena en crecimiento (**Figura 7.11**). La adición del nucleótido a la cadena en crecimiento exige la presencia de un grupo hidroxilo libre, que está disponible únicamente en el extremo 3′ de la molécula. Esta restricción conduce a un importante principio que está en la base de la replicación del DNA: la replicación del DNA procede del extremo 5′ al 3′, y el 5′-fosfato del nucleótido que va a ser incorporado se une al 3′-hidroxilo del nucleótido añadido previamente.

DNA-polimerasa y primasa

Las enzimas que catalizan la adición de desoxinucleótidos se llaman **DNA-polimerasas.** Las hay de diferentes clases, y cada una de ellas tiene una función específica. En *Escherichia coli* hay cinco DNA-polimerasas diferentes, llamadas DNA-polimerasa I, II, III, IV y V. La DNA-polimerasa III (Pol III) es la enzima principal para la replicación del DNA cromosómico. La DNA-polimerasa I también está implicada en la replicación cromosómica, pero en menor grado (*véase* más abajo). Las otras DNA-polimerasas ayudan a reparar el DNA dañado (Sección 11.7).

Todas las DNA-polimerasas conocidas sintetizan DNA en dirección 5′ → 3′. Sin embargo, no se conoce ninguna DNA-polimerasa que pueda iniciar una cadena nueva; todas estas enzimas únicamente pueden añadir nucleótidos a un grupo 3′-OH ya existente. Por lo tanto, para empezar una cadena nueva, es necesario un **cebador,** una molécula de ácido nucleico a la que la DNA-polimerasa pueda unir el primer nucleótido. En la mayoría de los casos, este cebador es un fragmento corto de RNA.

Cuando la doble hélice se abre al principio de la replicación, una enzima que polimeriza RNA sintetiza el cebador. Esta enzima recibe el nombre de *primasa* y sintetiza un fragmento corto de RNA de unos 11 o 12 nucleótidos, que tiene complementariedad de bases con el DNA molde. En el extremo creciente de este cebador de RNA hay un grupo 3′-OH al que la DNA-polimerasa puede unir el primer desoxirribonucleótido. A partir de ahí la extensión de la molécula continúa como DNA en lugar de RNA. La nueva molécula sintetizada tiene una estructura como la que se muestra en la **Figura 7.12**. El cebador se eliminará y se sustituirá por DNA, como se describe más adelante. A continuación vamos a examinar los detalles de la replicación del DNA.

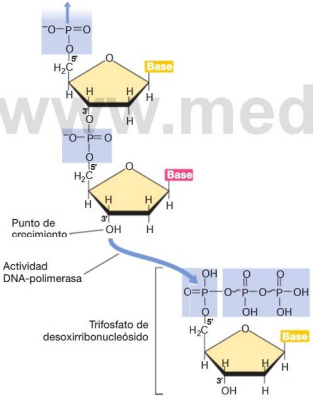


Figura 7.11 Estructura de la cadena de DNA y mecanismo de crecimiento por adición de un trifosfato de desoxirribonucleósido en el extremo 3′ de la cadena. El crecimiento procede del extremo 5′-fosfato al 3′-hidroxilo. La enzima DNA-polimerasa cataliza la reacción de adición. Los cuatro precursores son trifosfato de desoxitimidina (dTTP), trifosfato de desoxiadenosina (dATP), trifosfato de desoxiguanosina (dGTP) y trifosfato de desoxicitidina (dCTP). En la inserción del nucleótido se liberan los dos fosfatos terminales del trifosfato en forma de pirofosfato (PPi). Por lo tanto, en la adición de un solo nucleótido se consumen dos enlaces fosfato de alta energía.

7.5 Minirrevisión

Las dos cadenas de DNA sirven como molde para la síntesis de cadenas nuevas (replicación semiconservativa). Las dos dobles hélices hijas contienen una cadena parental y una nueva. Las cadenas nuevas se elongan por adición de desoxirribonucleótidos al extremo 3′. Las DNA-polimerasas necesitan un cebador de RNA.

- ¿A qué extremo (5′ o 3′) de la cadena recién sintetizada de DNA añade una base la polimerasa?
- ¿Por qué es necesario un cebador para la replicación?

Figura 7.12 El cebador de RNA. Estructura de la combinación RNA-DNA formada en la iniciación de la síntesis del DNA.

7.6 La horquilla de replicación

Gran parte de nuestra comprensión del mecanismo de replicación del DNA lo hemos obtenido a partir del estudio de la bacteria *Escherichia coli*, y el siguiente análisis concierne especialmente a este organismo. No obstante, probablemente el proceso de replicación del DNA sea bastante similar en todas las bacterias. Por el contrario, aunque la mayoría de las especies de *Archaea* tienen cromosomas circulares, muchos de los pasos de la replicación del DNA se parecen más a los de las células eucariotas que a los de las bacterias (Capítulo 8). De nuevo, esto pone de manifiesto la afiliación filogenética entre *Archaea* y *Eukarya* (Sección 2.7).

Iniciación de la síntesis de DNA

Antes de que la DNA-polimerasa pueda sintetizar nuevo DNA, se debe desenrollar la doble hélice existente con el fin de exponer las cadenas molde. La zona de DNA desenrollado en el que se produce la replicación se conoce como **horquilla de replicación.** Una enzima conocida como DNA-helicasa desenrolla la doble hélice de DNA y expone una pequeña región de cadena sencilla (**Figuras 7.13** y **7.14**). La energía necesaria para que las helicasas desenrollen el DNA procede de la hidrólisis de ATP. Las helicasas se mueven a lo largo de la hélice y separan las cadenas a medida que va avanzando la horquilla de replicación. La región de cadena sencilla forma un complejo con una proteína especial, la proteína de unión a cadena sencilla, que estabiliza el DNA monocatenario y evita la formación de puentes de hidrógeno intracatenarios y la reversión a doble hélice.

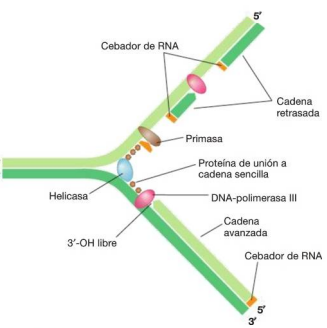


Figura 7.13 Esquema de la horquilla de replicación del DNA. Obsérvese la polaridad y la naturaleza antiparalela de las cadenas de DNA.

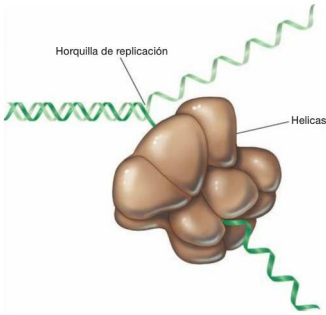


Figura 7.14 DNA-helicasa desenrollando una doble hélice. En esta figura, las proteínas y la molécula de DNA están representadas a escala. A menudo se utilizan esquemas sencillos para dar una idea de los pasos moleculares en la célula, pero pueden dar la impresión errónea de que la mayoría de proteínas son relativamente pequeñas en comparación con el DNA. Si bien las moléculas de DNA son, generalmente, extremadamente largas, también son relativamente finas comparadas con muchas proteínas.

www.libros.com

En procariotas, hay sólo un punto del cromosoma en el que puede iniciarse la síntesis de DNA, el origen de replicación. Este punto consiste en una secuencia específica de DNA de unas 250 bases que es reconocida por proteínas de iniciación específicas, en concreto una proteína llamada DnaA (**Tabla 7.2**) que se une a esta región y abre la doble hélice para exponer las cadenas individuales a la maquinaria de replicación. La siguiente en ensamblarse es la helicasa (también llamada DnaB), que es situada sobre el DNA por la proteína cargadora de la helicasa (o DnaC). Se cargan dos helicasas, una en cada cadena, en direcciones opuestas. A continuación se cargan dos primasas y después dos DNA-polimerasas sobre el DNA detrás de las helicasas. Entonces empieza la iniciación de la replicación del DNA en las dos cadenas sencillas. A medida que procede la replicación, la horquilla va desplazándose a lo largo del DNA (Figura 7.13). **www.microbiologyplace.com Tutorial online 7.1: Replicación del DNA.**

Cadena avanzada y cadena retrasada

En la Figura 7.13 se muestra una importante distinción entre las dos cadenas de DNA por el hecho de que la replicación siempre avanza en dirección 5′ → 3′ (siempre

Tabla 7.2 Principales enzimas implicadas en la replicación del DNA en las bacterias

Enzima	*Genes codificadores*	*Función*
DNA-girasa	*gyrAB*	Deshace el superenrollamiento por delante del replisoma
Proteína de unión al origen (OBP)	*dnaA*	Se une al origen de replicación; participa en la desnaturalización del DNA para abrir la doble hélice
Cargador de la helicasa	*dnaC*	Carga la helicasa en el origen
Helicasa	*dnaB*	Desenrolla la doble hélice en la horquilla de replicación
Proteína de unión a cadena sencilla	*ssb*	Evita que las cadenas sencillas se apareen
Primasa	*dnaG*	Sintetiza los cebadores para las nuevas cadenas de DNA
DNA-polimerasa III		Principal enzima polimerizante
Pinza deslizante	*dnaN*	Mantiene la Pol III sobre el DNA
Cargador de la pinza	*holA-E*	Carga la Pol III sobre la pinza deslizante (Figura 7.19)
Subunidad de dimerización	*dnaX*	Mantiene unidas las dos enzimas del núcleo (*core*) de la polimerasa a las cadenas avanzada y retrasada
Subunidad polimerasa	*dnaE*	Elongación de la cadena
Subunidad de corrección de errores	*dnaQ*	Corrección de errores
DNA-polimerasa I	*polA*	Corta el cebador de RNA y llena los huecos
DNA-ligasa	*ligA, ligB*	Sella las muescas del DNA
Proteína Tus	*tus*	Une los extremos y bloquea el progreso de la horquilla de replicación
Topoisomerasa IV	*parCE*	Separación de círculos entrelazados

añadiendo un nuevo nucleótido al 3′-OH de la cadena en crecimiento). En la cadena en crecimiento desde 5′-PO_4^{2-} a 3′-OH, llamada **cadena avanzada,** la síntesis de DNA se produce de manera continua porque siempre hay un 3′-OH libre en la horquilla de replicación al que se le puede añadir un nuevo nucleótido. Sin embargo, en la cadena opuesta, la llamada **cadena retrasada,** la síntesis de DNA se produce de manera discontinua porque no hay 3′-OH en la horquilla de replicación al que unir un nuevo nucleótido. ¿Dónde está el 3′-OH en esta cadena? Está situado en el extremo opuesto, lejos de la horquilla de replicación.

Así pues, en la cadena retrasada, la primasa debe sintetizar múltiples cebadores de RNA para proporcionar grupos 3′-OH libres. Por el contrario, la cadena avanzada sólo tiene un cebador, en el origen. Como resultado, la cadena retrasada está formada por segmentos cortos, llamados *fragmentos de Okazaki* por su descubridor, Reiji Okazaki. Estos fragmentos se unen más tarde para formar una cadena continua de DNA.

Replicación del DNA: síntesis de nuevas cadenas de DNA

Después de sintetizar el cebador de RNA, la primasa es sustituida por la Pol III. Esta enzima es un complejo de varias proteínas (Tabla 7.2) incluyendo el propio núcleo *(core)* de la polimerasa. Cada polimerasa se sostiene sobre el DNA por la acción de una pinza deslizante, que rodea y se desplaza a lo largo de las cadenas sencillas de DNA que sirven de molde. En consecuencia, la horquilla de replicación contiene dos núcleos de polimerasa y dos pinzas deslizantes, un grupo para cada cadena. Sin embargo, existe sólo un complejo cargador de pinza. Éste es necesario para ensamblar las pinzas deslizantes con el DNA. Tras el ensamblaje sobre la cadena retrasada, el componente de elongación de la Pol III, la DnaE, añade desoxirribonucleótidos hasta que alcanza el DNA sintetizado previamente (**Figura 7.15**). En este punto, la actividad de la Pol III cesa.

La siguiente enzima que entra en acción, la Pol I, tiene más de una actividad enzimática. Además de sintetizar DNA, la Pol I tiene una actividad exonuclesa 5′ → 3′ que elimina el cebador de RNA que le precede (Figura 7.15). Una vez que se ha eliminado el cebador y se ha sustituido por DNA, la Pol I se libera. El último enlace fosfodiéster lo realiza una enzima llamada *DNA-ligasa.* Esta enzima sella la muesca en los DNA que tienen un 5′-PO_4^{2-} y un 3′-OH adyacentes (algo que la Pol III es incapaz de hacer), y junto con la Pol I también participa en la reparación del DNA. La DNA-ligasa también tiene una función importante en sellar el DNA manipulado genéticamente en el proceso de clonación molecular (Sección 12.3).

www.edicionesdiaz.com

7.6 Minirrevisión

La síntesis de DNA empieza en un sitio único llamado origen de replicación. La doble hélice se desenrolla por acción de la helicasa y es estabilizada por las proteínas de unión a cadena sencilla. La extensión del DNA se produce de manera continua en la cadena avanzada, y discontinua en la cadena retrasada. Los fragmentos de la cadena retrasada son unidos entre sí más tarde.

- ¿Por qué existen una cadena avanzada y una cadena retrasada?
- ¿Qué reconoce el origen de replicación?
- ¿Qué enzimas actúan para unir los fragmentos de la cadena retrasada?

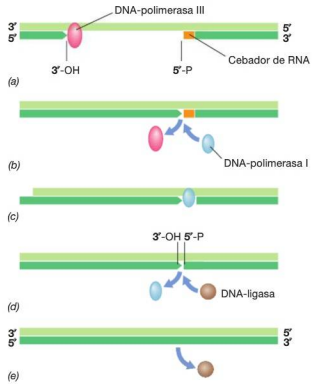


Figura 7.15 Sellado de dos fragmentos de la cadena retrasada. *(a)* La DNA-polimerasa III sintetiza el DNA en dirección 5′ → 3′ hacia el cebador de RNA de un fragmento previamente sintetizado de la cadena retrasada. *(b)* Al alcanzar el fragmento, la DNA-polimerasa III deja la escena y es sustituida por la DNA-polimerasa I. *(c)* La DNA-polimerasa I sigue sintetizando el DNA a la vez que va eliminando el cebador de RNA del fragmento previo. *(d)* La DNA-ligasa sustituye a la DNA-polimerasa I una vez que el cebador ha sido eliminado. *e)* La DNA-ligasa sella los dos fragmentos entre sí.

7.7 La replicación bidireccional y el replisoma

La naturaleza circular del cromosoma de *Escherichia coli* y la mayoría del resto de procariotas crea una oportunidad para acelerar la replicación. Vamos a analizar cómo encaja esto en el esquema global de la replicación y la división.

Replicación bidireccional del cromosoma

En *E. coli*, y probablemente en todos los procariotas con cromosomas circulares, la replicación es *bidireccional* desde el origen de replicación, como se muestra en las **Figuras 7.16** y **7.17**. Hay así dos horquillas de replicación en cada cromosoma, moviéndose en sentidos opuestos. En el DNA circular, la replicación bidireccional lleva a la formación de estructuras características llamadas *estructuras theta* (Figura 7.16). Las moléculas más grandes de DNA, ya sean procariotas o eucariotas, tienen replicación bidireccional desde orígenes fijos. De hecho, un solo cromosoma eucariótico tiene muchos orígenes. Un análisis más detallado del DNA que se está replicando muestra que durante la replicación bidireccional se produce síntesis tanto de manera avanzada como de manera retrasada en cada una de las cadenas molde (Figura 7.17).

La síntesis bidireccional del DNA a lo largo de un cromosoma circular permite al DNA replicarse lo más rápidamente posible. Incluso teniendo esto en cuenta y considerando que Pol III puede añadir nucleótidos a una cadena creciente de DNA a una velocidad de 1.000 por segundo, la replicación del cromosoma en *E. coli* dura unos 40 minutos. Sorprendentemente, en condiciones de crecimiento óptimas, *E. coli* puede crecer con un tiempo de duplicación de unos 20 minutos. Sin embargo, en las mismas condiciones, la replicación cromosómica sigue tardando 40 minutos. La solución a este acertijo es que las células de *E. coli* creciendo a tiempos de duplicación menores de 40 minutos contienen múltiples horquillas de replicación. Es decir, empieza una nueva ronda de replicación del DNA antes de que la anterior haya terminado (**Figura 7.18**). Sólo de este modo se puede mantener un tiempo de generación menor que el tiempo de replicación cromosómica.

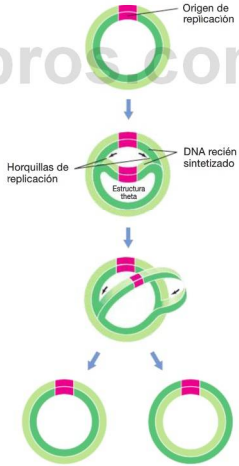


Figura 7.16 Replicación de DNA circular: la estructura theta. En el DNA circular, la replicación bidireccional a partir de un origen forma una estructura intermedia que recuerda a la letra griega theta (θ).

www.elibros.com

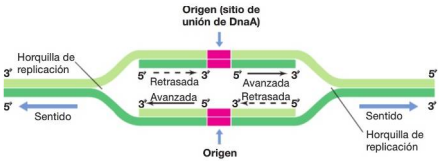


Figura 7.17 Horquilla de replicación doble en el cromosoma circular. En un origen de replicación que dirige una replicación bidireccional deben formarse dos horquillas de replicación. Así, deben iniciarse dos cadenas avanzadas, una en cada sentido. En *Escherichia coli*, el origen de replicación se identifica por la unión de una proteína específica, DnaA.

El replisoma

Mientras el DNA está siendo sintetizado en la horquilla de replicación, el enrollamiento del DNA cambia por causa de la actividad de las topoisomerasas (Sección 7.3). El desenrollamiento es una característica esencial de la replicación del DNA, y puesto que el DNA superenrollado está bajo tensión, se desenrolla más fácilmente que el que está relajado. Así, regulando el grado de superenrollamiento, las topisomerasas pueden regular el proceso de replicación (y también de transcripción, como se verá más adelante).

En la Figura 7.13 se muestran las diferencias en la replicación de las cadenas avanzada y retrasada y las enzimas implicadas. A partir de un dibujo tan simplificado, se podría deducir que cada horquilla de replicación contiene un grupo de proteínas diferentes trabajando todas de manera independiente. En realidad no es así. Las proteínas altamente dinámicas se agregan para formar un gran complejo de replicación llamado *replisoma* (**Figura 7.19**). La cadena retrasada de DNA se desenrolla para permitir al replisoma moverse suavemente a lo largo de ambas cadenas, y el replisoma tira literalmente del molde de DNA para hacerlo pasar a su través a medida que se produce la replicación (Figura 7.19). De este modo, es el DNA y no la DNA-polimerasa quien se mueve durante la

www.medilibros.com

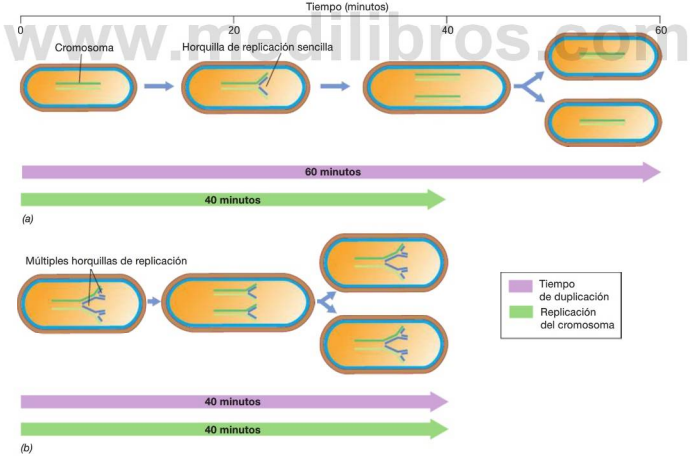


Figura 7.18 División celular frente a duplicación cromosómica. *(a)* Las células de E. coli tardan aproximadamente 40 minutos en replicar el cromosoma y 20 minutos adicionales en la división celular. *(b)* Cuando las células se duplican en menos de 60 minutos, un nuevo ciclo de replicación debe empezar antes de que termine el anterior.

replicación. Obsérvese también en el replisoma que la helicasa y la primasa forman un subcomplejo llamado primosoma, que trabaja como un equipo durante el proceso de replicación (Figura 7.19).

Resumiendo: junto con Pol III, el replisoma contiene algunas proteínas de replicación claves: (1) la DNA girasa, que elimina superenrollamientos; (2) DNA helicasa y primasa (el primosoma) que desenrolla y ceba el DNA, y (3) la proteína de unión a cadena sencilla, que evita que las cadenas molde separadas formen una nueva doble hélice (Figura 7.19). La Tabla 7.2 resume las propiedades de las proteínas esenciales para la replicación del DNA.

7.7 Minirrevisión

Empezando desde un solo origen, la síntesis de DNA se desarrolla en ambos sentidos alrededor de los cromosomas circulares. De este modo, existen dos horquillas de replicación trabajando de manera simultánea. Las proteínas de la horquilla de replicación forman un gran complejo conocido como replisoma.

- ¿Qué es el replisoma y cuáles son sus componentes?
- ¿Cómo hace *Escherichia coli* para llevar a cabo la división celular en menos tiempo de lo que tarda en duplicar su cromosoma?

7.8 Corrección de errores y terminación

El DNA se replica con una tasa de errores notablemente baja. No obstante, cuando se produce algún error, existe un mecanismo de seguridad para detectarlo y corregirlo. Analizaremos este mecanismo y a continuación veremos cómo se produce la terminación de la síntesis del DNA.

Fidelidad de la replicación del DNA: corrección de errores

Los errores en la replicación del DNA introducen mutaciones, cambios en la secuencia del DNA. Las tasas de mutación en las células son sorprendentemente bajas, entre 10^{-8} y 10^{-11} errores por par de bases introducida. Esta exactitud es posible en parte gracias a que las DNA-polimerasas tienen dos oportunidades para incorporar la base correcta en un sitio determinado. La primera oportunidad se da en la inserción de bases complementarias opuestas a las bases de la cadena molde por parte de la Pol III de acuerdo con las reglas del apareamiento de bases, A con T y G con C. La segunda oportunidad depende de una segunda actividad enzimática por parte tanto de la Pol I como de la Pol III, llamada *corrección de errores* (**Figura 7.20**). En la Pol III la lleva a cabo una subunidad proteica independiente llamada DnaQ.

www.medilibros.com

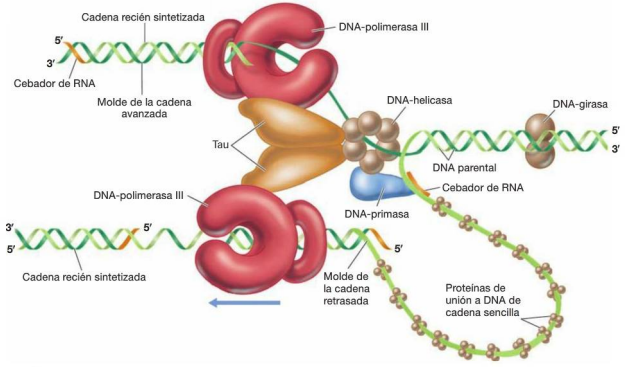


Figura 7.19 **El replisoma.** El replisoma consiste en dos copias de DNA-polimerasa III más una helicasa y una primasa (juntas forman el primosoma), y muchas copias de proteínas de unión a DNA de cadena sencilla. Las subunidades Tau mantienen las dos DNA-polimerasas y la helicasa juntas. Justo antes del replisoma, la DNA-girasa elimina el superenrollamiento en el DNA que se va a replicar. Obsérvese que las dos polimerasas están replicando las dos cadenas individuales de DNA en sentidos opuestos. En consecuencia, el molde de la cadena retrasada se enrolla de manera que todo el replisoma se mueve en el mismo sentido a lo largo del cromosoma.

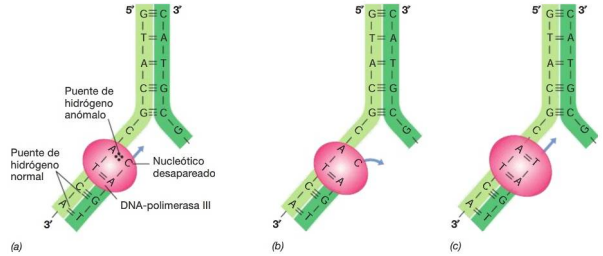


Figura 7.20 **Corrección de errores por la actividad exonucleasa 3′ → 5′ de la DNA-polimerasa III.** Un error en el apareamiento de las bases en el par de bases terminal *(a)* hace que la polimerasa se detenga brevemente. Esto supone una señal para que la actividad de corrección de errores escinda el nucleótido mal apareado *(b)* y a continuación la actividad polimerasa incorpore la base correcta *(c)*.

¿Cómo funciona la corrección de errores? Tanto Pol I como Pol III poseen una actividad exonucleasa (exo significa «extremo») 3′ → 5′ que elimina un nucleótido equivocado. La actividad de corrección de errores se lleva a cabo si se introduce una base incorrecta, porque esto provoca un mal apareamiento de las bases. La polimerasa lo detecta porque un nucleótido equivocado no forma el patrón de puentes de hidrógeno adecuado con su pareja en la cadena complementaria, y esto ocasiona una ligera distorsión en la doble hélice. Tras la eliminación del nucleótido equivocado, la Pol III tiene una segunda oportunidad para insertar el nucleótido correcto (Figura 7.20).

La actividad exonucleasa de corrección de errores es diferente de la actividad exonucleasa 5′ → 3′ de la Pol I que se utiliza para eliminar el cebador de RNA de las cadenas avanzada y retrasada (Figura 7.15). Sólo la Pol I tiene esta última actividad. La exonucleasa de corrección de errores se da en sistemas de replicación procarióticos, eucarióticos y víricos. No obstante, muchos organismos tienen mecanismos adicionales para reducir los errores realizados durante la replicación del DNA; hablaremos de algunos de ellos en el Capítulo 11.

Terminación de la replicación

Finalmente el proceso de replicación del DNA termina. ¿Cómo sabe el replisoma cuándo parar? En el lado opuesto del cromosoma circular al origen de replicación hay un sitio llamado parada de la replicación; aquí, las dos horquillas de replicación chocan cuando los nuevos círculos de DNA están completos. Los detalles de la terminación no se conocen con exactitud, pero se sabe que en la región de parada hay varias secuencias de DNA llamadas secuencias *Ter* que son reconocidas por una proteína llamada *Tus* cuya función es bloquear el avance de las horquillas de replicación. Cuando la replicación del cromosoma circular está completa (Figura 7.16), las dos moléculas circulares están entrelazadas, como los eslabones de una cadena. La función de separarlas corresponde a otra enzima, la topoisomerasa IV. En el Capítulo 6 vimos que la síntesis de la pared celular y la replicación del DNA están asociadas a la división celular (Sección 6.2). Obviamente, es fundamental que tras la replicación del DNA éste se divida de manera que cada célula hija reciba una copia del cromosoma. Este proceso puede estar asistido por la proteína FtsZ, importante para la división celular, que ayuda a dirigir varias etapas claves de la división celular (Sección 6.2).

7.8 Minirrevisión

La mayoría de los errores en el apareamiento de bases que se producen durante la replicación son corregidos por las funciones de corrección de errores de las DNA-polimerasas. Los nucleótidos incorrectos son eliminados y sustituidos. Finalmente, la replicación del DNA termina cuando la horquilla de replicación encuentra una región de parada especial en el cromosoma.

- ¿Cómo se lleva a cabo la corrección de errores durante la replicación del DNA?
- ¿Qué lleva a las horquillas de replicación a detenerse en la región de parada del cromosoma?

IV LA SÍNTESIS DE RNA: TRANSCRIPCIÓN

El ácido ribonucleico (RNA) cumple toda una serie de funciones importantes en la célula. Hay tres diferencias fundamentales en la química del RNA y del DNA:

1) el RNA contiene el azúcar ribosa en lugar de desoxirribosa; 2) el RNA contiene la base uracilo en lugar de la timina; y 3) excepto en algunos virus, el RNA no es de doble cadena. El cambio de desoxirribosa a ribosa afecta a la química de un ácido nucleico; las enzimas que actúan sobre el DNA normalmente no tienen efecto sobre el RNA, y viceversa. Sin embargo, el cambio de timina a uracilo no afecta al apareamiento de bases, ya que ambas bases se aparean igual de bien con la adenina.

Hay tres clases principales de RNA implicadas en la síntesis proteica; *RNA mensajero (mRNA), RNA de transferencia (tRNA) y RNA ribosómico (rRNA).* Hay otras clases de RNA, implicadas básicamente en tareas de regulación (Capítulo 9). Todas estas moléculas de RNA son producto de la transcripción del DNA. Es importante señalar que el RNA juega su papel a dos niveles, genético y funcional. A nivel genético, el mRNA lleva la información genética del genoma al ribosoma. Por otra parte, el rRNA tiene funciones funcionales y estructurales en los ribosomas, y el tRNA tiene un papel activo en el transporte de los aminoácidos para la síntesis de proteínas. Hay incluso algunos RNA que cumplen funciones catalíticas (los ribozimas, Sección 8.8). En esta Sección vamos a centrarnos en cómo se sintetiza el RNA en las especies bacterianas, utilizando *Escherichia coli* como organismo modelo.

www.medilibros.com

7.9 Aspectos generales de la transcripción

La transcripción de la información genética del DNA al RNA es realizada por la enzima **RNA-polimerasa.** Al igual que la DNA-polimerasa, la RNA-polimerasa cataliza la formación de enlaces fosfodiéster, pero en este caso entre ribonucleótidos en lugar de desoxirribonucleótidos. La RNA-polimerasa necesita un DNA que actúe como molde. Los precursores del RNA son los trifosfatos de ribonucleósido ATP, GTP, UTP y CTP.

El mecanismo de síntesis de RNA es muy similar al de síntesis de DNA (Figura 7.11). Así, durante la elongación de una cadena de RNA se añaden trifosfatos de ribonucleósido al 3′-OH de la ribosa del nucleótido precedente. La polimerización está dirigida por la liberación de energía de los dos enlaces fosfato de alta energía de los trifosfatos de ribonucleósido entrantes. Tanto en la replicación del DNA como en la transcripción del RNA, la dirección global del crecimiento de la cadena es del extremo 5′ al extremo 3′, de manera que la cadena recién sintetizada será antiparalela a la cadena molde. Sin embargo, a diferencia de la DNA-polimerasa, la RNA-polimerasa puede iniciar cadenas nuevas de nucleótidos por su cuenta; por lo tanto, no es necesario el cebador.

RNA-polimerasas

El molde para la RNA-polimerasa es una molécula de DNA de doble cadena, pero sólo una de las dos hebras es transcrita para un gen determinado. No obstante, los genes están presentes en ambas cadenas de DNA y, por lo tanto, se transcriben secuencias de DNA de ambas, aunque en ubicaciones diferentes. Aunque estos principios son ciertos para la transcripción en todos los organismos, existen diferencias significativas entre las RNA-polimerasas de los tres dominios, *Bacteria, Archaea* y *Eukarya*. La siguiente explicación afecta únicamente a la RNA-polimerasa bacteriana, que tiene la estructura más simple y es la más estudiada y por tanto de la que más se sabe (la RNA-polimerasa de las arqueas y los eucariotas se estudia en el Capítulo 8).

La RNA-polimerasa bacteriana tiene cinco subunidades diferentes, designadas por β, β', α, ω (omega) y σ (sigma), con σ presente en dos copias. Las subunidades β y β' son similares, pero no idénticas. Las subunidades interaccionan para formar la enzima activa, llamada holoenzima RNA-polimerasa, pero el factor sigma no está tan fuertemente unido como los otros y se disocia fácilmente, lo que provoca la formación del núcleo de la RNA-polimerasa, $\alpha_2\beta\beta'\omega$. El núcleo de la enzima, por sí solo sintetiza RNA, mientras que el factor sigma reconoce el sitio adecuado en el DNA para el comienzo de la síntesis. La subunidad omega es necesaria para el ensamblaje del núcleo, pero no para la síntesis posterior de RNA. La síntesis de RNA realizada por la RNA-polimerasa y la subunidad sigma está representada en la **Figura 7.21**. **www.microbiologyplace.com Tutorial online 7.2: Transcripción.**

Promotores

La RNA-polimerasa es una proteína grande y entra en contacto con muchas bases del DNA simultáneamente. Las proteínas como la RNA-polimerasa pueden interaccionar específicamente con el DNA porque hay partes de las bases expuestas en el surco mayor (Figura 7.5). Sin embargo, para iniciar la síntesis de RNA correctamente, la RNA-polimerasa debe, primero, reconocer los sitios de iniciación en el DNA. Estos importantes sitios, llamados **promotores,** son reconocidos por el factor sigma (**Figura 7.22**).

Una vez que la RNA-polimerasa se ha unido al promotor, puede empezar la transcripción. En este proceso, la RNA-polimerasa abre la doble hélice de DNA en la zona del promotor para formar una burbuja de transcripción. A medida que la polimerasa se mueve, va desenrollando el DNA en cortos segmentos. Este desenrollamiento transitorio expone la cadena molde y le permite ser copiada en el RNA complementario. Así, se puede considerar que los promotores dirigen a la RNA-polimerasa en un sentido o en el otro a lo largo del DNA. Si una región de DNA tiene dos promotores cercanos apuntando en sentidos opuestos, la transcripción desde uno de ellos procederá en un sentido (sobre una de las cadenas) y la transcripción desde el otro se realizará en el sentido opuesto (sobre la otra cadena).

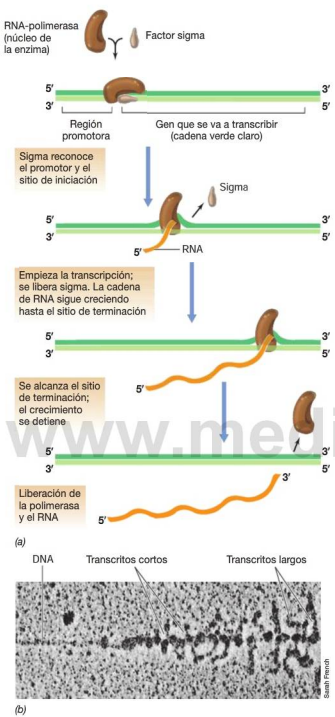


Figura 7.21 Transcripción. *(a)* Etapas de la síntesis del RNA. El sitio de iniciación (promotor) y el sitio de terminación son secuencias nucleotídicas específicas en el DNA. La RNA-polimerasa se desplaza a lo largo de la cadena de DNA, abriendo temporalmente la doble hélice y transcribiendo una de las cadenas de DNA. *(b)* Micrografía electrónica de la transcripción a lo largo de un gen del cromosoma de *Escherichia coli*. La región de transcripción activa es de unos 2 pares de kilobases de DNA. La transcripción procede de izquierda a derecha, y los transcritos cortos de la izquierda se hacen más largos a medida que se realiza la transcripción.

Cuando ya se ha formado un fragmento corto de RNA, el factor sigma se disocia. La elongación de la molécula de RNA se lleva a cabo únicamente por el núcleo de la enzima (Figura 7.21). Sigma sólo interviene en la formación del complejo inicial RNA-polimerasa-DNA en el promotor. A medida que el nuevo RNA se disocia del DNA, la doble hebra abierta vuelve a cerrarse a su estado original. La transcripción se detiene en sitios específicos llamados *terminadores de la transcripción* (Sección 7.11).

A diferencia de lo que ocurre en la replicación del DNA, en la que se copia el genoma completo, la transcripción implica unidades de DNA mucho menores, a menudo de un solo gen. Este sistema permite a la célula transcribir diferentes genes a frecuencias diferentes, en función de las necesidades de la célula respecto a diferentes proteínas. En otras palabras, la expresión génica está regulada. Como veremos en el Capítulo 9, la regulación de la transcripción es un proceso importante y elaborado que hace uso de muchos mecanismos diferentes y es muy eficiente en el control de la expresión génica y la conservación de los recursos de la célula.

7.9 Minirrevisión

Los tres tipos principales de RNA son: RNA mensajero (mRNA), RNA de transferencia (tRNA) y RNA ribosómico (rRNA). La transcripción del RNA a partir del DNA es debida a la enzima RNA-polimerasa, que añade nucleótidos al extremo 3′ de las cadenas crecientes. A diferencia de la DNA-polimerasa, la RNA-polimerasa no necesita cebador y reconoce una secuencia de inicio específica en el DNA llamada promotor.

- ¿En qué dirección (5′ → 3′ o 3′ → 5′) se lleva a cabo la transcripción a lo largo de la cadena molde?
- ¿Qué es un promotor? ¿Qué proteína reconoce al promotor en *Escherichia coli*?

7.10 Factores sigma y secuencias consenso

Como ya hemos dicho, el promotor juega un papel esencial en la transcripción. Los promotores son secuencias de DNA específicas a las que se une la RNA-polimerasa. Se ha determinado un gran número de secuencias promotoras de muchos organismos. En la Figura 7.22 se muestran las secuencias de algunos promotores de *Escherichia coli*.

Todas las secuencias de DNA de la Figura 7.22 son reconocidas por el mismo factor sigma, el factor sigma principal de *E. coli*, llamado σ^{70} (el superíndice 70 indica el tamaño de la proteína, 70 kilodaltons). Si comparamos las secuencias de DNA de los promotores, podemos observar que no son idénticas. No obstante, hay dos secuencias más cortas dentro de la región del promotor que

www.medilibros.com

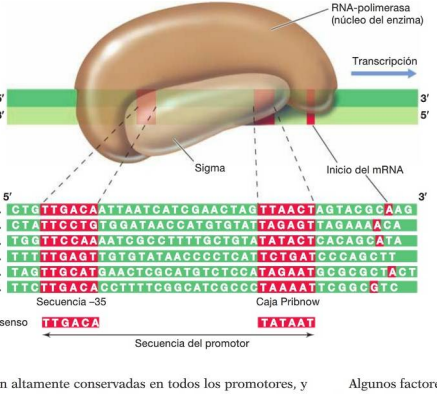


Figura 7.22 Interacción de la RNA-polimerasa con el promotor. Bajo la RNA-polimerasa y el DNA se muestran seis secuencias promotoras diferentes identificadas en *Escherichia coli*, una especie bacteriana. Están señalados los puntos de contacto de la RNA-polimerasa con la secuencia –35 y la caja Pribnow (secuencia –10). La transcripción empieza en una única base justo después de la caja Pribnow. Bajo las secuencias reales de las regiones –35 y –10 están las secuencias consenso derivadas de comparar muchos promotores. Obsérvese que aunque sigma reconoce las secuencias promotoras en la cadena 5′ → 3′ del DNA (verde oscuro), el núcleo de la RNA-polimerasa transcribirá en realidad la cadena verde claro en sentido 3′ → 5′, porque el núcleo de la enzima trabaja sólo en sentido 5′ → 3′.

están altamente conservadas en todos los promotores, y son las secuencias que sigma reconoce. Ambas secuencias preceden (están en la región anterior) al sitio de inicio de la transcripción. Una es una región diez bases antes del inicio de la transcripción, la región –10, llamada *caja Pribnow*. Obsérvese que aunque cada promotor es ligeramente diferente del resto, la mayor parte de las bases coinciden dentro de la región –10. Al comparar las regiones –10 de todos los promotores reconocidos por este factor sigma para determinar qué base se da con más frecuencia en cada posición, se llega a la secuencia consenso: TATAAT. En nuestro ejemplo, cada promotor tiene entre tres y cinco coincidencias con estas bases. La segunda región de secuencia conservada en el promotor se encuentra aproximadamente 35 bases antes del inicio de la transcripción. La secuencia consenso en la región –35 es TTGACA (Figura 7.22). De nuevo, la mayoría de las secuencias no son exactamente iguales que la secuencia consenso, pero se le parecen mucho.

Obsérvese que en la Figura 7.22 la secuencia del promotor se muestra únicamente para una cadena del DNA. Por convenio, la cadena que se muestra es la que está orientada con el extremo 5′ a la izquierda (por lo tanto, no es la cadena que utilizará como molde la RNA-polimerasa). Se da la secuencia de sólo una cadena simplemente para abreviar la escritura de las secuencias de DNA. En realidad, el DNA es de doble cadena, y la RNA-polimerasa se une a él y lo desenrolla. Una cadena sencilla de DNA desenrollado, la cadena transcrita, es utilizada entonces como molde por el núcleo de la RNA-polimerasa. Aunque sigma se une a ambas cadenas de DNA, reconoce las secuencias específicas en las regiones –10 y –35 en la cadena no transcrita, con la que hace la mayoría de los contactos.

Algunos factores sigma de otras bacterias son mucho más específicos respecto a las secuencias de unión que el ejemplo de la Figura 7.22. En esos casos se permite muy poco margen en las bases críticas. En *E. coli*, los promotores que más se parecen a la secuencia consenso suelen unir la RNA-polimerasa de forma más eficaz. Estos promotores eficaces se llaman promotores fuertes y son muy útiles en ingeniería genética, tal y como se explica en el Capítulo 12.

Factores sigma alternativos en *Escherichia coli*

La mayoría de los genes de *E. coli* necesitan el factor sigma estándar, conocido como σ^{70}, para la transcripción y tienen promotores como los de la Figura 7.22. Sin embargo, se conocen algunos factores sigma alternativos que reconocen secuencias consenso diferentes (Tabla 7.3). Cada uno de estos factores sigma alternativos es específico para un grupo de genes necesarios en circunstancias especiales. Así, σ^{38}, también conocido como RpoS, reconoce una secuencia consenso que se encuentra en los promotores de los genes que se expresan durante la fase estacionaria. En consecuencia, es posible controlar la expresión de cada familia de genes regulando la cantidad del factor sigma correspondiente. Esto puede hacerse modificando la velocidad de síntesis o la velocidad de degradación de dicho factor sigma. Además, se puede modular la actividad de los factores sigma alternativos mediante otras proteínas llamadas *factores antisigma*. Estas proteínas pueden inactivar temporalmente un factor sigma concreto en respuesta a señales ambientales.

En total hay siete factores sigma diferentes en *E. coli*, y cada uno de ellos reconoce secuencias consenso dife-

Tabla 7.3 Factores sigma en *Escherichia coli*

Nombre[a]	*Secuencia consenso de reconocimiento*[b]	*Función*
σ^{70} RpoD	TTGACA	Para la mayoría de los genes, factor sigma principal durante el crecimiento normal
σ^{54} RpoN	TTGGCACA	Asimilación de nitrógeno
σ^{38} RpoS	CCGGCG	Factor sigma principal durante la fase estacionaria, también para genes implicados en las respuestas oxidativa y osmótica
σ^{32} RpoH	TNTCNCCTTGAA[c]	Respuesta al choque térmico
σ^{28} FliA	TAAA	Para genes implicados en la síntesis de los flagelos
σ^{24} RpoE	GAACTT	Respuesta a las proteínas mal plegadas en el periplasma
σ^{19} FecI	AAGGAAAAT	Para determinados genes del transporte de hierro

[a] El superíndice en el nombre indica el tamaño de la proteína en kilodaltons. Muchos factores sigma tienen otros nombres, por ejemplo σ^{70} también se llama σ^{D}.
[b] Para una explicación de las secuencias consenso, véanse las Secciones 7.10 y 7.11 y la Figura 7.30.
[c] N = cualquier nucleótido.

rentes (**Tabla 7.3**). En principio se nombraron los factores sigma atendiendo a su peso molecular; más recientemente se les ha dado nombre en función del papel que realizan. Por ejemplo, RpoN viene de «RNA-polimerasa-nitrógeno». La mayoría de estos factores sigma tienen su correspondiente en otras bacterias. La bacteria formadora de endosporas *Bacillus subtilis* tiene 14 factores sigma, cuatro de ellos dedicados a la transcripción de genes específicos para las endosporas (Sección 4.12).

7.10 Minirrevisión

En las bacterias, los promotores son reconocidos por la subunidad sigma de la RNA-polimerasa. Las regiones de DNA reconocidas por una proteína de unión al DNA específica tienen secuencias muy similares. Los factores sigma alternativos permiten la regulación conjunta de grandes familias de genes en respuesta a las condiciones de crecimiento.

- ¿Qué es una secuencia consenso?
- ¿A qué partes de la región promotora se une sigma?
- ¿Cuántas familias de genes necesarios en condiciones especializadas son controlados de manera conjunta utilizando factores sigma?

7.11 Terminación de la transcripción

Sólo aquellos genes que necesitan ser expresados deberían transcribirse. Por lo tanto, es importante terminar la transcripción en el lugar correcto. La **terminación** de la síntesis de RNA está dirigida por secuencias de bases específicas en el DNA. En las bacterias, una señal de terminación habitual en el DNA es una secuencia rica en GC que contiene una repetición invertida con un segmento central no repetido (en la Sección 7.2 y en la Figura 7.6 encontrará una explicación de las repeticiones invertidas). Cuando se transcribe una secuencia de DNA con estas características, el RNA forma una estructura tallo-bucle por apareamiento intracatenario de sus bases (**Figura 7.23**). Dichas estructuras tallo-bucle, seguidas de una serie de adeninas en la cadena molde, y por tanto una serie de uracilos en el mRNA, son terminadores eficaces de la transcripción. Esto es debido a la formación de un cuello de pares de bases U:A que mantiene el RNA y el DNA molde unidos. Esta estructura es muy débil porque los pares de bases U:A sólo tienen dos puentes de hidrógeno cada uno. La RNA-polimerasa se detiene en la estructura tallo-bucle y el DNA y el RNA se separan en la región de uracilos. Esto termina la trascripción. Los patrones de secuencia que terminan la transcripción sin adición de ningún factor adicional reciben el nombre de terminadores intrínsecos.

www.medilibros.com

Terminación dependiente de Rho

El otro mecanismo para la terminación de la transcripción utiliza un factor proteico específico, conocido en *Escherichia coli* como Rho. Rho no se une a la RNA-polimerasa ni al DNA, sino que se enlaza con fuerza al RNA y se desplaza a lo largo de la cadena hacia el complejo RNA-polimerasa-DNA. Una vez que la RNA-polimerasa se detiene en el sitio

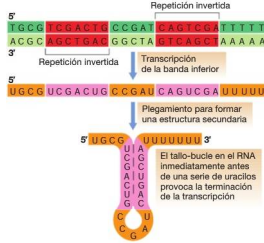


Figura 7.23 Repeticiones invertidas y terminación de la transcripción. Las repeticiones invertidas en el DNA transcrito forman una estructura tallo-bucle que termina la transcripción cuando va seguida por una serie de uracilos.

de terminación Rho-dependiente (una secuencia específica en el DNA-molde), Rho provoca la liberación del RNA y de la RNA-polimerasa del DNA, lo que causa la terminación de la transcripción. Si bien las secuencias de terminación funcionan a nivel del RNA, cabe recordar que el RNA se transcribe a partir del DNA; en consecuencia, la terminación de la transcripción está determinada en última instancia por secuencias nucleotídicas específicas en el DNA.

7.11 Minirrevisión

La RNA-polimerasa detiene la transcripción en sitios específicos llamados terminadores de la transcripción. Aunque codificados por el DNA, estos terminadores funcionan a nivel del RNA. Algunos de ellos son terminadores intrínsecos y no precisan de proteínas accesorias más allá de la propia RNA-polimerasa. En las bacterias, estas secuencias son normalmente estructuras tallo-bucle seguidas de una región de uracilos. Otros terminadores necesitan proteínas como Rho.

- ¿Qué es un terminador intrínseco?
- ¿Qué es una estructura tallo-bucle?

7.12 La unidad de transcripción

Los cromosomas están organizados en unidades enlazadas por sitios de inicio y de terminación de la transcripción del DNA a RNA: unidades de transcripción. Se podría suponer que cada unidad de transcripción incluye solamente un gen. Si bien esto es cierto en algunos casos, no es siempre así. Algunas unidades de transcripción contienen dos o más genes. De estos genes se dice que se cotranscriben para generar una sola molécula de RNA.

RNA ribosómicos y de transferencia y longevidad del RNA

Como ya vimos en la Sección 7.1, la mayoría de genes codifican proteínas, pero otros codifican RNA que no se traducen, tales como los RNA ribosómicos (rRNA) y los RNA de transferencia (tRNA). Existen varios tipos de rRNA en un organismo (y un ribosoma tiene una copia de cada tipo; Sección 7.13). Los procariotas tienen tres tipos: rRNA 16S, rRNA 23S y rRNA 5S (ya se habló de la importancia del rRNA 16S en los estudios evolutivos de los procariotas en el Capítulo 2). Como se muestra en la **Figura 7.24**, existen agrupaciones que contienen un gen para cada uno de estos rRNA, y dichas agrupaciones de genes se cotranscriben. La situación es semejante en los eucariotas. Así pues, en todos los organismos la unidad de transcripción para la mayoría de los rRNA es mayor que un solo gen. En los procariotas, los genes de tRNA suelen cotranscribirse entre ellos o, incluso, como se muestra en la Figura 7.24, con genes de rRNA. Sin embargo, estos cotranscritos deben procesarse posteriormente (cortarse en unidades individuales) para generar rRNA o tRNA maduros (funcionales) (Figura 7.24). El procesamiento de RNA es raro en procariotas, pero habitual en eucariotas como veremos más adelante (Capítulo 8).

En procariotas, la mayoría de RNA mensajeros tienen un período de vida corto (del orden de minutos), tras el cual son degradados por ribonucleasas celulares. Esto contrasta con los rRNA y los tRNA, que son RNA estables. La estabilidad se da porque tanto los rRNA como los tRNA tienen estructuras altamente plegadas que evitan que las ribonucleasas los degraden. Por el contrario, el mRNA normal no forma estructuras de este tipo y es susceptible de ataque por parte de las ribonucleasas. El rápido recambio de los mRNA procariotas es, probablemente, un mecanismo que permite a la célula adaptarse rápidamente a nuevas condiciones ambientales y detener la traducción de mensajes cuyos productos ya no son necesarios.

Los mRNA policistrónicos y los operones

En los procariotas, los genes que codifican enzimas relacionadas suelen estar agrupados (Figura 7.2). La RNA-polimerasa transcribe todo el grupo de genes y genera una sola molécula larga de mRNA. Un mRNA que codifica un grupo de genes cotranscritos recibe el nombre de *mRNA policistrónico*. Al traducirse, se sintetizan varios polipéptidos, uno detrás del otro, en el mismo ribosoma.

Un grupo de genes relacionados entre sí y que se transcriben a la vez para generar un solo mRNA policis-

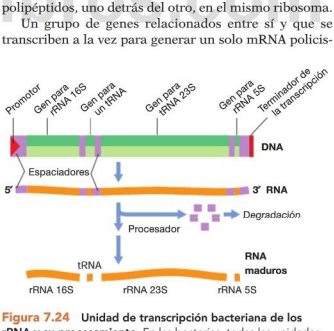


Figura 7.24 Unidad de transcripción bacteriana de los rRNA y su procesamiento. En las bacterias, todas las unidades de transcripción de los rRNA tienen sus genes dispuestos en el orden rRNA 16S, rRNA 23S y rRNA 5S (se muestran aproximadamente a escala). Obsérvese que en esta unidad de transcripción en concreto, el «espaciador» entre los genes para los rRNA 16S y 23S contiene un gen tRNA. En otras unidades de transcripción, esta región puede contener más de un gen tRNA. Con frecuencia también siguen uno o más genes tRNA al gen rRNA 5S, y son cotranscritos. *Escherichia coli* contiene varias unidades de transcripción de rRNA.

www.medilib

trónico se conoce con el nombre de **operón.** El ensamblaje en un operón de aquellos genes que pertenecen a la misma ruta bioquímica o que son necesarios en las mismas condiciones ambientales permite regular su expresión de forma coordinada. A pesar de ello, los eucariotas no tienen operones ni mRNA policistrónico (Capítulo 8). A menudo, la transcripción de un operón está controlada por una región del DNA específica que se encuentra justo antes de la región codificadora del operón. Hablaremos de ello con más detalle en el Capítulo 9.

7.12 Minirrevisión

La unidad de transcripción en procariotas a menudo contiene más de un solo gen. De este modo, varios genes son transcritos en una sola molécula de mRNA que contiene así información para más de un polipéptido. Una agrupación de genes que se transcriben juntos a partir de un solo promotor constituye un operón. En todos los organismos, los genes que codifican los rRNA se cotranscriben y después se procesan para generar los distintos rRNA finales.

- ¿Qué es el RNA mensajero (mRNA)?
- ¿Qué es un mRNA policistrónico?
- ¿Qué son los operones y por qué resultan útiles a los procariotas?

V LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

En los dos primeros pasos de la transferencia de la información biológica, la replicación y la transcripción, los ácidos nucleicos son sintetizados a partir de moldes que son, a su vez, ácidos nucleicos. En la última etapa, la **traducción,** se produce síntesis a partir de un molde de ácido nucleico, pero en este caso el producto final es una proteína en lugar de un *ácido nucleico.*

7.13 El código genético

Antes de describir el mecanismo de traducción, es necesario explicar el fundamento de la transferencia de la información biológica: la correspondencia entre el molde de ácido nucleico y la secuencia de aminoácidos del producto polipeptídico. A esto se le llama **código genético.** Como ya dijimos en el Capítulo 7.1, un triplete de tres bases llamado *codón* codifica un aminoácido específico. El código genético se escribe en el mRNA más que en el DNA porque es el mRNA el que se traduce. Los 64 codones posibles (cuatro bases tomadas de tres en tres, 4^3) de mRNA se muestran en la **Tabla 7.4**. Obsérvese que además de los codones que especifican los diversos aminoácidos, también hay codones específicos para el inicio y el final de la traducción.

www.medilibros.com

Tabla 7.4 El código genético expresado en forma de tripletes de bases de mRNA

Codón	*Aminoácido*	*Codón*	*Aminoácido*	*Codón*	*Aminoácido*	*Codón*	*Aminoácido*
UUU	Fenilalanina	UCU	Serina	UAU	Tirosina	UGU	Cisteína
UUC	Fenilalanina	UCC	Serina	UAC	Tirosina	UGC	Cisteína
UUA	Leucina	UCA	Serina	UAA	Nada (señal de parada)	UGA	Nada (señal de parada)
UUG	Leucina	UCG	Serina	UAG	Nada (señal de parada)	UGG	Triptófano
CUU	Leucina	CCU	Prolina	CAU	Histidina	CGU	Arginina
CUC	Leucina	CCC	Prolina	CAC	Histidina	CGC	Arginina
CUA	Leucina	CCA	Prolina	CAA	Glutamina	CGA	Arginina
CUG	Leucina	CCG	Prolina	CAG	Glutamina	CGG	Arginina
AUU	Isoleucina	ACU	Treonina	AAU	Asparagina	AGU	Serina
AUC	Isoleucina	ACC	Treonina	AAC	Asparagina	AGC	Serina
AUA	Isoleucina	ACA	Treonina	AAA	Lisina	AGA	Arginina
AUG (inicio)*	Metionina	ACG	Treonina	AAG	Lisina	AGG	Arginina
GUU	Valina	GCU	Alanina	GAU	Ácido aspártico	GGU	Glicina
GUC	Valina	GCC	Alanina	GAC	Ácido aspártico	GGC	Glicina
GUA	Valina	GCA	Alanina	GAA	Ácido glutámico	GGA	Glicina
GUG	Valina	GCG	Alanina	GAG	Ácido glutámico	GGG	Glicina

*AUG codifica *N*-formilmetionina al principio de las cadenas polipeptídicas en bacterias.

Propiedades del código genético

Una de las características más interesantes del código genético es que muchos aminoácidos están codificados por más de un codón cada uno. En estos casos no existe una correspondencia uno-a-uno entre el aminoácido y el codón. En consecuencia, saber el aminoácido situado en un lugar determinado no significa conocer automáticamente el codón correspondiente. Un código en el que no hay correspondencia unívoca entre palabra y código se llama *código degenerado*. No obstante, a la inversa funciona: si conocemos la secuencia de DNA y la pauta de lectura correcta, podemos saber con exactitud la secuencia de aminoácidos de la proteína. Esto permite la determinación de las secuencias de aminoácidos a partir de las secuencias de bases del DNA, y constituye la base de la genómica (Capítulo 13). Curiosamente, en la mayoría de los casos en los que varios codones codifican el mismo aminoácido, dichos codones están estrechamente relacionados en la secuencia de RNA (Tabla 7.4).

Un codón es reconocido por el apareamiento específico de sus bases con una secuencia complementaria de tres bases llamada **anticodón,** una secuencia que se encuentra en los tRNA. Si se tratara siempre del apareamiento estándar de A con U y G con C, existiría al menos un tRNA para cada codón. En algunos casos, esto es cierto. Por ejemplo, hay seis tRNA diferentes en *Escherichia coli* que transportan el aminoácido leucina, uno por cada codón (Tabla 7.4). Por otra parte, algunos tRNA pueden reconocer más de un codón. Por ejemplo, aunque hay dos codones de lisina en *E. coli*, existe sólo un lisil-tRNA cuyo anticodón puede aparearse tanto con AAA como con AAG (*véase* la Tabla 7.4). En estos casos especiales, las moléculas de tRNA forman pares de bases estándar solamente en las dos primeras posiciones del codón, y toleran el apareamiento irregular en la tercera posición. Este fenómeno se denomina **balanceo** y se ilustra en la **Figura 7.25**, donde se puede ver el apareamiento entre G y U (en lugar de entre G y C), permitido en la posición de balanceo.

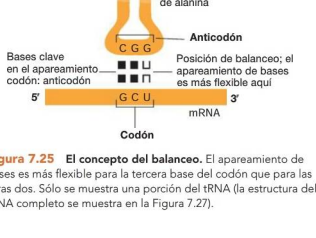


Figura 7.25 El concepto del balanceo. El apareamiento de bases es más flexible para la tercera base del codón que para las otras dos. Sólo se muestra una porción del tRNA (la estructura del tRNA completo se muestra en la Figura 7.27).

Codones de parada y de inicio

Unos pocos codones no codifican ningún aminoácido (Tabla 7.4). Éstos (UAA, UAG y UGA) se conocen como **codones de parada,** e indican el final de la traducción de una secuencia que codifica una proteína en el mRNA (Sección 7.15). Los codones de parada se llaman también **codones sin sentido,** porque interrumpen el «sentido» del polipéptido en crecimiento cuando terminan la traducción.

El RNA mensajero se traduce empezando por el **codón de inicio (AUG),** que codifica una metionina químicamente modificada, la *N*-formilmetionina. Aunque AUG al principio de una región codificadora designa *N*-formilmetionina, en el interior de la región codificadora codifica metionina. Hay dos tRNA diferentes implicados en el proceso (*véase* a continuación). Con un código basado en tripletes, resulta fundamental para la traducción empezar en el nucleótido correcto. Si no, toda la pauta de lectura del mRNA se desplaza y se sintetiza una proteína completamente diferente. Si el desplazamiento introduce un codón de parada en la pauta de lectura, la proteína terminará prematuramente. Por convenio, la pauta de lectura que se traduce para sintetizar la proteína codificada por el gen recibe el nombre de pauta 0. Como se puede ver en la **Figura 7.26**, las otras dos pautas de lectura posibles (-1 y +1) no codifican la misma secuencia de aminoácidos. Así pues, es fundamental que el ribosoma encuentre el codón de inicio adecuado para empezar la traducción y, una vez que lo tiene, que se mueva a lo largo del mRNA exactamente tres bases cada vez. ¿Cómo se asegura la pauta de lectura correcta?

La fidelidad de la pauta de lectura depende de las interacciones entre el mRNA y el rRNA en el ribosoma. El RNA ribosómico reconoce un AUG específico en el

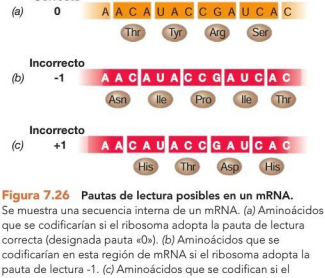


Figura 7.26 Pautas de lectura posibles en un mRNA. Se muestra una secuencia interna de un mRNA. *(a)* Aminoácidos que se codificarían si el ribosoma adopta la pauta de lectura correcta (designada pauta «0»). *(b)* Aminoácidos que se codificarían en esta región de mRNA si el ribosoma adopta la pauta de lectura -1. *(c)* Aminoácidos que se codifican si el ribosoma adopta la pauta +1.

mRNA como codón de inicio con la ayuda de una secuencia situada antes en el mRNA llamada *secuencia de Shine-Dalgarno* (Sección 7.15). Esta exigencia de alineación explica por qué algunos mensajes ocasionales de las bacterias pueden utilizar otros codones de inicio, como GUG. No obstante, incluso esos codones de inicio inusuales dirigen la incorporación de *N*-formilmetionina como aminoácido iniciador.

Pautas de lectura abierta

Se ha secuenciado el genoma de muchos organismos (Capítulo 13). Pero todas esas montañas de datos de secuencias serían inútiles si los científicos no fueran capaces de determinar la ubicación de los genes codificadores de proteínas. Un método habitual para identificar genes codificadores de proteínas es examinar cada hebra de la secuencia del DNA en busca de **pautas de lectura abierta** (**ORF** del inglés *open reading frames*). Puesto que el mRNA se transcribe a partir del DNA, si conocemos la secuencia del DNA sabremos también la secuencia del RNA transcrito a partir de él. Si un RNA se puede traducir es porque tiene una pauta de lectura abierta: un codón de inicio (típicamente AUG) seguido por una serie de codones y después un codón de parada en la misma pauta de lectura que el codón de inicio. En la práctica sólo las ORF lo bastante largas para codificar una proteína de longitud realista se aceptan como verdaderas secuencias codificadoras. Si bien la mayoría de proteínas funcionales tienen al menos 100 aminoácidos de longitud, algunas hormonas proteicas y péptidos reguladores son mucho más cortos. Por lo tanto, no siempre es posible, a partir solamente de los datos de la secuencia, predecir si una ORF relativamente corta es producto de la casualidad o codifica una proteína corta pero genuina.

Usando las directrices anteriores se puede programar un ordenador para analizar largas secuencias de bases de DNA en busca de pautas de lectura abierta. Además de buscar codones de inicio y de parada, la búsqueda puede incluir promotores y secuencias de Shine-Dalgarno. La búsqueda de ORF es muy importante en genómica (Capítulo 13). Si se aísla y se secuencia un fragmento desconocido de DNA, la presencia de una pauta de lectura abierta indica que puede codificar una proteína.

Preferencia codónica

Varios aminoácidos están codificados por múltiples codones cada uno. Se podría suponer que estos múltiples codones se utilizaran con frecuencias iguales. Sin embargo, no es así, y los datos de las secuencias muestran que existe una **preferencia codónica.** En otras palabras, algunos codones son ampliamente preferidos sobre los otros aunque codifiquen el mismo aminoácido. Además, esta preferencia codónica es específica de cada organismo. En *E. coli*, por ejemplo, sólo uno de cada veinte residuos de isoleucina en las proteínas es codificado por el codón para la isoleucina AUA, y los otros diecinueve son codificados por los otros codones para la isoleucina, AUU y AUC (Tabla 7.4). La preferencia codónica está relacionada con una preferencia equivalente en la concentración de diferentes moléculas de tRNA. Así, un tRNA que corresponda a un codón de uso poco habitual será relativamente escaso.

El origen de la preferencia codónica no está claro, pero se reconoce fácilmente y se puede tener en cuenta para usos prácticos de obtención de información de secuencias génicas. Por ejemplo, un gen de un organismo cuyo uso de los codones difiere drásticamente del de otro puede no traducirse bien si el gen es clonado en el último mediante ingeniería genética (Capítulo 12), y ello es debido a la disminución de los tRNA para codones que son raros en el hospedador pero frecuentes en el gen clonado. No obstante, este problema se puede corregir o al menos compensarse mediante manipulación genética.

Modificaciones del código genético

Todas las células parecen usar el mismo código genético. Sin embargo, esta visión se ha modificado un poco por el descubrimiento de que algunos orgánulos y ciertas células utilizan códigos genéticos con ligeras variaciones respecto del código genético «universal».

Los códigos genéticos alternativos se descubrieron por vez primera en el genoma de las mitocondrias animales. Estos códigos modificados usan normalmente codones sin sentido como codones codificadores. Por ejemplo, las mitocondrias animales (pero no las vegetales) utilizan el codón UGA para codificar triptófano en lugar de usarlo como codón de parada (Tabla 7.4). Se conocen algunos organismos que también usan otros códigos ligeramente diferentes. Así, por ejemplo, en el género *Micoplasma (Bacteria)* y en el género *Paramecium (Eukarya)*, algunos codones sin sentido codifican aminoácidos. Estos organismos simplemente tienen menos codones sin sentido porque uno o dos de ellos son utilizados como codones codificadores. En algunos casos raros, los codones sin sentido codifican aminoácidos inusuales diferentes de los veinte más comunes (*véase* más abajo).

7.13 Minirrevisión

El código genético se expresa como RNA, y un solo aminoácido puede ser codificado por varios codones diferentes pero relacionados. Además de los codones sin sentido también hay un codón de inicio específico que indica dónde debe empezar el proceso de traducción.

- ¿Por qué es importante que el ribosoma lea «según la pauta»?
- Describa una pauta de lectura abierta. ¿Cómo encontraría una ORF en una secuencia nucleotídica dada?

7.14 RNA de transferencia

Recordemos de la Sección 7.13 que es el fragmento del anticodón del tRNA el que se aparea con el codón. Sin embargo, un tRNA es mucho más que un simple anticodón (**Figura 7.27**). Un tRNA es específico tanto para el codón como para su aminoácido correspondiente (es decir, el aminoácido que se corresponde con el anticodón del tRNA). El tRNA y su aminoácido específico son puestos en contacto por enzimas específicas que aseguran que un tRNA concreto reciba el aminoácido correcto. Estas enzimas, llamadas **aminoacil-tRNA-sintetasas** tienen la importante función de reconocer tanto el aminoácido cognado como el tRNA específico para él.

Estructura general del tRNA

Existen alrededor de 60 tRNA diferentes en las células bacterianas, y entre 100 y 110 en las células de los mamíferos. Las moléculas de RNA de transferencia son cortas, de cadena sencilla, poseen una estructura secundaria exclusiva y tienen entre 73 y 93 nucleótidos de longitud. Algunas bases y estructuras secundarias son constantes para todos los tRNA, mientras que otras partes son variables. Las moléculas de RNA de transferencia contienen también algunas bases púricas y pirimidínicas que son ligeramente diferentes de las bases normales que se encuentran en el RNA, porque han sido modificadas químicamente. Estas modificaciones se llevan a cabo sobre las bases después de la transcripción. Algunas de estas bases inusuales son pseudouridina, inosina, dihidrouridina, ribotimidina, metilguanosina, dimetilguanosina y metilinosina. La molécula final de tRNA maduro no sólo contiene bases inusuales, sino también largas regiones de doble cadena en su interior. Esta estructura secundaria se forma por apareamiento interno de sus bases cuando la molécula de cadena sencilla se pliega sobre sí misma (Figura 7.27).

La estructura del tRNA se puede dibujar en forma de hoja de trébol, como en la Figura 7.27*a*. Algunas regiones de la estructura secundaria del tRNA se nombran en función de sus bases más habituales (los bucles TΨC y D) o según sus funciones específicas (brazo anticodón y brazo aceptor). La estructura tridimensional del tRNA se muestra en la Figura 7.27*b*. Obsérvese que las bases que en el modelo en hoja de trébol aparecen separadas, están en realidad juntas cuando se observa la Figura en tres dimensiones. Esto permite que algunas de las bases de los bucles se apareen con bases de otros bucles.

El anticodón y el sitio de unión al aminoácido

Una de las partes variables fundamentales de la molécula de tRNA es el anticodón, el grupo de tres bases que reconoce el codón en el mRNA. El anticodón se encuentra en el bucle anticodón (Figura 7.27). Los tres nucleótidos del anticodón reconocen el codón apareándose específicamente con sus tres bases (Sección 7.13 y Figura 7.25). Por otra parte, otras porciones del tRNA interaccionan con el rRNA y los componentes proteicos del ribosoma, con proteínas de traducción no ribosómicas y con la enzima aminoacil-sintetasa.

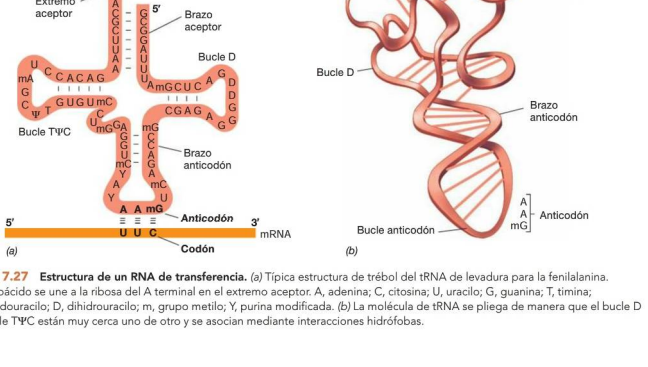


Figura 7.27 Estructura de un RNA de transferencia. *(a)* Típica estructura de trébol del tRNA de levadura para la fenilalanina. El aminoácido se une a la ribosa del A terminal en el extremo aceptor. A, adenina; C, citosina; U, uracilo; G, guanina; T, timina; **Ψ**, pseudouracilo; D, dihidrouracilo; m, grupo metilo; Y, purina modificada. *(b)* La molécula de tRNA se pliega de manera que el bucle D y el bucle TΨC están muy cerca uno de otro y se asocian mediante interacciones hidrófobas.

En el extremo 3', o brazo aceptor, todos los tRNA tienen tres nucleótidos desapareados. La secuencia de estos tres nucleótidos es siempre citosina-citosina-adenina (CCA), y son absolutamente esenciales para la función del tRNA. Curiosamente, en la mayoría de los organismos estos tres nucleótidos no son codificados por los genes de tRNA en el cromosoma. En lugar de eso, son añadidos, uno tras otro, por una enzima llamada nucleotidil-transferasa terminal, utilizando CTP y ATP como sustratos. El aminoácido correspondiente se une covalentemente a la adenosina terminal del extremo CCA mediante un enlace éster al azúcar ribosa. Como veremos más adelante, a partir de esta ubicación en el tRNA, el aminoácido es incorporado a la cadena polipeptídica creciente en el ribosoma por un mecanismo que se describe en la siguiente Sección.

Reconocimiento, activación y carga de los tRNA

El reconocimiento del tRNA correcto por parte de una aminoacil-tRNA-sintetasa implica contactos específicos entre regiones clave del tRNA y la sintetasa (**Figura 7.28**). Como cabe esperar de su secuencia única, el anticodón del tRNA juega un papel importante en el reconocimiento por parte de la sintetasa. No obstante, hay otros sitios de contacto importantes entre el tRNA y la sintetasa. Se han hecho estudios de unión entre tRNA y aminoacil-tRNA-sintetasas en los que se han cambiado por mutación bases específicas en el tRNA, y se ha observado que sólo un pequeño número de nucleótidos fundamentales del tRNA, además de la región del anticodón, están implicados en el reconocimiento. Estos otros nucleótidos clave para el reconocimiento forman parte, a menudo, del brazo aceptor o del bucle D de la molécula de tRNA (Figura 7.27). Se debe enfatizar el hecho de que la fidelidad de este reconocimiento es crucial, ya que si se une el aminoácido equivocado al tRNA, se insertará en el polipéptido en crecimiento, y conducirá, probablemente, a la síntesis de una proteína defectuosa.

La reacción específica entre un aminoácido y un tRNA catalizada por la aminoacil-tRNA-sintetasa empieza con la activación del aminoácido por reacción con ATP:

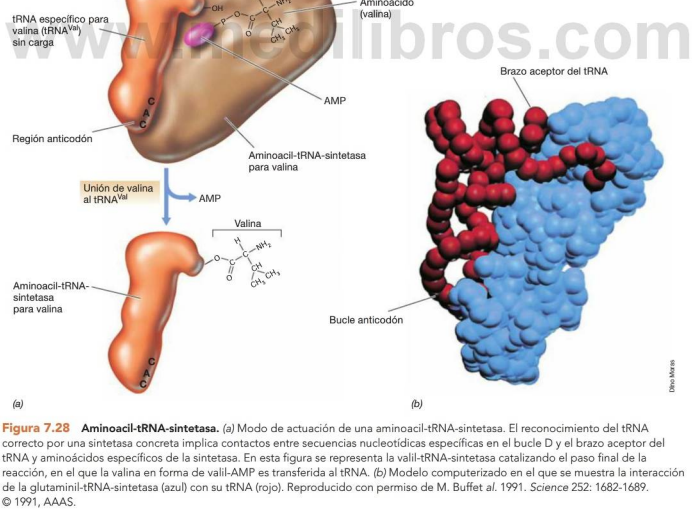


Figura 7.28 **Aminoacil-tRNA-sintetasa.** *(a)* Modo de actuación de una aminoacil-tRNA-sintetasa. El reconocimiento del tRNA correcto por una sintetasa concreta implica contactos entre secuencias nucleotídicas específicas en el bucle D y el brazo aceptor del tRNA y aminoácidos específicos de la sintetasa. En esta figura se representa la valil-tRNA-sintetasa catalizando el paso final de la reacción, en el que la valina en forma de valil-AMP es transferida al tRNA. *(b)* Modelo computerizado en el que se muestra la interacción de la glutaminil-tRNA-sintetasa (azul) con su tRNA (rojo). Reproducido con permiso de M. Buffet *al.* 1991. *Science* 252: 1682-1689. © 1991, AAAS.

www.edilibros.com

$$\text{Aminoácido} + \text{ATP} \longleftrightarrow \text{aminoacil—AMP} + \text{P—P}$$

Normalmente, el intermedio aminoacil-AMP formado permanece unido a la enzima hasta que se produce el choque con la molécula de tRNA adecuada. Entonces, como se muestra en la Figura 7.28*a*, el aminoácido activado se une al tRNA para formar un tRNA cargado:

$$\text{Aminoacil—AMP} + \text{tRNA} \longleftrightarrow \text{aminoacil—tRNA} + \text{AMP}$$

El pirofosfato (pp_i) formado en la primera reacción es escindido por una pirofosfatasa y da lugar a dos moléculas de fosfato inorgánico. Como se utiliza un ATP y se forma un AMP, se necesitan un total de dos enlaces fosfato de alta energía para cargar un tRNA con su aminoácido correspondiente. Tras la activación y la carga, el aminoacil-tRNA abandona la sintetasa y viaja hasta el ribosoma donde se sintetiza el polipéptido.

7.14 Minirrevisión

Existe uno o más tRNA para cada aminoácido incorporado en las proteínas por el ribosoma. Las aminoacil-tRNA-sintetasas son enzimas que unen aminoácidos a sus tRNA correspondientes. Una vez que se une el aminoácido correcto a su tRNA, la especificidad reside principalmente en la interacción codón-anticodón.

- ¿Cuál es la función del anticodón en el tRNA?
- ¿Cuál es la función del brazo aceptor en el tRNA?

7.15 Traducción: el proceso de la síntesis de proteínas

En el Capítulo 3 vimos que es la secuencia aminoacídica la que determina la estructura, y por tanto la función, de una proteína. Así pues, es vital para un funcionamiento adecuado de las proteínas que los aminoácidos se inserten en el sitio correcto en la cadena polipeptídica. Esta es la función que realiza la maquinaria de síntesis de proteínas, el ribosoma.

Ribosomas

Los **ribosomas** son los lugares de síntesis de proteínas. Una célula puede tener muchos miles de ribosomas, y la cantidad está directamente relacionada con la tasa de crecimiento. Cada ribosoma está formado por dos subunidades (**Figura 7.29a**). Los procariotas poseen subunidades ribosómicas 30S y 50S, que al unirse dan lugar a ribosomas 70S. Los valores S son unidades Svedberg, y se refieren a los coeficientes de sedimentación de las subunidades ribosómicas (30S y 50S) o de los ribosomas intactos (70S) cuando se someten a una fuerza centrífuga en una ultracentrífuga. (Si bien las partículas más grandes tienen valores de S más grandes, la relación no es lineal y los valores no se pueden sumar.)

Cada subunidad ribosómica es un complejo ribonucleoproteico formado por RNA ribosómicos específicos y proteínas ribosómicas. La subunidad 30S contiene rRNA 16S y 21 proteínas, y la subunidad 50S contiene rRNA 5S y 23S y 31 proteínas. Así, en *Escherichia coli* hay 52 proteínas ribosómicas diferentes, la mayoría presentes en una sola copia por ribosoma. El ribosoma es una estructura dinámica cuyas subunidades se asocian y disocian alternadamente y también interaccionan con muchas otras proteínas. Hay varias proteínas esenciales para el funcionamiento del ribosoma, que interaccionan con éste en distintas etapas de la traducción (*véase* a continuación), pero no se consideran «proteínas ribosómicas» de por sí.

Etapas en la síntesis de proteínas

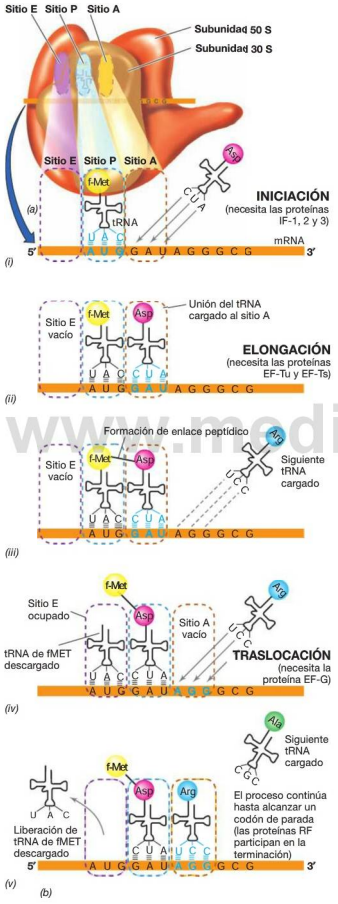
Las proteínas se sintetizan en un ciclo en el que los distintos componentes ribosómicos juegan papeles específicos. Aunque la síntesis proteica es un proceso continuo, se puede dividir en etapas: iniciación, elongación y terminación. Además del mRNA, el tRNA y los ribosomas, el proceso requiere de una serie de proteínas llamadas factores de iniciación, factores de elongación y factores de terminación. El compuesto de alta energía trifosfato de guanosina (GTP) proporciona la energía necesaria para el proceso. Las etapas fundamentales de la síntesis proteica se muestran en la Figura 7.29*b*.

Inicio de la traducción

En las bacterias, como por ejemplo en E. coli, el inicio de la síntesis de proteínas siempre tiene lugar en una subunidad ribosómica 30S libre. A partir de aquí se forma un complejo de iniciación que consiste en la subunidad 30S más el mRNA, el tRNA de la formilmetionina y algunas proteínas de iniciación llamadas IF1, IF2 e IF3. También se necesita GTP en esta etapa. A continuación, se añade una subunidad 50S al complejo de iniciación para formar el ribosoma activo 70S. Al final de proceso de traducción, el ribosoma se separa de nuevo en las subunidades 30S y 50S.

Justo antes del codón de inicio en el mRNA hay una secuencia de entre tres y nueve nucleótidos llamada *secuencia de Shine-Dalgarno* o *sitio de unión al ribosoma* que ayuda a unir el mRNA al ribosoma. El sitio de unión al ribosoma se encuentra en el extremo 5′ del mRNA y es complementario en su secuencia de bases a las secuencias del extremo 3′ de los rRNA 16S. El apareamiento entre estas dos moléculas mantiene el complejo entre el ribosoma y el mRNA unido de manera segura en la pauta de lectura correcta. La presencia de la secuencia de Shine-Dalgarno en el mRNA y su interacción específica con el rRNA 16S permite a los ribosomas bacterianos traducir el mRNA policistrónico porque el ribosoma puede encontrar cada sitio de iniciación de un mensaje uniéndose a su secuencia de Shine-Dalgarno (Sección 7.13).

www.medilibros.com



El inicio de la traducción siempre se produce con la unión de un aminoacil-tRNA iniciador especial al codón de inicio, AUG. En las bacterias, es siempre el formilmetionil-tRNA. Cuando el polipéptido está terminado, el grupo formilo se elimina. En consecuencia, el aminoácido N-terminal de la proteína completa será metionina. Sin embargo, en muchas proteínas esta metionina es eliminada por una proteasa específica. Como las secuencias de Shine-Dalgarno (y otras posibles interacciones entre el rRNA y el mRNA) dirigen al ribosoma hacia el sitio de inicio correcto, los mRNA procarióticos pueden usar un codón de inicio diferente de AUG. El codón de inicio alternativo más habitual es GUG. Cuando se utiliza en este contexto, el GUG une el tRNA iniciador para la formilmetionina (y no la valina, *véase* la Tabla 7.3).

Elongación, traslocación y terminación

El mRNA se desliza por el ribosoma principalmente unido a la subunidad 30S. El ribosoma contiene otros sitios con los que interaccionan los tRNA. Dos de estos sitios están localizados principalmente en la subunidad 50S, y reciben el nombre de *sitio A* y *sitio P* (Figura 7.29*b*). El sitio A, el sitio aceptor, es el lugar del ribosoma al que se une en primer lugar el nuevo tRNA cargado. El viaje y la unión de un tRNA al sitio A son facilitados por uno de toda una serie de factores de elongación (EF) proteicos llamado EF-Tu.

El sitio P, el sitio del péptido, es el lugar en que un tRNA sujeta a la cadena polipeptídica en crecimiento. Durante la formación del enlace peptídico, la cadena polipeptídica en crecimiento se mueve al tRNA del sitio A a medida que se forma el enlace peptídico. Para la elongación son necesarias varias proteínas no ribosómicas, especialmente los factores de elongación, EF-Tu y EF-Ts, y también más GTP (para simplificar la Figura 7.29*b*, se han omitido los factores de elongación, y sólo se muestra un fragmento del ribosoma). Después de la elongación, el tRNA que sujeta al polipéptido se trasloca (se mueve) del sitio A al sitio P, lo que deja libre el sitio A para otro tRNA cargado (Figura 7.29*b*).

La traslocación requiere la actuación de una proteína EF específica llamada EF-G y una molécula de GTP por cada acto de traslocación. En cada traslocación el ribosoma avanza tres nucleótidos y expone un nuevo codón

Figura 7.29 El ribosoma y la síntesis proteica. *(a)* Estructura del ribosoma, donde se muestra la posición del sitio A (aceptor), el sitio P (péptido) y el sitio E (salida, *exit* en inglés). *(b)* Traducción. Iniciación y elongación. (i, ii). La interacción entre el codón y el anticodón lleva los tRNA cargados correctos a la posición —en este caso el tRNA iniciador y el segundo tRNA cargado—. (iii) La formación de un enlace peptídico entre los aminoácidos de moléculas de tRNA adyacentes completa la elongación. (iv) La traslocación del ribosoma de un codón al siguiente se produce con la liberación del tRNA del sitio E. (v) El siguiente tRNA cargado se une al sitio A.

www.medilibros.com

en el sitio A. La traslocación empuja el tRNA ahora vacío a un tercer sitio, llamado *sitio E*. Es desde este sitio de salida desde donde el tRNA es liberado en realidad del ribosoma (Figura 7.29*b*). La precisión en la etapa de traslocación es fundamental para la exactitud de la síntesis proteica. El ribosoma debe moverse exactamente un codón en cada etapa. Si bien durante este proceso el mRNA parece estar moviéndose a lo largo del complejo ribosómico, en realidad es el ribosoma el que se mueve a lo largo del mRNA. Así, los tres sitios del ribosoma que hemos identificado en la Figura 7.29 no son ubicaciones estáticas, sino que son partes móviles de una compleja máquina biomolecular.

Varios ribosomas pueden traducir de manera simultánea una sola molécula de mRNA formando un complejo llamado *polisoma* (**Figura 7.30**). Los polisomas aumentan la velocidad y la eficiencia de la traducción, y como la actividad de cada ribosoma es independiente de la de sus vecinos, cada ribosoma de un polisoma sintetiza un péptido completo. Observe en la Figura 7.30 que los ribosomas más cercanos al extremo 5′ (el principio) de la molécula de mRNA tienen cadenas polipeptídicas cortas unidas a ellos, porque sólo han leído unos pocos codones, mientras que los ribosomas más cercanos al extremo 3′ del mRNA tienen polipéptidos prácticamente acabados.

La síntesis proteica termina cuando el ribosoma alcanza un codón sin sentido (codón de parada). No hay ningún tRNA que se una a un codón sin sentido. En cambio, proteínas específicas, llamadas factores de liberación (RF) reconocen el codón de parada y cortan el polipéptido unido al tRNA final, y liberan así el producto acabado. A continuación se disocian las subunidades del ribosoma y tanto la 30S como la 50S vuelven a ser libres para formar nuevos complejos de iniciación y repetir el proceso.

Función del RNA ribosómico en la síntesis de proteínas

El RNA ribosómico juega un papel vital en todas las etapas de la síntesis de proteínas, desde la iniciación hasta la terminación. La función de muchas proteínas presentes en el ribosoma, aunque menos clara, puede ser actuar como un andamio para situar secuencias clave en los RNA ribosómicos.

Como ya se ha dicho, en los procariotas está claro que el rRNA 16S está implicado en la iniciación mediante el apareamiento de bases con la secuencia de Shine-Dalgarno en el mRNA. También hay otras interacciones mRNA-tRNA durante la elongación. A cada lado de los codones de los sitios A y P, el mRNA se mantiene en la posición mediante su unión al rRNA 16S y a proteínas ribosómicas. El RNA ribosómico también tiene su función en la asociación de las subunidades del ribosoma, así como en el posicionamiento del tRNA en los sitios A y P (Figura 7.29*b*). Aunque los tRNA cargados que entran en el ribosoma reconocen el codón correcto por el apareamiento de bases codón-anticodón, también se unen al ribosoma por interacciones de la estructura tallo-bucle del tRNA con secuencias específicas del rRNA 16S. Además, el extremo aceptor del tRNA (Figura 7.27) se aparea con secuencias del rRNA 23S.

Además de todo esto, la formación real de enlaces peptídicos es catalizada por el rRNA. Esto ocurre en la subunidad 50S del ribosoma durante la reacción de la peptidiltransferasa. Esta reacción está catalizada por el propio rRNA 23S, en lugar de por una proteína ribosómica. El rRNA 23S también tiene una función en la traslocación y, en relación a esto, se sabe que las proteínas EF interaccionan específicamente con el rRNA 23S. Así, además de su papel como esqueleto estructural en el ribosoma, el RNA ribosómico juega un papel principalmente catalítico en el proceso de traducción. **www.microbiologyplace.com Tutorial online 7.3: Traducción.**

Liberación de ribosomas atrapados

Un mRNA defectuoso que carezca de codón de parada provoca un problema en la traducción. Este defecto puede surgir, por ejemplo, a partir de una mutación que elimine el codón de parada, de la síntesis defectuosa del mRNA, o de la degradación parcial del mRNA. Si un ribosoma llega al final de una molécula de mRNA y no hay

Figura 7.30 Polisomas. La traducción de un solo RNA mensajero por parte de varios ribosomas forma un polisoma. Obsérvese que los ribosomas que están más cerca del extremo 5′ del mensajero están en una etapa más temprana de la traducción que los que están más cerca del extremo 3′ y, por tanto sólo han sintetizado una porción relativamente corta del polipéptido final.

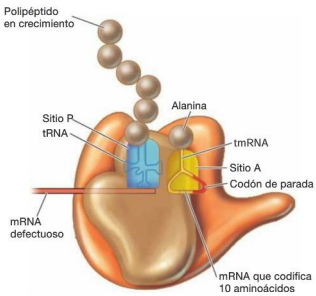


Figura 7.31 **Liberación de un ribosoma atascado.** Un mRNA defectuoso que carezca de codón de parada detiene al ribosoma que tiene un polipéptido parcialmente sintetizado unido a un tRNA (en azul) en el sitio P. La unión de un tmRNA (en amarillo) al sitio A libera el polipéptido. La traducción puede así continuar hasta el codón de parada proporcionado por el tmRNA.

codón de parada, el factor de liberación no puede unirse y el ribosoma no puede liberarse del mRNA. El ribosoma queda atrapado.

Las células bacterianas contienen una pequeña molécula de RNA, llamada *tmRNA*, que libera los ribosomas atrapados (**Figura 7.31**). Las letras «tm» en su nombre se refieren al hecho de que el tmRNA imita tanto al tRNA en que transporta el aminoácido alanina, como al mRNA en que contiene un corto fragmento de RNA que puede traducirse. Cuando el tmRNA choca con un ribosoma estancado, se une al lado del mRNA defectuoso. Entonces la síntesis proteica puede continuar, en primer lugar mediante la adición de alanina al tmRNA y después por la traducción que permite la unión del factor de liberación y el desensamblaje del ribosoma. La proteína sintetizada como resultado de esta operación de rescate es defectuosa y, en consecuencia, degradada. La corta secuencia de aminoácidos codificada por el tmRNA y añadida al extremo de la proteína defectuosa es una señal para que una proteasa específica degrade la proteína. Así, gracias a la actividad del tmRNA se liberan los ribosomas estancados para que puedan participar de nuevo en la síntesis proteica.

Efecto de los antibióticos en la síntesis de proteínas

Un gran número de antibióticos inhiben la traducción mediante interacciones con el ribosoma. Estas interacciones son muy específicas, y se ha visto que muchas de ellas implicar al rRNA. Algunos de estos antibióticos son clínicamente útiles, y algunos son también herramientas de investigación eficaces, porque son específicos de diferentes etapas de la síntesis proteica. Por ejemplo, la estreptomicina inhibe la iniciación, mientras que la puromicina, el cloranfenicol, la cicloheximida y la tetraciclina inhiben la elongación. Además, hay que añadir a su utilidad clínica el hecho de que muchos antibióticos inhiben específicamente los ribosomas de organismos de sólo uno o dos dominios filogenéticos. De los antibióticos que acabamos de mencionar, por ejemplo, el cloranfenicol y la estreptomicina son específicos para los ribosomas bacterianos, y la cicloheximida lo es de los ribosomas eucarióticos. El modo de acción de estos y otros antibióticos se analizará en el Capítulo 27.

7.15 Minirrevisión

Los ribosomas juegan un papel fundamental en el proceso de traducción, al reunir al mRNA y los aminoacil-tRNA. Hay tres sitios importantes en el ribosoma: el sitio aceptor, donde se une en primer lugar el tRNA; el sitio del péptido, donde se sostiene la cadena polipeptídica en crecimiento; y el sitio de salida. Durante cada etapa de la adición de aminoácidos, el ribosoma avanza tres nucleótidos (un codón) a lo largo del mRNA, y el tRNA que se encuentra en el sitio aceptor se desplaza al sitio del péptido. La síntesis proteica termina cuando se alcanza un codón sin sentido, que no codifica ningún aminoácido.

- ¿Cuáles son los componentes de un ribosoma?
- ¿Qué funciones realiza el rRNA en la síntesis proteica?

7.16 Incorporación de aminoácidos no estándar

La variedad de aminoácidos

El código genético universal tiene codones para 20 aminoácidos (Tabla 7.4). Sin embargo, muchas proteínas contienen también otros aminoácidos. De hecho, se han encontrado más de 100 aminoácidos diferentes en diversas proteínas. La mayoría de ellos son el resultado de la modificación de uno de los aminoácidos estándar tras ser incorporado a una molécula de proteína, en un proceso llamado *modificación posttraduccional.* No obstante, al menos dos aminoácidos no estándar son introducidos en las proteínas durante la propia síntesis proteica. Estas excepciones son la selenocisteína y la pirrolisina, los aminoácidos codificados genéticamente número 21 y 22 (Figura 3.12).

Selenocisteína y pirrolisina

La selenocisteína tiene la misma estructura que la cisteína excepto en que contiene un átomo de selenio en lu-

www.modilibros.com

gar de uno de azufre. Se forma por modificación de una serina una vez que ha sido unida a un tRNA de selenocisteína por la animoacil-tRNA-sintetasa. La pirrolisina es una lisina derivada con un anillo aromático extra. En este caso, la pirrolisina se sintetiza completamente y sólo entonces se une al pirrolisil-tRNA por la aminoacil-tRNA-sintetasa correspondiente.

Tanto la selenocisteína como la pirrolisina son codificadas por codones de parada (UGA y UAG, respectivamente). Ambos tienen sus propios tRNA que contienen anticodones que leen esos codones de parada. También ambos tienen aminoacil-tRNA-sintetasas específicas que cargan el tRNA con los aminoácidos. Cabe destacar que estos aminoácidos son utilizados por organismos que utilizan el código genético universal; en otras palabras la mayoría de codones de parada en estos organismos indican en realidad una parada. Sin embargo, algunos codones de parada son reconocidos como codificadores de selenocisteína o de pirrolisina. ¿Cómo es posible que un codón indique en ocasiones una parada y en otras sea un codón con sentido? La respuesta en el caso de la selenocisteína es bien sabida y depende de una secuencia de reconocimiento justo después del codón UGA de codificación de selenocisteína. Ésta forma una estructura tallo-bucle a la que se une un factor proteico especial, la proteína SelB. La proteína SelB también se une al tRNA cargado con selenocisteína y lo trae al ribosoma cuando es necesario durante la traducción. De manera similar, la incorporación de pirrolisina depende de una secuencia de reconocimiento justo después del codón UAG que codifica pirrolisina.

La selenocisteína y la pirrolisina son aminoácidos relativamente raros. *Escherichia coli* sintetiza sólo un puñado de proteínas con selenocisteína, incluidas dos isozimas diferentes de formiato-deshidrogenasa. El descubrimiento de la selenocisteína y de su mecanismo de incorporación se hizo a partir de la secuenciación de genes para estas enzimas. La mayoría de organismos, incluidas las plantas y los animales, tienen un pequeño número de proteínas que contienen selenocisteína. La pirrolisina es todavía más rara. Se ha encontrado en algunas arqueas y bacterias, pero se descubrió por primera vez en especies de arqueas metanógenas, organismos cuyo metabolismo genera gas natural (metano) (Sección 21.10). En ciertos metanógenos la enzima metilaminometiltransferasa contiene un residuo de pirrolisina. Cabe la posibilidad de que existan otros aminoácidos codificados genéticamente que utilicen codones sin sentido o incluso codones reasignados.

7.16 Minirrevisión

En las proteínas se encuentran muchos aminoácidos no estándar que son el resultado de modificaciones posttraduccionales. Por otra parte, los dos aminoácidos raros selenocisteína y pirrolisina se introducen en la cadena polipeptídica en crecimiento durante la síntesis proteica. Ambos son codificados por codones de parada especiales que tienen una secuencia de reconocimiento cercana que es específica para la inserción de selenocisteína o de pirrolisina.

- Explique el término modificación posttraduccional.
- ¿Qué componentes específicos (además de un ribosoma y un codón de parada) son necesarios para la inserción de selenocisteína en una cadena polipeptídica en crecimiento?

7.17 Plegamiento y secreción de proteínas

Hasta ahora hemos descrito cómo la información genética presente en la secuencia de bases del DNA se replica en una copia idéntica, se transcribe a una secuencia de bases en el RNA y se traduce a una secuencia de aminoácidos en una cadena polipeptídica. No obstante, para que una proteína funcione, es necesario que se pliegue correctamente (Secciones 3.6-3.8) y también debe ir a parar a su destino correcto en la célula. A continuación explicaremos brevemente estos dos procesos.

Plegamiento de proteínas

La mayoría de polipéptidos se pliegan espontáneamente mientras están siendo sintetizados. Sin embargo, algunos no lo hacen y necesitan la ayuda de otras proteínas, conocidas como **chaperonas moleculares** o **chaperoninas,** para el plegamiento correcto o el ensamblaje en complejos más grandes. Las chaperoninas no entran a formar parte del ensamblaje de proteínas, sino que únicamente ayudan en su plegamiento. De hecho, una de las funciones importantes de las chaperonas es evitar las agregaciones incorrectas de proteínas.

Hay diversos tipos de chaperonas moleculares. Algunas ayudan a las proteínas recién sintetizadas a plegarse correctamente. Otras chaperoninas son muy abundantes en la célula, especialmente en condiciones de crecimiento que ponen en riesgo la estabilidad de las proteínas (por ejemplo las altas temperaturas). Las chaperoninas están muy extendidas en todos los dominios de la vida, y sus secuencias se encuentran altamente conservadas en todos los organismos.

En *Escherichia coli* existen cuatro chaperonas fundamentales: DnaK, DnaJ, GroEL y GroES. DnaK y DnaJ son enzimas dependientes de ATP que se unen a polipéptidos recién formados y evitan que se plieguen demasiado bruscamente, un proceso que aumenta el riesgo de plegamientos incorrectos (**Figura 7.32**). Así, un proceso más lento mejora las posibilidades de que la proteína se pliegue correctamente. Si el complejo DnaKJ es incapaz de plegar correctamente la proteína, puede transferirla parcialmente plegada a las dos proteínas multisubunidades, GroEL y GroES. Primero la proteína entra en GroEL, una proteína en forma de barril que, mediante la energía

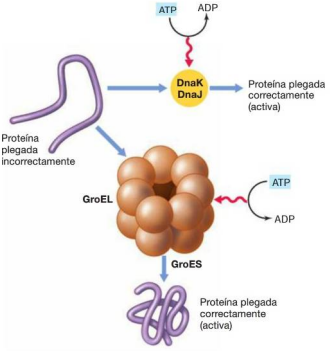


Figura 7.32 Actividad de las chaperonas moleculares. Una proteína plegada incorrectamente puede ser plegada de nuevo por el complejo DnaKJ o por el complejo GroEL/ES. En ambos casos, la energía para el replegamiento procede del ATP.

de la hidrólisis del ATP, la pliega correctamente. GroES participa en este proceso (Figura 7.32). Se estima que sólo unas cien proteínas de los varios miles que posee *E. coli* precisan ayuda del complejo GroEL/GroES, y de éstas, aproximadamente una docena son esenciales para la supervivencia de las bacterias.

Además de plegar proteínas recién sintetizadas, las chaperonas también pueden volver a plegar otras proteínas que han sido parcialmente desnaturalizadas en la célula. Una proteína puede desnaturalizarse por muchas razones, pero a menudo es debido a que el organismo ha sido sometido temporalmente a altas temperaturas. Las chaperonas son, pues, un tipo de *proteínas de choque térmico*, y su síntesis se acelera en gran medida cuando la célula se estresa a causa de un calor excesivo (Sección 9.11). La respuesta al choque térmico es un intento de la célula por volver a plegar sus proteínas parcialmente desnaturalizadas para volver a utilizarlas antes de que las proteasas las reconozcan como mal plegadas y las destruyan. El replegamiento no siempre tiene éxito, y las células cuentan con proteasas cuya función es identificar específicamente y destruir las proteínas mal plegadas, y liberar así sus aminoácidos para sintetizar proteínas nuevas.

La secreción de proteínas y la partícula de reconocimiento de la señal

Muchas proteínas desarrollan su función en la membrana citoplasmática, en el periplasma de las bacterias gramnegativas (Sección 4.9), o incluso en el exterior de la célula. Dichas proteínas deben ir desde su sitio de síntesis en los ribosomas hasta o a través de la membrana citoplasmática. ¿Cómo puede una célula transferir selectivamente algunas proteínas a través de la membrana y dejar la mayoría de ellas en el citoplasma?

La mayoría de proteínas que deben ser transportadas hasta o a través de la membrana son sintetizadas con una secuencia de aminoácidos de unos 15-20 residuos, llamada secuencia señal, al principio de la molécula proteica. Las secuencias señal son muy variables, pero normalmente tienen unos pocos residuos cargados positivamente al principio, una región central de residuos hidrófobos y después una región más polar. La secuencia señal «señala» al sistema secretor de la célula que esa proteína en concreto debe ser exportada, al tiempo que ayuda a evitar que la proteína se pliegue completamente, un proceso que podría interferir con su secreción. Como la secuencia señal es la primera parte de la proteína en sintetizarse, los primeros pasos de la exportación pueden empezar en realidad antes de que ésta esté completamente sintetizada (**Figura 7.33**).

Las proteínas que van a ser exportadas son identificadas por su secuencia señal por la *proteína SecA* o por la *partícula de reconocimiento de la señal (SRP)* (Figura 7.33). Generalmente, SecA se une a proteínas que son to-

www.medilibros.com

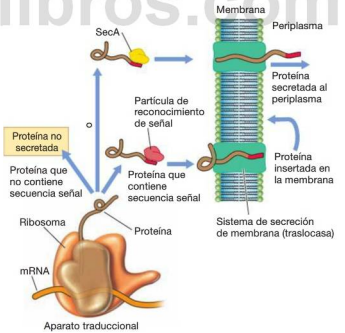


Figura 7.33 Exportación de proteínas a través del sistema principal de secreción. La secuencia señal es reconocida por SecA o por la partícula de reconocimiento de señal, que transporta la proteína al sistema de secreción de membrana. La partícula de reconocimiento de señal se une a las proteínas que se insertan en la membrana, mientras que SecA se une a las proteínas que son secretadas a través de la membrana. En las bacterias gramnegativas, éstas últimas se secretarán al espacio periplasmático (Sección 4.9).

talmente exportadas a través de la membrana hasta el periplasma, mientras que SRP se une a proteínas que se insertan en la membrana pero no se liberan a la otra parte. Las SRP se encuentran en todas las células. En las bacterias, contienen una sola proteína y una pequeña molécula de RNA no codificante (RNA 4,5S). Tanto SecA como SRP envían las proteínas que van a ser secretadas al complejo de secreción de la membrana. En las bacterias éste es normalmente el sistema Sec, cuyo canal está formado por las tres proteínas SecYEG (Sección 4.5). La proteína se exporta a través de la membrana citoplasmática a través de este canal. Después puede permanecer en la membrana o ser liberada al periplasma o al entorno (Figura 7.33). Tras cruzar la membrana, la secuencia señal es eliminada por una proteasa.

Secreción de proteínas plegadas: el sistema Tat

En el sistema Sec de transporte de proteínas, las proteínas transportadas pasan a través de la membrana plasmática en estado desplegado y sólo se pliegan después (Figura 7.33). Sin embargo, existe un número reducido de proteínas que deben transportarse al exterior de la célula después de haber alcanzado su estructura final plegada. Normalmente esto es debido a que contienen pequeños cofactores que deben insertarse en la proteína a medida que ésta se pliega y adquiere su forma final. Estas proteínas se pliegan en el citoplasma y a continuación se exportan mediante un sistema de transporte diferente del Sec, llamado *sistema Tat de exportación de proteínas*.

El acrónimo Tat procede del término inglés *twin arginine translocase,* que significa traslocasa de argininas gemelas, porque las proteínas transportadas contienen una secuencia señal corta que contiene un par de residuos de arginina. Esta secuencia señal en una proteína plegada es reconocida por las proteínas TatBC, que transportan a la proteína hasta TatA, el transportador de membrana. El proceso real de transporte implica un gasto energético que es suministrado por la fuerza protomotriz (Secciones 4.4 y 5.12). Una gran variedad de proteínas son transportadas por el sistema Tat, en especial las proteínas necesarias para el metabolismo energético que funciona en el periplasma. Esto incluye las proteínas hierro-azufre y algunas otras proteínas redox. Además, la ruta Tat transporta proteínas necesarias para la biosíntesis de la membrana externa (Sección 4.9) y unas pocas proteínas que no contienen cofactores pero sólo se pliegan correctamente en el citoplasma.

7.17 Minirrevisión

Las proteínas deben estar correctamente plegadas para funcionar adecuadamente. El plegamiento puede producirse espontáneamente, pero también puede implicar otras proteínas llamadas chaperonas moleculares. Muchas proteínas también necesitan ser transportadas a la membrana o a través de ella. Dichas proteínas son sintetizadas con una secuencia señal que es reconocida por el aparato de exportación celular y es eliminado durante o después de la exportación.

- ¿Qué es una chaperona molecular?
- ¿Por qué algunas proteínas tienen una secuencia señal?
- ¿Qué es una partícula de reconocimiento de señal?

www.libros.com

En este Capítulo hemos estudiado los fundamentos de los procesos moleculares más importantes que ocurren en las bacterias. A continuación analizaremos cómo las arqueas y las células eucariotas desarrollan los mismos procesos. Existen muchas similitudes, pero también algunas diferencias fundamentales, en la replicación, en la transcripción y en la traducción, entre organismos de los tres dominios de la vida.

Glosario de términos

Aminoacil-tRNA-sintetasa: enzima que cataliza la unión de un aminoácido con su tRNA cognado.

Anticodón: secuencia de tres bases en una molécula de tRNA que se aparea con un codón durante la síntesis proteica.

Antiparalelo: en referencia al DNA bicatenario, cuando las dos cadenas tienen sentidos opuestos (una va en sentido 5' →3' y la cadena complementaria va 3' → 5').

Balanceo: forma menos rígida del apareamiento de bases permitida sólo en el apareamiento codón-anticodón.

Cadena avanzada: la nueva cadena de DNA que es sintetizada de manera continua durante la replicación del DNA.

Cadena retrasada: la nueva cadena de DNA que es sintetizada en fragmentos cortos durante la replicación del DNA que son unidos posteriormente.

Cebador: oligonucleótido al cual la DNA-polimerasa puede unir el primer desoxirribonucleótido durante la replicación del DNA.

Chaperonina o chaperona molecular: proteína que ayuda a otras proteínas a plegarse o volver a plegarse a partirde un estado parcialmente desnaturalizado.

Código genético: correspondencia entre la secuencia del ácido nucleico y la secuencia de aminoácidos de las proteínas.

Codón: secuencia de tres bases en el mRNA que codifica un aminoácido.

Codón de inicio: codón especial, normalmente UAG, que indica el inicio de una proteína.

Codón de parada: codón que indica el final de una proteína.

Codón sin sentido: otro nombre para el codón de parada.

Complementario: dicho de las secuencias de ácido nucleico que pueden aparearse entre sí.

Cromosoma: elemento genético, normalmente circular en procariotas, que posee genes esenciales para las funciones celulares.

DNA-girasa: enzima que se encuentra en la mayoría de procariotas y que introduce superenrollamiento negativo en el DNA.

DNA-polimerasa: enzima que sintetiza una nueva cadena de DNA en sentido 5' → 3' usando una cadena de DNA antiparalela como molde.

Elemento genético: estructura que porta información genética, como un cromosoma, un plásmido o un genoma vírico.

Gen: segmento de DNA que especifica una proteína (a través del mRNA), un tRNA, un rRNA o cualquier otro RNA no codificante.

Genoma: complemento total de genes de una célula o un virus.

Horquilla de replicación: sitio del cromosoma donde se produce la replicación y donde las enzimas que replican el DNA se unen al DNA monocatenario desenrollado.

Macromolécula de información: cualquier gran molécula polimérica que porta información genética, incluyendo el DNA, el RNA y las proteínas.

Operón: agrupación de genes que se cotranscriben para formar un solo RNA mensajero.

Pauta de lectura abierta (ORF): secuencia de DNA o RNA que puede traducirse para dar un polipéptido.

Preferencia codónica: uso no azaroso de múltiples codones que codifican el mismo aminoácido.

Promotor: sitio en el DNA al que se une la RNA-polimerasa para empezar la transcripción.

Replicación: síntesis de DNA utilizando DNA como molde.

Replicación semiconservativa: síntesis de DNA que genera nuevas dobles hélices, cada una de ellas con una cadena parental y una cadena hija.

Ribosoma: partícula citoplasmática compuesta por RNA ribosómico y proteínas y cuya función es sintetizar proteínas.

RNA de transferencia (tRNA): pequeña molécula de RNA que se utiliza en la traducción. Posee un anticodón en un extremo y tiene el aminoácido correspondiente unido al otro extremo.

RNA mensajero (mRNA): molécula de RNA que contiene la información genética que codifica uno o más polipéptidos.

RNA-polimerasa: enzima que sintetiza RNA en sentido 5' → 3' usando una cadena de DNA complementaria y antiparalela como molde.

RNA ribosómicos (rRNA): tipos de RNA encontrados en el ribosoma; algunos participan activamente en el proceso de la síntesis proteica.

Secuencia señal: secuencia N-terminal especial de aproximadamente 20 aminoácidos que indica que una proteína debe ser exportada a través de la membrana citoplasmática.

Terminación: fin de la elongación de una molécula de RNA en un sitio específico.

Traducción: síntesis de una proteína usando la información genética del RNA como molde.

Transcripción: síntesis de RNA usando el DNA como molde.

www.mhlibros.com

Preguntas de repaso

1. Describa el dogma central de la biología (Sección 7.1).
2. Los genes se descubrieron antes de que se conociera su naturaleza química. Defina un gen sin mencionar su naturaleza química. ¿De qué está compuesto un gen (Sección 7.1)?
3. Las repeticiones invertidas pueden dar lugar a estructuras de tallo-bucle. Demuestre esta afirmación dando la secuencia de un DNA bicatenario que contenga una repetición invertida y muestre cómo el transcrito de esta región puede formar un tallo-bucle (Sección 7.2).
4. ¿La secuencia 5'-GCACGGCACG-3' es una repetición invertida? Explique su respuesta (Sección 7.2).
5. Las moléculas de DNA que son ricas en AT se separan en dos cadenas más fácilmente cuando aumenta la temperatura que las que son ricas en GC. Explique esta observación basándose en las propiedades del apareamiento de bases entre AT y entre CG (Sección 7.2).
6. Describa cómo es posible que el DNA, que extendido ocupa muchas veces la longitud de una célula, pueda caber dentro de una sola (Sección 7.3).
7. Enumere los principales elementos genéticos conocidos de los microorganismos (Sección 7.4).
8. Una estructura encontrada habitualmente en el DNA circular durante la replicación es la estructura theta. Dibuje un esquema del proceso de replicación y muestre cómo surge la estructura theta (Secciones 7.5 - 7.7).
9. ¿Por qué son tan raros los errores en la replicación del DNA? ¿Qué actividad enzimática, además de la polimerización, está asociada a la DNA-polimerasa III y cómo reduce los errores (Sección 7.8)?
10. ¿Los genes de los tRNA tienen promotores? ¿Tienen codones de inicio? Explique su respuesta (Secciones 7.12 y 7.13).
11. Los sitios de inicio y de parada de la síntesis del mRNA (sobre el DNA) son diferentes de los sitios de inicio y de parada de la síntesis de proteínas (sobre el mRNA). Explique por qué (Secciones 7.10 y 7.13).
12. ¿Qué es el «balanceo» y por qué es necesario en la síntesis de proteínas (Secciones 7.13 y 7.14)?

13. ¿Qué son las aminoacil--tRNA-sintetasas y qué tipos de reacciones catalizan? ¿Cuántos tipos de estos enzimas hay, aproximadamente, en la célula? ¿Cómo reconoce una sintetasa sus sustratos (Sección 7.14)?

14. La actividad que forma enlaces peptídicos en el ribosoma se llama peptidiltransferasa. ¿Qué cataliza esta reacción (Sección 7.15)?

15. Algunas veces las proteínas mal plegadas se pueden volver a plegar correctamente, pero en ocasiones no es posible y son degradadas. ¿Qué clases de enzimas están implicadas en degradar las proteínas mal plegadas (Sección 7.17)?

16. ¿Cómo sabe una célula cuál de sus proteínas están diseñadas para funcionar fuera de la célula (Sección 7.17)?

Ejercicios prácticos

1. El genoma de la bacteria *Neisseria gonorrhoeae* consiste en una molécula de DNA bicatenario que contiene 2.220 pares de kilobases. Calcule la longitud de esta molécula de DNA en centímetros. Si el 85% de esta molécula de DNA está compuesto por pautas abiertas de lectura de genes que codifican proteínas, y una proteína media contiene 300 aminoácidos, ¿cuántos genes codificadores de proteínas tiene *Neisseria*? ¿Qué clase de información debería estar presente en el 15% restante del DNA?

2. Compare y contraste la actividad de la DNA-polimerasa y la RNA-polimerasa. ¿Qué función tiene cada una? ¿Cuáles son sus sustratos? ¿Cuál es la diferencia principal en el comportamiento de ambas?

3. ¿Cuál sería el resultado (en términos de síntesis proteica) si la RNA-polimerasa iniciara la transcripción una base antes de su punto de inicio normal? ¿Por qué? ¿Qué ocurriría (en términos de síntesis proteica) si la traducción empezara una base después de su punto de inicio normal? ¿Por qué?

4. En el Capítulo 10 estudiaremos las mutaciones, cambios heredables en la secuencia de nucleótidos del genoma. Partiendo de la Tabla 7.4, explique cómo ha evolucionado el código genético para minimizar el impacto de las mutaciones.

www.medilibros.com

8

Biología molecular de arqueas y eucariotas

I BIOLOGÍA MOLECULAR DE LAS ARQUEAS 227

8.1 Cromosomas y replicación del DNA en arqueas **227**

8.2 Transcripción y procesamiento del RNA en arqueas **229**

8.3 Síntesis de proteínas en arqueas **230**

8.4 Características comunes en bacterias y arqueas **231**

II BIOLOGÍA MOLECULAR EUCARIÓTICA 232

8.5 Genes y cromosomas en los eucariotas **232**

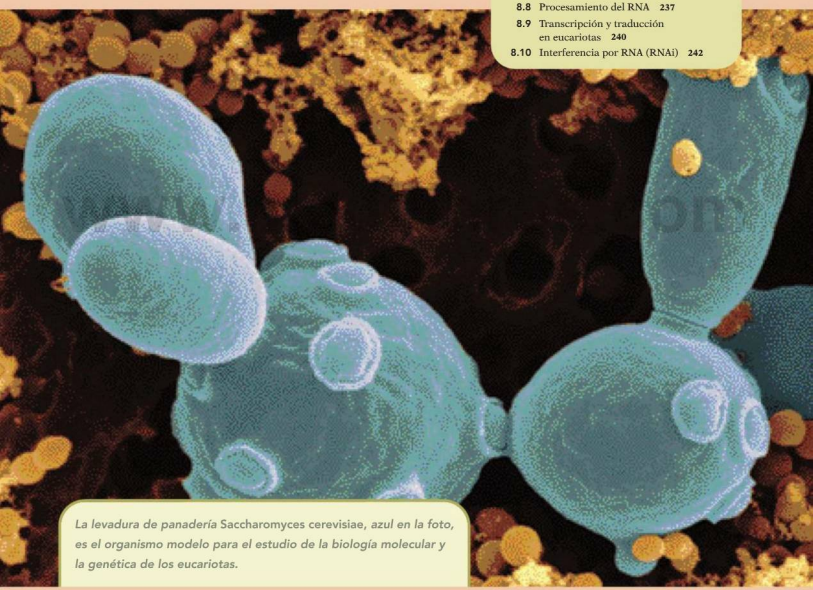
8.6 Visión general de la división celular eucariótica **234**

8.7 Replicación del DNA lineal **235**

8.8 Procesamiento del RNA **237**

8.9 Transcripción y traducción en eucariotas **240**

8.10 Interferencia por RNA (RNAi) **242**



La levadura de panadería Saccharomyces cerevisiae, *azul en la foto, es el organismo modelo para el estudio de la biología molecular y la genética de los eucariotas.*

Ya subrayamos en el Capítulo 2 que los dos dominios de procariotas, bacterias y arqueas, son filogenéticamente distintos, aunque comparten muchas propiedades. Esta distinción también es obvia en muchos aspectos de la biología molecular de estos organismos. En el Capítulo 7 hemos explicado los fundamentos de la biología molecular ilustrándolos con el organismo procariota modelo, *Escherichia coli*, una especie del dominio bacterias. En las arqueas y los organismos superiores el flujo global de información, del DNA al RNA y de éste a las proteínas, como lo indica el dogma central de la biología molecular, es el mismo que en las bacterias. No obstante, algunos detalles son diferentes, y en las células eucariotas hay complicaciones a causa de la existencia del núcleo como compartimento separado.

Investigaciones recientes han mostrado que, a pesar de la ausencia de núcleo, las arqueas son más similares en muchas de sus propiedades a los eucariotas que a las bacterias. De hecho, las arqueas están siendo utilizadas como organismos modelo para investigar mecanismos que comparten con los eucariotas y que son mucho más difíciles de estudiar en las células eucariotas complejas. Aquí presentamos una visión general de los elementos fundamentales de la biología moléculas de las arqueas, en concreto los elementos que muestran semejanzas con los de los eucariotas.

www.medi

I BIOLOGÍA MOLECULAR DE LAS ARQUEAS

Al principio se pensó que las arqueas eran miembros aberrantes del dominio bacterias, porque ambos grupos comparten el mismo diseño celular procariótico en general, ya que carecen de compartimentos unidos por membranas y, sobre todo, no tienen núcleo. Además, ambos grupos de procariotas contienen típicamente un solo cromosoma circular y con frecuencia transcriben varios genes en un mismo mRNA policistrónico. Sin embargo, una secuenciación comparativa del rRNA ha puesto de manifiesto una relación genética más estrecha entre arqueas y eucariotas que entre bacterias y arqueas (Sección 2.7). Esto se refleja en cuestiones como el uso de histonas para el empaquetamiento del DNA y el mecanismo detallado de traducción. Empezaremos por comparar los genes y cromosomas de las arqueas con los de los otros dos dominios.

8.1 Cromosomas y replicación del DNA en arqueas

Los cromosomas de las arqueas recuerdan a los de las bacterias en que son circulares y portan entre quinientos y unos pocos miles de genes. Sin embargo, el empaquetamiento del DNA y la replicación cromosómica revelan mayores semejanzas con los eucariotas.

Empaquetamiento del DNA en arqueas

En todos los organismos, las largas moléculas de DNA son empaquetadas por superenrollamiento, aunque los mecanismos varían entre los tres dominios. Las bacterias utilizan la DNA-girasa (Sección 7.3) mientras que los eucariotas enrollan su DNA alrededor de proteínas conocidas como histonas (Sección 8.5). Las arqueas poseen tanto DNA-girasas como histonas. Por tanto, el DNA de las arqueas se condensa por superenrollamiento mediado por la DNA-girasa como en las bacterias, o por unión a histonas como en los eucariotas.

A diferencia de las bacterias, tanto las arqueas como los eucariotas poseen **histonas** (**Figura 8.1**). Las histonas están presentes en todos los eucariotas y en al menos algunos miembros de *filums* de todas las arqueas, aunque no en todas las especies. Las histonas son proteínas cargadas positivamente que neutralizan la carga negativa del DNA (procedente de los grupos fosfato). El DNA está envuelto alrededor de agrupaciones de histonas para formar estructuras conocidas como **nucleosomas,** que están espaciados a lo largo de la doble hélice del DNA a intervalos regulares. Las histonas de las arqueas forman agrupaciones de cuatro (a veces denominados tetrasomas) en lugar de las ocho que se encuentran en las histonas eucarióticas, y alojan aproximadamente 80 pares de bases (bp) de DNA. Las histonas de las arqueas son más cortas que las eucarióticas, pero son homólogas en cuanto a secuencia de aminoácidos y similares en su estructura tridimensional. Las histonas de las arqueas y de los eucariotas comparten el llamado plegamiento de histona, la región central de la proteína, que es necesaria para formar nucleosomas. Las histonas eucarióticas tienen dominios *N*-terminal y *C*-terminal extra, que no son necesarios para el ensamblaje de los nucleosomas. Las bacterias no poseen histonas genuinas, pero tienen proteínas similares a las histonas para unirse al DNA. Estas

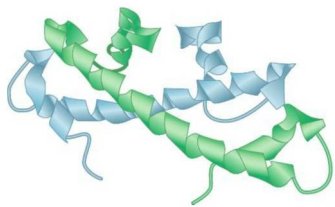


Figura 8.1 Histonas en las arqueas. Aunque las histonas de las arqueas son más cortas que las eucarióticas, contienen la misma estructura de plegamiento proteico. En la Figura se muestra un dímero de la histona HPhA de la arquea hipertermófila *Pyrococcus horikoshii*. Adaptado de la estructura 1KU5 del *Protein Data Bank* (Banco de datos de proteínas).

proteínas similares a histonas no presentan homología de secuencia con las verdaderas histonas y no forman nucleosomas.

A pesar de la presencia de histonas verdaderas en arqueas, algunas especies, por ejemplo *Thermoplasma acidophilum,* dependen ampliamente de la DNA-girasa para el superenrollamiento del DNA. En consecuencia, dichas arqueas son sensibles a los antibióticos que actúan inhibiendo la DNA-girasa, como las quinolonas y la novobocina. Estos antibióticos también inhiben a las bacterias (Sección 27.6).

Unas pocas arqueas que crecen a temperaturas extremadamente altas (los hipertermófilos; Capítulo 17), contienen una enzima llamada **girasa inversa.** Esta topoisomerasa introduce superenrollamiento positivo en el DNA. El superenrollamiento positivo protege, probablemente, de la desnaturalización por calor. El hecho de que, con raras excepciones, la girasa inversa esté presente sólo en los hipertermófilos, apoya esta hipótesis. No obstante, como en todas las células, para ser útil, la información genética del DNA debe ser accesible a la maquinaria de replicación y transcripción de la célula. Así pues, tanto si el superenrollamiento está controlado por la actividad de la DNA-girasa como de la girasa inversa, es probable que la estructura del DNA dentro de la célula permanezca bastante dinámica.

Tabla 8.1 Comparación de los cromosomas y su replicación en los tres dominios[a]

	Bacterias	*Arqueas*	*Eucariotas*
Topología cromosómica	Circular	Circular	Lineal
Número de cromosomas	Uno	Uno	Múltiple
Orígenes por cromosoma	Uno	Uno, dos o tres	Muchos
Reconocimiento del origen	Proteína DnaA	Proteína Cdc6/Orc[b]	ORC[b]
Helicasa	Proteína DnaB	Proteína MCM	Proteína MCM
Cargador de helicasa	Proteína DnaC	Proteína Cdc6/Orc[b]	Proteína Cdc6[b]
Pinza deslizante	Proteína DnaN	Proteína PCNA	Proteína PCNA
Primasa	Proteína DnaG	PriS y PriL	Pri1 y Pri2
DNA-polimerasa principal	Familia PolC	Familia PolB	Familia PolB

[a]Se han omitido excepciones relativamente raras, como las bacterias con cromosomas lineales
[b]La proteína Cdc6/Orc de las arqueas es similar a la Cdc6 y a algunas subunidades del ORC (complejo de reconocimiento del origen) de eucariotas, y puede ser bifuncional. Algunas arqueas tienen más de una proteína de tipo Cdc6.

Replicación de cromosomas en arqueas

El cromosoma circular de las arqueas es estructuralmente similar al bacteriano y se replica por síntesis bidireccional, de manera semejante a éste (Sección 7.7). No obstante, la maquinaria de replicación cromosómica en arqueas muestra más similitud con la de los eucariotas.

Generalmente se considera que los múltiples orígenes de replicación encontrados en los cromosomas eucarióticos son necesarios para replicar los larguísimos cromosomas en un período de tiempo razonable. Curiosamente, se conocen diversas arqueas cuyo único cromosoma circular, a pesar de ser relativamente corto comparado con los de los eucariotas, también tiene múltiples orígenes de replicación (**Tabla 8.1**). Así, por ejemplo, *Halobacterium* presenta dos orígenes de replicación en su cromosoma, y *Sulfolobus* tiene tres.

Las proteínas de las arqueas y de los eucariotas que reconocen el origen de replicación y ayudan a sintetizar el DNA muestran mucha más semejanza entre sí que con las proteínas funcionalmente equivalentes de las bacterias (Tabla 8.1). En algunos casos, como la DNA-helicasa o el complejo de reconocimiento del origen (ORC), los eucariotas tienen complejos enzimáticos formados por seis subunidades proteicas diferentes (aunque relacionadas). Las arqueas tienen una sola proteína que forma complejos equivalentes. Por ejemplo, la helicasa eucariótica forma anillos constituidos por seis subunidades proteicas diferentes, mientras que la helicasa de las arqueas forma anillos de seis subunidades idénticas. En términos generales, por tanto, las arqueas parecen contar con una versión simplificada del aparato de replicación eucariótico.

Todos los organismos poseen múltiples DNA-polimerasas especializadas en funciones diferentes, como la replicación y la reparación del DNA. Existen tres familias estructurales de DNA-polimerasa, conocidas como A, B y C. Los organismos de los distintos dominios utilizan los miembros de estas tres familias para funciones diferentes. Por ejemplo, las bacterias utilizan las DNA-polimerasas de la familia C (por ejemplo Pol III de *Escherichia coli*) como enzimas replicativos principales, y las DNA-polimerasas de las familias A y B para la reparación del DNA. Por otra parte, las arqueas y los eucariotas utilizan las polimerasas de la familia B como enzimas replicativas principales y las de las familias A y C para reparación (Tabla 8.1).

8.1 Minirrevisión

El empaquetamiento de las moléculas de DNA muy largo se basa en alguna forma de superenrollamiento. En las bacterias éste es producido por la DNA-girasa, mientras que en eucariotas el DNA se enrolla alrededor de los nucleosomas, que están formados por proteínas llamadas histonas. Las arqueas poseen ambas, la DNA-girasa y las histonas. Algunas arqueas tienen una girasa inversa, que introduce superenrollamiento positivo. A pesar de las semejanzas con las bacterias en que tienen un solo cromosoma

www.medilibros.com

circular, el aparato de replicación de las arqueas es mucho más parecido al de los eucariotas.

- ¿Qué similitudes hay entre las histonas de las arqueas y las de los eucariotas?
- ¿En qué se diferencian las actividades DNA-girasa y girasa inversa?
- ¿Cuántos orígenes de replicación tienen los cromosomas de las bacterias, las arqueas y los eucariotas?

8.2 Transcripción y procesamiento del RNA en arqueas

La relación genética fundamental de las arqueas con los eucariotas fue identificada inicialmente mediante comparación de secuencias de RNA ribosómico (Sección 2.7). Posteriores comparaciones de las características moleculares de las arqueas y los eucariotas han demostrado que la transcripción y la traducción en los dos dominios comparten muchos rasgos estructurales y de mecanismo, lo que indica que estos dos dominios están más estrechamente relacionados entre sí que cualquiera de los dos con las bacterias. En esta Sección presentamos una visión general de la transcripción en arqueas.

Transcripción en arqueas

Al igual que ocurre con la replicación cromosómica, las arqueas parecen tener una versión simplificada del aparato transcripcional eucariótico. Tanto las secuencias de los promotores como la estructura y actividad de la RNA-polimerasa de arqueas recuerdan a las de los eucariotas. Por el contrario, la regulación de la transcripción en arqueas guarda más similitudes con las bacterias, quizás por el pequeño tamaño global del genoma y la ausencia de núcleo. La regulación de la expresión génica de bacterias y de arqueas se explica en el Capítulo 9 (la de arqueas en la Sección 9.8).

Las arqueas contienen una sola RNA-polimerasa, que se parece más a la RNA-polimerasa II eucariótica (Sección 8.9). La RNA-polimerasa de arqueas tiene típicamente ocho subunidades, y la RNA-polimerasa II eucariótica tiene una docena o más. La RNA-polimerasa bacteriana sólo tiene cuatro subunidades (excluyendo la subunidad sigma de reconocimiento) (Sección 7.9). El antibiótico rifampicina inhibe la RNA-polimerasa bacteriana, pero no las correspondientes enzimas eucarióticas ni de arqueas. Además, la estructura de los promotores en arqueas recuerda la de los promotores eucarióticos reconocidos por la RNA-polimerasa II eucariótica. Hay tres secuencias de reconocimiento principales en ambos dominios, y estas secuencias son reconocidas por una serie de proteínas llamadas *factores de transcripción* que son similares en *Eukarya* y en *Archaea*.

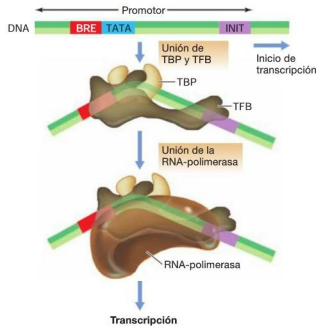


Figura 8.2 Arquitectura del promotor y transcripción en arqueas. Hay tres elementos del promotor que son críticos para el reconocimiento de éste en arqueas: el elemento iniciador (INIT), la caja TATA y el elemento de reconocimiento B (BRE). La proteína de unión a la caja TATA (TBP) se une a la caja TATA; el factor de transcripción B (TFB) se une a BRE y a INIT. Una vez que TBP y TFB están en su lugar, se une la RNA-polimerasa.

La secuencia de reconocimiento más importante en los promotores eucarióticos y de arqueas es una caja TATA de 6 a 8 pares de bases, localizada entre 18 y 27 nucleótidos antes del sitio de inicio de la transcripción (**Figura 8.2**). Es reconocida por la TBP (proteína de unión a la caja TATA). Antes de ésta se encuentra la secuencia BRE (elemento de reconocimiento B), que es reconocida por el TFB (factor de transcripción B) Además, el elemento iniciador, situado al principio de la transcripción, también es importante. Una vez que la TBP se ha unido a la caja TATA y el TFB se ha unido al BRE, la RNA-polimerasa de las arqueas puede unirse e iniciar la transcripción. Este proceso es parecido en eucariotas, excepto en que son necesarios más factores de transcripción (Sección 8.9).

Se sabe menos sobre las señales de terminación de la transcripción en arqueas. Algunos genes de arqueas tienen repeticiones invertidas seguidas por una secuencia rica en AT, secuencias muy similares a las encontradas en muchos terminadores transcripcionales bacterianos (Sección 7.11). Sin embargo, estas secuencias de terminación no se encuentran en otros genes de arqueas. Otro tipo de presunto terminador de la transcripción carece de repeticiones invertidas pero contiene secuencias de repeticiones de T. De algún modo, esto indica a la maquinaria de terminación de arqueas que debe terminar el proceso de transcripción. En arqueas no se han encontrado proteínas similares a Rho. (Rho es necesario para la terminación de algunos genes en bacterias, Sección 7.11.)

www.medilibros.com

Secuencias intercaladas en arqueas

Al igual que en bacterias, las secuencias intercaladas en genes que codifican proteínas son extremadamente raras en arqueas. Esto contrasta con los eucariotas, en los que muchos de estos genes son escindidos en dos o más regiones codificantes separadas por regiones no codificantes (Sección 8.8). Los segmentos de la secuencia codificante se llaman **exones,** y las regiones no codificantes intercaladas, **intrones.** El término **transcrito primario** se refiere a la molécula de RNA transcrita originalmente antes de la eliminación de los intrones para generar el mRNA final, formado solamente de exones.

No obstante, algunos genes que codifican tRNA y rRNA en arqueas poseen intrones que deben ser eliminados después de la transcripción para generar tRNA o rRNA maduros. Estos intrones se denominaron intrones de arqueas porque no son procesados por el espliceosoma que procesa los intrones eucarióticos típicos (Sección 8.8). En cambio, los intrones de arqueas son escindidos por una endorribonucleasa específica que reconoce las uniones exón-intrón (**Figura 8.3**).

Los intrones de arqueas también se han encontrado en los genes nucleares de tRNA en eucariotas. Además, la endorribonucleasa que corta los intrones es homóloga a dos de las subunidades del complejo enzimático que elimina los intrones de los tRNA nucleares eucarióticos. La frecuencia global de las secuencias intercaladas es similar en bacterias y en arqueas, posiblemente porque ambos contienen genomas pequeños y compactos. Por otra parte, el mecanismo de escisión de los intrones de arqueas es compartido por un pequeño grupo de intrones del núcleo de los eucariotas.

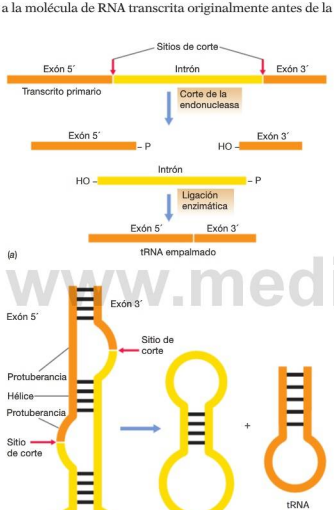


Figura 8.3 Mecanismo de corte y empalme de los intrones de arqueas. *(a)* Esquema de la reacción. La eliminación de los intrones de arqueas es una reacción en dos etapas. En una primera etapa, una endonucleasa específica corta el intrón. En la segunda etapa, una ligasa une el exón 5′ al exón 3′, y genera el tRNA maduro. *(b)* Plegamiento del tRNA precursor. Los dos sitios de corte (flechas rojas) son reconocidos por sus motivos característicos «protuberancia-hélice-protuberancia». Los productos de la reacción son el tRNA y un intrón circular.

No obstante, algunos genes que codifican tRNA y rRNA en arqueas poseen intrones que deben ser eliminados después de la transcripción para generar tRNA o rRNA maduros. Estos intrones se denominaron intrones de arqueas porque no son procesados por el espliceosoma que procesa los intrones eucarióticos típicos (Sección 8.8). En cambio, los intrones de arqueas son escindidos por una endorribonucleasa específica que reconoce las uniones exón-intrón (**Figura 8.3**).

Los intrones de arqueas también se han encontrado en los genes nucleares de tRNA en eucariotas. Además, la endorribonucleasa que corta los intrones es homóloga a dos de las subunidades del complejo enzimático que elimina los intrones de los tRNA nucleares eucarióticos. La frecuencia global de las secuencias intercaladas es similar en bacterias y en arqueas, posiblemente porque ambos contienen genomas pequeños y compactos. Por otra parte, el mecanismo de escisión de los intrones de arqueas es compartido por un pequeño grupo de intrones del núcleo de los eucariotas.

www.medilibros.com

8.2 Minirrevisión

El aparato transcripcional y la arquitectura del promotor en *Archaea* y en *Eukarya* tienen muchas características en común, aunque los componentes son normalmente más sencillos en las arqueas. Se han encontrado algunas secuencias intercaladas inusuales en arqueas que son similares a las encontradas en los genes nucleares que codifican tRNA en eucariotas.

- ¿Cuáles son los tres componentes principales que forman un promotor en arqueas?
- ¿Qué son los intrones de arqueas?

8.3 Síntesis de proteínas en arqueas

Como ya hemos dicho, la relación genética de las arqueas con el genoma nuclear eucariótico fue descubierta por secuenciación comparativa del rRNA, que es un componente fundamental de la maquinaria de traducción (Sección 7.15). Los análisis de la mayoría del resto de componentes apoyan esta estrecha relación entre arqueas y eucariotas que vamos a explicar a continuación.

Traducción en arqueas

El ribosoma de los eucariotas contiene varias moléculas de rRNA y 78 proteínas. De éstas, 34 son comunes a los tres dominios de la vida, otras 33 son compartidas por arqueas y eucariotas y las otras 11 son exclusivamente eucarióticas, no hay ninguna común sólo a bacterias y eucariotas. Una situación similar se observa con los fac-

tores de traducción. Algunos son comunes a los tres dominios, y otros son compartidos por arqueas y eucariotas. Además de las 11 proteínas ribosómicas exclusivas de los eucariotas, éstos tienen un rRNA extra, el rRNA 5,8S, que no se encuentra ni en bacterias ni en arqueas.

Para la traducción es necesario, además de un ribosoma funcional, varios factores de traducción (factores de iniciación, elongación y liberación; Sección 7.15). Los eucariotas y las arqueas tienen aproximadamente el doble de factores de traducción que las bacterias. Los de los eucariotas suelen tener más subunidades que los de las arqueas, y también hay más proteínas implicadas en la traducción (Sección 8.1). No obstante, los factores de traducción de las arqueas y los eucariotas muestran un alto grado de homología.

En general, los componentes de la maquinaria de traducción de las arqueas están más relacionados con los de los eucariotas que con los de las bacterias. A pesar de ello, el mecanismo de síntesis proteica en arqueas comparte algunos rasgos tanto con bacterias como con eucariotas y, en consecuencia, la situación es un poco complicada. Por ejemplo, los ribosomas de bacterias y de arqueas reconocen el mRNA mediante las secuencias de Shine-Dalgarno (Sección 7.15), que están ausentes en los eucariotas. Por otra parte, tanto arqueas como eucariotas insertan metionina como primer aminoácido, a diferencia de las bacterias, que utilizan *N*-formilmetionina (Sección 7.13). Actualmente hay pocos datos experimentales disponibles sobre el mecanismo detallado de la traducción o el orden de ensamblaje de los distintos componentes en arqueas. En general, las comparaciones de secuencia subrayan las similitudes entre eucariotas y arqueas en cuanto al RNA y las proteínas que conforman la maquinaria de traducción.

8.3 Minirrevisión

El aparato de traducción de arqueas y eucariotas comparte muchas características, aunque el número de componentes ribosómicos y de factores de traducción es menor en las arqueas. Sin embargo, las arqueas presentan algunas semejanzas con las bacterias, como el uso de las secuencias de Shine-Dalgarno.

- ¿En qué se parece la traducción de las arqueas a la de las bacterias?
- ¿En qué se parece la traducción de las arqueas a la de los eucariotas?

8.4 Características comunes en bacterias y arqueas

A pesar de la mayor relación genética entre arqueas y eucariotas, los organismos de los dos dominios procariotas, *Bacteria* y *Archaea* comparten propiedades fundamentales que están ausentes en *Eukarya*. En la **Figura 8.4** se resume la distribución de las características genéticas de los tres dominios. Ambos tipos de procariotas son típicamente microorganismos unicelulares que, en su mayoría, se dividen por escisión binaria, aunque algunos lo hacen por gemación. Ni las bacterias ni las arqueas tienen núcleo ni orgánulos rodeados por membranas. Por lo tanto, comparten algunos rasgos como la transcripción y la traducción acopladas (Sección 7.15) que son imposibles en eucariotas por el hecho de que la transcripción se lleva a cabo dentro del núcleo. Otros rasgos compartidos, como la práctica ausencia de secuencias intercaladas tanto en bacterias como en arqueas, puede ser el resultado de un «modo de vida procariota». En otras palabras, el crecimiento relativamente rápido como células individuales crea una presión sobre el genoma pequeño y compacto con poco DNA no codificante extra.

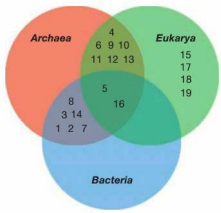
Ni las bacterias ni las arqueas poseen el tipo de flagelo largo eucariótico que utiliza ATP como fuente de energía. En cambio, ambos utilizan flagelos con bases rotantes que toman su energía de la fuerza protomotriz y cuyo eje es una hélice sencilla de subunidades proteicas (Sección 4.13). Sin embargo, la proteína que constituye el eje flagelar en arqueas está relacionada con la proteína de las fimbrias bacterianas (Sección 4.9), no con su flagelina.

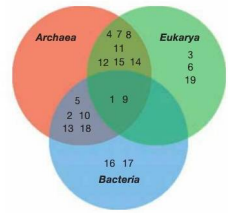
Las bacterias y las arqueas comparten otras muchas características. Ambos poseen un solo cromosoma circular y transcriben agrupaciones de genes, controlados como una unidad (un operón), a moléculas de mRNA policistrónico que son traducidas para dar varias proteínas. Además, tanto las bacterias como las arqueas usan secuencias de Shine-Dalgarno para indicar al ribosoma dónde empezar la traducción, y ambos carecen de la estructura en caperuza típica del mRNA eucariótico (Sección 8.8). También, la regulación de la transcripción en arqueas es ampliamente bacteriana, ya que descansa en las proteínas de unión al DNA, represoras y activadoras, que reconocen sitios en la región promotora (Sección 9.8).

En eucariotas, la reproducción y el intercambio genético están acoplados durante la reproducción sexual, en la que los gametos haploides de los dos padres se fusionan para crear un nuevo individuo diploide. Así, los eucariotas alternan entre el estado haploide y el diploide. En las bacterias y las arqueas, la reproducción y el intercambio genético son dos procesos diferentes. No hay fase diploide, y la reproducción es equivalente a la división celular. En ambos dominios procarióticos, varios mecanismos diferentes son responsables de la transferencia genética, pero son todos unidireccionales, y el DNA se transfiere de un organismo donador a uno aceptor en procesos que no implican división celular (Capítulo 11).

La interferencia por RNA (RNAi), un mecanismo principal de protección frente a virus de RNA, se en-

www.libros.com





Genoma

1 Cromosoma circular frente a lineal
2 Un cromosoma frente a muchos
3 Intrones son raros
4 Intrones de tipo arquea
5 Inteínas
6 Histonas
7 DNA-girasa
8 Girasa inversa
9 Múltiples orígenes cromosómicos
10 Complejo de reconocimiento del origen eucariótico
11 Helicasa de tipo eucariótico
12 La familia B de DNA-polimerasas es la principal enzima replicativa
13 Pinza deslizante de tipo eucariótico
14 Enzimas de restricción
15 RNAi
16 Genoma de DNA de doble cadena
17 Múltiples retroelementos en el genoma
18 Centrómeros
19 Telómeros y telomerasa

(a)

Transcripción y traducción

1 RNA utilizado como mensajero genético
2 mRNA policistrónico
3 mRNA con caperuza y cola
4 Caja TATA y secuencia BRE en el promotor
5 Los represores se unen directamente al DNA en el promotor
6 Múltiples RNA-polimerasas
7 RNA-polimerasa II con 8 o más subunidades
8 Necesarios múltiples factores de transcripción
9 Los ribosomas sintetizan las proteínas
10 Ribosomas 70S frente a 80S
11 Homologías de secuencia de los RNA ribosómicos
12 Homologías de secuencia de las proteínas ribosómicas
13 Secuencias de Shine-Dalgarno
14 Múltiples factores de traducción
15 Factor de elongación sensible a la toxina de la difteria
16 *N*-formilmetionina frente a metionina
17 tmRNA para rescatar ribosomas atascados
18 rRNA 16S y 23S
19 rRNA 18S y 5,8S

(b)

www.medilibros.com

Figura 8.4 **Rasgos moleculares de los tres dominios.** Los diagramas de Venn muestran qué características comparten los dominios y cuáles son exclusivas. *(a)* Rasgos genómicos. *(b)* Rasgos de transcripción y de traducción.

cuentra sólo en eucariotas (Sección 8.10). Por el contrario, tanto las bacterias como las arqueas producen endonucleasas de restricción (Sección 12.1) que actúan destruyendo el DNA extraño, mientras que los eucariotas carecen de enzimas de restricción.

8.4 Minirrevisión

Las bacterias y las arqueas comparten muchas propiedades relacionadas con su estructura celular simple y el tamaño de su genoma, relativamente pequeño. Además, comparten algunos rasgos genéticos fundamentales, incluyendo los cromosomas circulares, el mRNA policistrónico, las secuencias de Shine-Dalgarno, la regulación génica al estilo bacteriano, las enzimas de restricción, y los flagelos con sus bases rotantes movidos por la fuerza protomotriz.

- ¿Qué rasgos compartidos por bacterias y arqueas son debidos probablemente a la ausencia de núcleo y orgánulos rodeados por membrana?
- ¿Qué rasgos compartidos por bacterias y arqueas afectan a la transcripción y la traducción?

II BIOLOGÍA MOLECULAR EUCARIÓTICA

El hecho de que los eucariotas tengan un núcleo tiene algunas consecuencias fundamentales. Entre ellas se incluye el desensamblaje necesario del núcleo durante la división celular como se produce en la mitosis y la meiosis, y la separación física de la transcripción (nuclear) y la traducción (citoplasmática). Los eucariotas también son los únicos que llevan a cabo replicación de cromosomas lineales (en lugar de circulares) y procesamiento de mRNA, ambas cosas en el interior del núcleo. A continuación vamos a explorar brevemente cada uno de estos temas. En la **Figura 8.5** se muestra un resumen de los procesos moleculares en los eucariotas.

8.5 Genes y cromosomas en los eucariotas

En los eucariotas, los genes que codifican proteínas suelen estar divididos en dos o más regiones codificantes, conocidas como exones, con regiones no codificantes, conocidas como intrones, que las separan. En el transcrito primario se transcriben los exones y los intrones. A partir

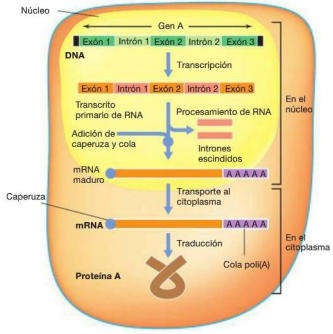


Figura 8.5 Transferencia de información en eucariotas. Antes de la traducción se eliminan las regiones no codificantes (intrones) del transcrito primario de RNA, y los exones se unen para formar el mRNA maduro. Además, se añaden una caperuza y una cola poli(A) antes de que el mRNA pueda salir del núcleo.

de éste se forma el mRNA maduro (funcional) por escisión de los intrones y empalme de los exones (Sección 8.8 y Figura 8.5). Sólo después de este proceso el mRNA sale del núcleo para ser traducido por los ribosomas en el citoplasma. Como hemos visto (Sección 8.2), unos pocos genes procarióticos tienen intrones, pero la gran mayoría no.

Contenido de DNA

Los eucariotas contienen típicamente mucho más DNA del que necesitan para codificar todas las proteínas necesarias para el funcionamiento de las células. Por ejemplo, en el genoma humano únicamente un 3% aproximadamente del DNA total codifica proteínas. Por otra parte, en procariotas esta fracción a menudo supera el 90%. El DNA «extra» en los eucariotas está presente en forma de intrones o de secuencias repetitivas, algunas de ellas repetidas cientos o miles de veces. Los microorganismos eucariotas tienen menos intrones que los eucariotas superiores. Así, un 70% del DNA de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* codifica proteínas. Además, los eucariotas suelen tener múltiples copias de determinados genes, como los que codifican tRNA y rRNA. Los genes del rRNA también se encuentran repetidos en algunos procariotas, pero normalmente sólo hay unas pocas copias.

A diferencia del cromosoma circular único de los procariotas, los eucariotas tienen múltiples cromosomas lineales en el núcleo. Como estos cromosomas están en el núcleo y los ribosomas en el citoplasma, la transcripción y la traducción son dos procesos separados espacialmente. Las señales de la expresión génica que se originan en el exterior de la célula o en el citoplasma deben transmitirse hasta el núcleo para que tengan efecto.

En los eucariotas, hay grandes cantidades de proteínas unidas al DNA en disposición regular. Las moléculas de DNA lineal que forman los cromosomas eucarióticos están enrolladas alrededor de proteínas llamadas histonas para formar estructuras denominadas *nucleosomas* (**Figura 8.6**). En los cromosomas eucarióticos, la formación del nucleosoma introduce un superenrollamiento negativo en el DNA. Los nucleosomas están espaciados a lo largo de la doble hélice en intervalos altamente regulares, y cada nucleosoma contiene aproximadamente 200 bp de DNA y nueve histonas, dos copias de cada una de las histonas centrales (H2A, H2B, H3 y H4) y una histona de enlace, H1 (Figura 8.6). Como hemos dicho anteriormente (Sección 8.1), las histonas también están presentes en arqueas; no obstante, son más cortas que las eucarióticas y se agrupan en tetrámeros.

Las histonas son proteínas cargadas positivamente que neutralizan la carga negativa del DNA causada por la presencia de grupos fosfato. De todas las proteínas conocidas, las histonas centrales eucarióticas han sido las más conservadas durante la evolución. Por ejemplo, sólo 2 de los 102 aminoácidos que componen la histona H4 son diferentes entre las vacas y los guisantes.

Este complejo de DNA más histonas recibe el nombre de cromatina. La cromatina puede ser ulteriormente

www.medilibros.com

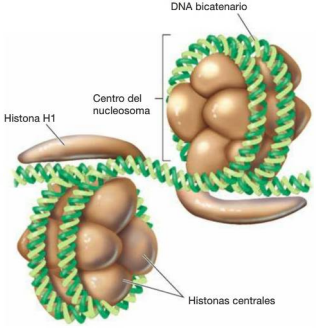


Figura 8.6 Empaquetamiento del DNA eucariótico alrededor de las histonas centrales para formar un nucleosoma. Los nucleosomas están organizados a lo largo de la cadena de DNA como cuentas de un collar. En los eucariotas, los nucleosomas consisten en un centro con ocho proteínas, dos copias de cada una de las histonas H2A, H2B, H3 y H4 y un enlace con una copia de la histona H1.

compactada mediante plegamiento y formación de bucles para formar estructuras muy densas. La cromatina altamente condensada se conoce como heterocromatina y no puede ser transcrita porque la RNA-polimerasa no puede acceder al DNA. Durante la división celular eucariótica, el DNA se condensa en heterocromatina y los cromosomas se hacen mucho más compactos. Son estos cromosomas compactados los que se visualizan en las células durante la división celular.

8.5 Minirrevisión

Debido a la presencia de un núcleo, la organización de la información genética en eucariotas es más compleja. La mayoría de genes eucarióticos tienen regiones codificantes (exones) y regiones no codificantes (intrones).

- ¿Qué consecuencias tiene la presencia de un núcleo en el flujo de información genética en eucariotas?

8.6 Visión general de la división celular eucariótica

Las células eucariotas se dividen por un proceso en el cual se replican los cromosomas, se desensambla el núcleo, se segregan los cromosomas en dos grupos y, finalmente, se vuelve a reensamblar el núcleo en cada una de las células hijas. Muchos eucariotas llevan a cabo también reproducción sexual, durante la cual se forman los gametos masculinos y femeninos y después se funden para formar el zigoto. Esta reproducción es esencialmente diferente de los procesos de apareamiento unidireccional de los procariotas (Capítulo 11).

Mitosis y meiosis

Desde un punto de vista genético, las células eucariotas pueden ser de dos formas: *haploides* o *diploides*. Las células diploides tienen dos copias de cada cromosoma, mientras que las haploides tienen sólo una. Las células de muchos eucariotas unicelulares, como la levadura de panadería, *Saccharomyces cerevisiae*, pueden existir indefinidamente en estado haploide (con 16 cromosomas) o en estado diploide (con 32 cromosomas). Ocasionalmente, dos células haploides de levadura se fundirán (se aparearán) para dar lugar a una célula diploide (Sección 18.18). No hay que confundir este proceso con la situación de las células de las plantas y los animales multicelulares. En estos organismos, la fase diploide está presente en el organismo normal, y la fase haploide se da sólo transitoriamente, en los gametos.

La **mitosis** es el proceso que sigue a la replicación del DNA en una célula eucariota. Durante la mitosis, los cromosomas se condensan, se dividen y se separan en dos grupos, uno para cada célula hija (**Figura 8.7**). Las células diploides tanto de las levaduras como de los eucariotas superiores llevan a cabo la mitosis antes de cada división celular con el fin de mantener el número diploide de cromosomas por célula. De forma similar, las células haploides de *S. cerevisiae* llevan a cabo la mitosis antes de cada división celular con el fin de mantener el número haploide de 16 cromosomas por célula (Sección 18.18).

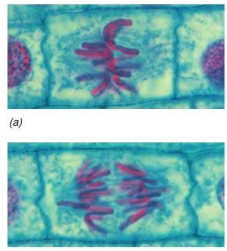


Figura 8.7 La mitosis vista al microscopio óptico. Células del ápice radicular de cebolla que han sido teñidas para observar el ácido nucleico y los cromosomas. *(a)* Metafase. Los cromosomas están apareados en el centro de la célula. *(b)* Anafase. Los cromosomas se están separando.

La **meiosis** es el proceso de conversión de la etapa diploide a la etapa haploide. La meiosis consiste en dos divisiones celulares. En la primera división meiótica, los cromosomas homólogos se segregan en células separadas, y cambian así el estado genético de diploide a haploide. La segunda división meiótica es esencialmente igual que la mitosis, ya que las dos células haploides se dividen para formar un total de cuatro gametos haploides. En los organismos superiores estos son los óvulos y el esperma; en los microorganismos eucariotas son las esporas o estructuras relacionadas.

8.6 Minirrevisión

Los microorganismos eucariotas pueden aparearse e intercambiar su DNA durante la reproducción sexual. La mitosis asegura la segregación adecuada de los cromosomas durante la división celular asexual. La meiosis genera células haploides conocidas como gametos, que se fusionan para formar un zigoto diploide.

- Si el número diploide de cromosomas humanos es 46, ¿cuántos cromosomas hay en una célula espermática humana?
- ¿Cuáles son las diferencias importantes entre la mitosis y la meiosis?

8.7 Replicación del DNA lineal

La mayoría de cromosomas procarióticos son circulares, como lo son la mayor parte de los plásmidos, algunos genomas víricos y los genomas de la mayoría de los orgánulos (Sección 13.4). A diferencia de los procariotas, el núcleo de las células eucariotas contiene DNA lineal. Prácticamente todos los pasos de la replicación del DNA son los mismos tanto si el cromosoma es lineal como si es circular. Sin embargo, hay un problema fundamental en la replicación de los elementos genéticos lineales que no se da en los circulares: la replicación del DNA en el extremos 5′ de cada cadena.

Para entender la naturaleza del problema, hay que volver a analizar la Figura 7.12. Imaginemos que el extremo izquierdo del DNA en este esquema es en realidad el extremo de un cromosoma lineal. Incluso aunque el cebador de RNA sea muy corto y exista una enzima especial para eliminarlo, ninguna DNA-polimerasa puede sustituirlo con DNA porque todas las DNA-polimerasas conocidas requieren un cebador. Por lo tanto, si no se hiciera algo para solucionar el problema, las moléculas de DNA serían más cortas cada vez que se replicaran. La replicación del DNA lineal requiere especial atención, y existen al menos dos soluciones al problema.

Replicación del DNA lineal usando una proteína cebadora

Los virus que contienen genomas de DNA lineal (esto incluye a la mayoría de virus que infectan eucariotas) y muchos plásmidos lineales resuelven el problema de la replicación del DNA lineal utilizando un cebador proteico en lugar de un cebador de RNA. Si bien todas las DNA-polimerasas deben añadir cada nucleótido a un grupo hidroxilo (OH) libre, algunas pueden añadir la primera base a un grupo hidroxilo presente en proteínas específicas que se unen a los extremos de los cromosomas lineales (**Figura 8.8**). Estas proteínas están codificadas por el plásmido o el virus, y reconocen y se unen a los extremos de los cromosomas. Estos cebadores proteicos no se eliminan, de manera que los plásmidos y los virus tienen proteínas permanentemente unidas a los extremos 5′ del DNA. Las proteínas cebadoras son también la forma de replicarse de los cromosomas lineales de algunas bacterias.

Los telómeros y la telomerasa

Hay un método especial que se utiliza para replicar los extremos de los cromosomas eucarióticos, que son los telómeros. Los telómeros contienen DNA repetitivo: una secuencia corta (normalmente 6 bp) repetida en tándem desde veinte hasta algunos cientos de veces. Las secuencias de los telómeros de diferentes eucariotas están estrechamente relacionadas entre sí, y una cadena siempre tiene varias guaninas. Durante la replicación, esta secuencia rica en guanina está presente en la cadena avanzada del DNA dúplex y puede aparearse con el extremo 3′

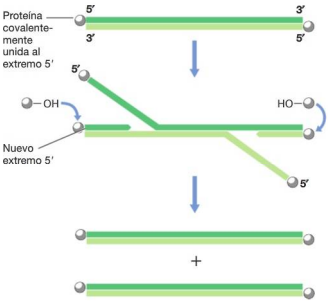


Figura 8.8 Replicación del DNA lineal usando cebadores proteicos. Las nuevas cadenas de DNA son cebadas por proteínas unidas covalentemente a sus extremos 5′. Obsérvese el grupo OH libre de la proteína. La DNA-polimerasa III puede añadir un nucleótido a este grupo OH.

de un RNA complementario presente en una enzima llamada **telomerasa** (**Figura 8.9**).

La telomerasa se activa una vez unida al extremo 3′ del saliente rico en G del DNA telomérico. La telomerasa no necesita un molde para empezar la síntesis, porque ella misma contiene un pequeño molde de RNA como cofactor. Técnicamente, la telomerasa es un tipo poco habitual de transcriptasa inversa (Sección 10.12), que sintetiza DNA utilizando RNA como molde. La telomerasa trabaja repetitivamente para sintetizar una larga extensión de la cadena avanzada. Una vez hecha esta extensión, la otra cadena (la cadena retrasada) se puede cebar con un cebador de RNA al modo habitual, y se puede replicar el DNA (Figura 8.9*b*). Los telómeros no necesitan un número exacto de repeticiones, simplemente han de ser lo suficientemente largos para asegurar que no se pierde un fragmento génico durante la replicación del DNA.

Centrómeros y cinetocoros

Además de los telómeros, los cromosomas eucarióticos contienen *centrómeros*. Los centrómeros son regiones que proporcionan un sitio de anclaje para las fibras del huso que separa los pares de cromosomas durante la mitosis (**Figura 8.10**). Los centrómeros no pueden estar situados demasiado cerca de los extremos de los cromosomas y suelen estar más o menos centrados. El término cinetocoro se refiere a un ensamblaje complejo de proteínas que se une al DNA en la región centromérica de las fibras del huso.

A diferencia de los telómeros, los centrómeros varían enormemente en cuanto a secuencia y longitud de un or-

www.medilibros.com

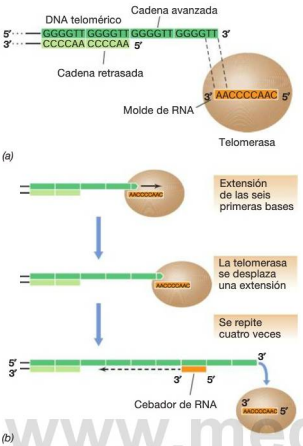


Figura 8.9 Modelo de la actividad de la telomerasa en un extremo del cromosoma eucariótico. *(a)* Esquema de la secuencia del extremo del DNA en un telómero, con cuatro de las repeticiones ricas en guanina y la enzima telomerasa, que contiene un pequeño molde de RNA. *(b)* Etapas en la elongación de la cadena rica en guaninas catalizada por la telomerasa. Cuando la telomerasa termina, la primasa puede cebar la cadena retrasada con un cebador de RNA, y después completarse la cadena retrasada con la DNA-polimerasa y la ligasa. *(c)* Preparación de cromosomas procedentes de células HeLa teñidos con colorantes fluorescentes. Los puntos rojos son telómeros de cadenas avanzadas, y los puntos verdes son telómeros de cadenas retrasadas.

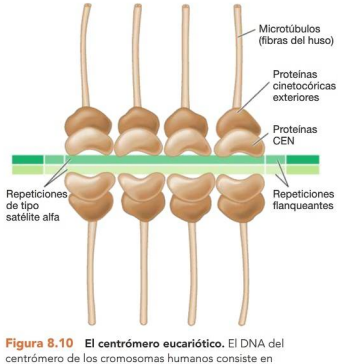


Figura 8.10 El centrómero eucariótico. El DNA del centrómero de los cromosomas humanos consiste en repeticiones múltiples de 171 bp flanqueadas por otras repeticiones, todas ellas condensadas en heterocromatina. Las proteínas CEN se unen directamente al DNA centromérico, y otras proteínas que forman el complejo del cinetocoro se ensamblan sobre las proteínas CEN. Los microtúbulos que forman el huso se unen al cinetocoro.

www.medilibros.com

ganismo eucariota a otro. En animales superiores, como los humanos, el centrómero consiste en múltiples secuencias repetidas esparcidas por cerca de 1 Mbp, mientras que en *Saccharomyces cerevisiae,* la secuencia centromérica total tiene 125 bp de longitud. La corta secuencia centromérica de la levadura es una suerte desde el punto de vista de la ingeniería genética, porque el mantenimiento estable y la replicación de los plásmidos u otros vectores de clonación requiere la presencia de una secuencia centromérica (Sección 12.13). Una secuencia corta reduce el espacio necesario en el vector dedicado al centrómero.

8.7 Minirrevisión

Los extremos del DNA lineal suponen un problema para la maquinaria de la replicación que no tienen las moléculas de DNA circular. Algunas moléculas de DNA lineal de procariotas y virus resuelven el problema utilizando un cebador proteico. Los eucariotas utilizan una enzima especial llamada telomerasa para extender una cadena de DNA.

- ¿Cómo puede una proteína actuar de cebador del RNA en la replicación?
- ¿Qué es la telomerasa y cuál es su función?
- ¿Por qué son importantes los centrómeros?

8.8 Procesamiento del RNA

En el Capítulo 7 aprendimos que en el proceso de transcripción se forma el RNA a partir de un molde de DNA (Sección 7.9). El RNA producto de la transcripción se conoce como transcrito primario. No obstante, muchas moléculas de RNA necesitan modificaciones —conocidas como **procesamiento del RNA**— antes de estar maduras, es decir, listas para llevar a cabo su función en la célula.

Como ya hemos visto, muchos genes eucarióticos contienen secuencias intercaladas, los intrones, entre las regiones codificantes de proteínas, los exones. Estas secuencias intercaladas se eliminan del transcrito primario. El RNA se corta para eliminar los intrones, y los exones se unen para formar una secuencia codificante continua en el mRNA maduro (Figura 8.5). El proceso por el que los intrones se eliminan y los exones se unen se llama *corte y empalme* (en inglés *splicing*). En procariotas se encuentran algunos intrones, pero el mecanismo de eliminación es diferente. (*Véase* también el Panel microbiano «Inteínas y empalme de proteínas».)

El espliceosoma

El proceso de corte y empalme del RNA tiene lugar en el núcleo. Es realizado por un gran complejo macromolecular del tamaño aproximado de un ribosoma, llamado **espliceosoma.** El espliceosoma elimina los intrones y junta los exones adyacentes para formar el mRNA maduro (**Figura 8.11**). El espliceosoma contiene cuatro grandes complejos RNA-proteínas llamados ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (snRNP), junto con muchos factores proteicos; de hecho, unas 100 proteínas participan en su actividad. Cada snRNP contiene moléculas de RNA no codificante conocidas como RNA nuclear pequeño (snRNA) que reconocen secuencias en el transcrito primario por apareamiento de bases. En concreto, algunas de las moléculas de snRNA reconocen secuencias conservadas en los puntos de corte.

Una vez que el snRNA ha localizado las uniones de corte de ambos extremos de un intrón, las proteínas del espliceosoma cortan el intrón y unen los exones flanqueantes entre sí. El intrón es eliminado como una estructura en forma de lazo (Figura 8.11) que es posteriormente degradado, con la consiguiente liberación de nucleótidos. Muchos genes, especialmente en animales y plantas superiores, tienen muchos intrones, de modo que es muy importante que el espliceosoma los reconozca y los elimine para generar el RNA maduro final.

Adición de la caperuza y de la cola poli(A)

Hay otros dos procesos exclusivos del procesamiento del mRNA eucariótico. Ambos tienen lugar en el núcleo antes del corte y empalme. El primero, la *adición de la caperuza,* tiene lugar antes de que la transcripción esté terminada. La adición de la caperuza es la unión de un nucleótido de guanina metilada en el extremo 5′-fosfato del mRNA. El nucleótido caperuza se añade en orientación invertida respecto al resto de la molécula de mRNA. Ocasionalmente se modifican por metilación otros nucleótidos cercanos al extremo 5′ del mRNA eucariótico durante la adición de la caperuza. La caperuza de guanosina es necesaria para la traducción y promueve la formación del complejo de iniciación entre el mRNA y el ribosoma mediante proteínas específicas de unión a la caperuza (Sección 8.9).

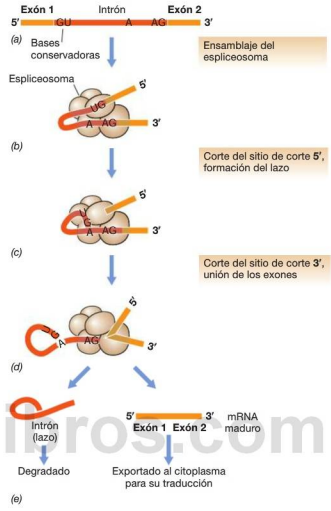


Figura 8.11 Actividad del espliceosoma. Eliminación de un intrón del transcrito de un gen codificante para proteína en un eucariota. *(a)* Un transcrito primario que contiene un solo intrón. La secuencia GU está conservada en el sitio de corte 5′ y lo mismo sucede con la secuencia AG en el sitio 3′. También hay una A interior que sirve como punto de ramificación. *(b)* Varias partículas pequeñas de ribonucleoproteína (en marrón) se ensamblan sobre el RNA para formar un espliceosoma. Cada una de estas partículas contiene distintas moléculas de RNA pequeño que actúan en el mecanismo de corte y empalme. *(c)* El sitio de corte en 5′ ha sido cortado con la formación simultánea de un punto de ramificación. *(d)* El sitio de corte en 3′ se ha cortado y los dos exones se han empalmado. Obsérvese que en total se han cortado dos enlaces fosfodiéster, pero se han formado otros dos. *(e)* Los productos finales son los exones empalmados (el mRNA) y el intrón liberado.

www.libros.com

Inteínas y empalme de proteínas

Un tipo muy poco habitual de procesamiento elimina y descarta porciones de una proteína para después volver a conectar los dominios de la proteína activa. El corte de las secuencias intercaladas no codificantes que fragmentan los genes se hace, normalmente, a nivel del RNA, como se ha explicado en la Sección 8.8. En este caso, los intrones son eliminados durante el procesamiento del transcrito primario para producir el mRNA maduro final, formado por exones. Sin embargo, se conocen unos pocos ejemplos de secuencias intercaladas que son eliminadas a nivel de la proteína en lugar del RNA. El proceso se denomina **empalme de proteínas,** el péptido eliminado es una **inteína** y la proteína madura final está formada por **exteínas.**

El empalme de proteínas es raro en general, pero se ha encontrado en proteínas de arqueas, de bacterias, de cloroplastos y de eucariotas inferiores. Respecto al número de organismos descritos, las inteínas son más frecuentes en las arqueas. Normalmente hay una sola inteína por proteína, pero se conocen ejemplos sueltos en que hay dos inteínas insertadas en la misma proteína.

En la **Figura 1** se muestra cómo funciona el empalme de proteínas en la producción de la DNA-girasa en la bacteria *Mycobacterium leprae*, el agente causante de la lepra (Sección 34.5). La subunidad A de la DNA-girasa de *M. leprae* es la proteína GyrA, codificada por el gen gyrA (Figura 1). Obsérvese que las secuencias flanqueantes del polipéptido GyrA, las exteínas, se unen entre sí para formar la proteína girasa activa final, mientras que las inteínas son descartadas (Figura 1). Curiosamente, las inteínas son entidades autoempalmantes y tienen, por tanto, la actividad enzimática de una proteasa altamente específica.

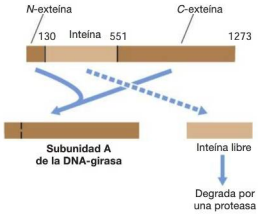


Figura 1 Empalme de proteínas. La proteína sintetizada a partir del mRNA gyrA en *Mycobacterium leprae* tiene 1.273 aminoácidos de longitud. La *N*-exteína es la exteína aminoterminal y la *C*-exteína es la exteína carboxiterminal. Los residuos del 131 al 550 constituyen una inteína, que se elimina a sí misma en una reacción de autoempalme que genera la inteína libre y la subunidad A de la DNA-girasa.

Además de unir dos exteínas, la inteína autoempalmada tiene una segunda actividad enzimática: actúa como desoxirribonucleasa específica de sitio (DNasa). Su función es proteger la existencia de la inteína. Si se produce una mutación que borrara la secuencia de inteína del centro del gen hospedador, la célula hosperadora no resultaría dañada, pero se perdería la inteína. Sin embargo, la DNasa de la inteína cortaría el DNA de dicha célula hospedadora en el centro del gen hospedador. Esto, probablemente, mataría cualquier célula que borrara la inteína inútil. Sólo las células que mantienen la inteína sobreviven. Este corte se produce en el sitio donde normalmente está inserta la inteína; por lo tanto, los genes hospedadores con una inteína no son cortados porque la secuencia de reconocimiento de la nucleasa está alterada por la presencia de la secuencia de DNA de la inteína. Las inteínas son innecesarias para la supervivencia de la célula, y el DNA que codifica la inteína puede considerarse como una forma de DNA egoísta (es decir, DNA que promueve su propia supervivencia pero no aporta ningún beneficio a la célula huésped). El origen de las inteínas aún no está claro.

Las inteínas han encontrado aplicaciones en la biotecnología. Las proteínas transportadoras fusionadas con una proteína diana suelen usarse para facilitar la purificación de proteínas (Sección 26.2). Sin embargo, tras la purificación la transportadora debe eliminarse. Para llevar a cabo esta función se han modificado las inteínas como proteínas transportadoras. Una vez que la proteína diana ha sido purificada, la inteína se activa para cortarse a sí misma. Esto libera la proteína diana purificada sin la necesidad de etapas adicionales, potencialmente complicadas.

www.medilibros.com

La segunda etapa del procesamiento consiste en recortar el extremo 3′ del mRNA precursor y añadirle entre 100 y 200 residuos de adenilato en forma de *cola poli(A)*. Las moléculas de mRNA precursor tienen una secuencia de reconocimiento de cola, AAUAAA, cerca del extremo 3′ y después del codón de parada de la proteína codificada por el mRNA. (De este modo, la cola poli(A) no es traducida.) La cola poli(A) estabiliza el mRNA y debe eliminarse antes de que el mRNA sea degradado. La cola poli(A) también es necesaria para la traducción: indica a la maquinaria de traducción que se trata de mRNA en lugar de cualquier otra forma de RNA y que está listo para su traducción. Las tres etapas que conducen a la formación de mRNA eucariótico maduro se resumen en la **Figura 8.12**. Sólo cuando se han realizado las tres se transporta el mRNA maduro al citoplasma para su traducción.

Algunos mRNA bacterianos también están poliadenilados, aunque sus colas son relativamente cortas (10-40 bases) y la enzima que añade la cola poli(A) está asociada a los ribosomas. Además, la función de la cola poli(A) en el mRNA bacteriano es bastante diferente de la del mRNA eucariótico, ya que la cola poli(A) activa su autodegradación. De manera similar, la adición de una cola poli(A) al mRNA de cloroplastos promueve su degradación, hecho que está relacionado con el ancestro procariota de estos orgánulos (Sección 18.14).

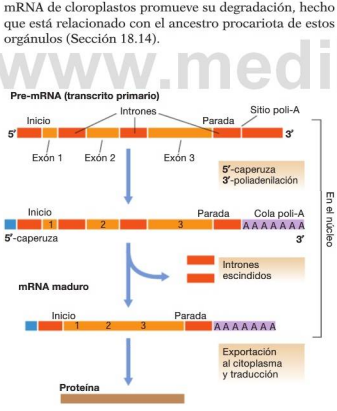


Figura 8.12 Visión general del procesamiento del pre-mRNA a mRNA maduro en eucariotas. Las etapas de procesamiento incluyen la adición de la caperuza en el extremo 5′, la eliminación de los intrones, el recorte del extremo 3′ del transcrito y la adición de una cola poli-A. Todas estas etapas se llevan a cabo en el núcleo. Se indica la ubicación de los codones de inicio y de parada que se usarán durante la traducción.

Intrones de autoempalme

Algunos RNA tienen actividad enzimática. Estos RNA catalíticos, llamados **ribozimas,** participan en algunas reacciones celulares, de las cuales la más importante es la síntesis de polipéptidos (Sección 7.15). Los ribozimas funcionan como enzimas proteicos en que tienen un «centro activo» al que se une el sustrato y que cataliza la formación de un producto (Sección 5.5).

Los **intrones autoempalmantes** son intrones que se pliegan para generar estructuras tridimensionales con actividad ribozimática. Esta actividad enzimática les permite escindirse de una molécula de RNA mientras empalman exones adyacentes. La mayoría de intrones de autoempalme se encuentran en los genes de mitocondrias y cloroplastos. Otros están presentes en el rRNA (pero no en el mRNA) de los eucariotas inferiores, como los ciliados unicelulares *Tetrahymena*. En este caso, un intrón de 413 nucleótidos se corta a sí mismo de un rRNA precursor más largo y une dos exones adyacentes para formar el rRNA maduro (**Figura 8.13**). Este ribozima de *Tetrahymena* es, pues, una endorribonucleasa específica de secuencia que lleva a cabo una reacción análoga a la del espliceosoma (Figura 8.11). Una vez eliminado del RNA precursor, el intrón se circulariza tras la eliminación de un corto fragmento oligonucleotídico (Figura 8.13). El fragmento circular del intrón de *Tetrahymena* es posteriormente degradado por la célula.

Se conocen dos clases principales de intrones autoempalmantes. Los que necesitan una guanosina libre en la reacción de empalme, como el intrón de *Tetrahymena* de la Figura 8.13, son intrones del grupo I. Por otra parte, los intrones del grupo II utilizan un residuo interno de adenosina para iniciar el proceso de empalme y generar un lazo similar al producido por el espliceosoma (Figura 8.11).

Aunque catalizan una reacción específica exactamente igual que lo hacen las proteínas, los ribozimas de los intrones de autoempalme se diferencian de las enzimas proteicas en algo fundamental. A diferencia de las enzimas proteicas, un ribozima autoempalmante cataliza su reacción *sólo una vez.* (Obsérvese que esto no es cierto para los ribozimas en conjunto. De hecho, algunos ribozimas catalizan múltiples reacciones, igual que hacen las enzimas proteicas.)

¿Por qué existen los ribozimas en un mundo en que dominan las enzimas proteicas? Se ha propuesto que los ribozimas son los vestigios de una forma de vida más simple, «la vida de RNA», que antecedió a la era en la que las proteínas son los principales catalizadores celulares. De hecho, es posible que existiera un mundo de RNA antes de que evolucionaran las estructuras celulares. Analizaremos este concepto más a fondo en el Capítulo 14. Aunque las proteínas han sustituido a las enzimas de RNA en la mayoría de las áreas de la biocatálisis, quedan algunas reacciones que siguen siendo catalizadas por el RNA. Es posible que se trate de las últimas reminiscencias del mundo de RNA, o bien que sean reacciones que las enzimas proteicas catalizan de manera muy poco eficiente y por tanto es necesaria la catálisis por RNA.

www.medi...com

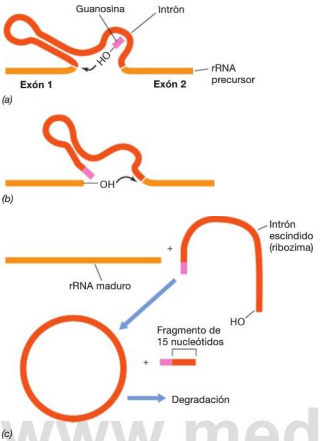


Figura 8.13 Intrón ribozimático autoempalmante del protozoo *Tetrahymena*. Estas moléculas tienen una estructura secundaria considerable, que es fundamental para la reacción de empalme. *a)* Un rRNA precursor contiene un intrón de 413 nucleótidos. *b)* Después de la adición del nucleósido guanosina, el intrón se corta a sí mismo y empalma los dos exones. *c)* El intrón es cortado y a continuación se circulariza con la pérdida de un fragmento de 15 nucleótidos.

8.8 Minirrevisión

El procesamiento de los mRNA precursores eucarióticos es único y tiene tres etapas distintas: corte y empalme, adición de la caperuza y adición de la cola. Sólo después de haber sido procesado, el mRNA sale al núcleo para ser traducido. Los intrones de algunos transcritos son autoempalmantes, y el propio RNA cataliza la reacción. Las moléculas de RNA con actividad catalítica reciben el nombre de ribozimas y juegan un papel muy importante en la célula.

- ¿En qué consiste el proceso de corte y empalme, dónde se produce y qué es necesario para que ocurra?
- ¿De qué está formada la caperuza y dónde está situada en el mRNA eucariótico?
- ¿Qué pequeña molécula necesitan todos los intrones del grupo I para su actividad enzimática?

8.9 Transcripción y traducción en eucariotas

Las estrechas relaciones genéticas entre *Archaea* y *Eukarya* son lo más destacable en las comparaciones de la maquinaria celular para la transcripción y la traducción en los tres dominios de la vida. Las RNA-polimerasas de todas las fuentes contienen algunas subunidades que han sido evolutivamente conservadas. Sin embargo, fieles a sus raíces filogenéticas, las RNA-polimerasas de arqueas y de eucariotas son más similares y estructuralmente más complejas que las de las bacterias. Igualmente, la síntesis de proteínas en arqueas y en eucariotas comparte algunos rasgos que contrastan con los de las bacterias (Sección 8.3).

Transcripción en eucariotas

Los eucariotas tienen múltiples RNA-polimerasas, a diferencia de las especies de bacterias y arqueas, que sólo tienen una. El núcleo eucariótico contiene tres RNA-polimerasas, las RNA-polimerasas I, II y III, que transcriben diferentes categorías de genes nucleares. La RNA-polimerasa única de las arqueas se parece mucho a la RNA-polimerasa II. Mientras las bacterias contienen una RNA-polimerasa relativamente simple (cuatro polipéptidos), la RNA-polimerasas de las arqueas y los eucariotas tienen ocho o más subunidades (**Figura 8.14**). Los orgánulos rodeados de membrana, mitocondrias y cloroplastos, también poseen RNA-polimerasas, pero éstas se parecen más a la enzima bacteriana.

La RNA-polimerasa I eucariótica transcribe los genes para las dos moléculas más largas de rRNA, el 18S y el 28S. La RNA-polimerasa III transcribe los genes para los tRNA, el rRNA 5S y otras moléculas pequeñas de RNA. Los genes que codifican proteínas son transcritos por la RNA-polimerasa II, que es, por tanto, la responsable de la síntesis de todos los mRNA de la célula. Cada RNA-polimerasa reconoce una clase diferente de promotores. Por su parte, en los procariotas el promotor de un gen que codifica una proteína será idéntico al promotor de un gen que codifica un tRNA.

En la **Figura 8.15** se muestra el dibujo de una RNA-polimerasa II uniéndose a un promotor en el DNA. Este promotor contiene una caja TATA, una secuencia conservada similar, en algunos aspectos, a la caja Pribnow de los promotores bacterianos (Figura 7.22). El promotor también contiene un elemento iniciador muy cerca del sitio de inicio de la transcripción. Estas dos regiones son elementos fundamentales de los promotores eucarióticos, aunque puede haber otras secuencias en un promotor dado.

Como sucede en las arqueas, las RNA-polimerasas eucarióticas necesitan factores de transcripción para reconocer promotores específicos. No obstante, estas proteínas (y las de las arqueas) reconocen el promotor de manera independiente, y no como parte del holoenzima de la polimerasa como sucede en las bacterias (Figu-

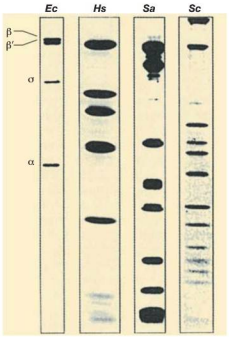


Figura 8.14 RNA-polimerasa y filogenia. RNA-polimerasas de organismos representativos de los tres dominios: Ec, *Escherichia coli (Bacteria)*; HS, *Halobacterium salinarum (Archaea)*; Sa, *Sulfolobus acidocaldarius (Archaea)*; y Sc, *Saccharomyces cerevisiae (Eukarya)*. Los componentes purificados de las RNA-polimerasas se separaron por electroforesis en gel de poliacrilamida. Las mayores subunidades polipeptídicas están en la zona superior, y las más pequeñas en la parte inferior. Sólo los miembros de *Bacteria* contienen la RNA-polimerasa simple (cuatro polipéptidos).

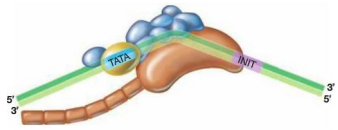


Figura 8.15 Interacción de la RNA-polimerasa II eucariótica con un promotor. La polimerasa (en marrón) se sitúa en el elemento iniciador (INIT) del promotor. Se muestra una proteína de unión a la caja TATA (en amarillo) unida. La polimerasa tiene una secuencia aminoacídica repetitiva en un extremo (que se muestra como una estructura similar a una cola) que se puede fosforilar, lo que afecta a la actividad de la polimerasa. Las otras proteínas que aparecen en azul son algunos de los muchos factores accesorios necesarios para la iniciación de la trascripción en eucariotas.

ra 7.22). Los factores de transcripción generales son necesarios para el funcionamiento de todos los promotores reconocidos por una RNA-polimerasa concreta. Por otra parte, los factores de transcripción específicos son necesarios para la expresión de determinados genes en circunstancias específicas.

Traducción en eucariotas

La síntesis de proteínas por los ribosomas eucarióticos es más compleja, en general, que en las bacterias. Los ribosomas citoplasmáticos de las células eucariotas (ribosomas 80S) son más grandes que los bacterianos (70S) y contienen más moléculas de rRNA y más proteínas. En concreto, la subunidad ribosómica grande contiene tres moléculas de rRNA, la 5S, la 5,8S y la 28S. El rRNA 5,8S es homólogo al extremo 5′ del rRNA 23S bacteriano, de manera que los rRNA eucarióticos 5,8S y 28S en conjunto se pueden considerar equivalentes al rRNA 23S bacteriano. Los eucariotas también tienen más factores de iniciación y un proceso de iniciación más complejo. (Obsérvese que las células eucariotas también contienen ribosomas de tipo bacteriano en sus mitocondrias y cloroplastos. El término «ribosomas eucarióticos» se refiere a los encontrados en el *citoplasma* eucariótico y cuyos componentes son codificados por genes nucleares.) Estas diferencias se resumen en la **Tabla 8.2**.

En los procariotas, tanto bacterias como arqueas, el mRNA es policistrónico y puede traducirse para obtener varias proteínas. En eucariotas, el mRNA porta sólo un gen, que es traducido a una sola proteína. Es decir, el mRNA eucariótico es monocistrónico (Figura 8.5).

La iniciación de la síntesis proteica difiere significativamente entre los tres dominios. Todos los organismos tienen un tRNA iniciador especial que reconoce el codón de inicio e introduce el primer aminoácido. Las bacterias empiezan sus proteínas con N-formilmetionina, mientras que los eucariotas y las arqueas utilizan metionina. Sin embargo, a diferencia del mRNA de bacterias y de arqueas, el mRNA eucariótico no tiene un sitio de unión a ribosoma (secuencia de Shine-Dalgarno). En cambio, es reconocido por su caperuza (Sección 8.8). Una proteína específica, la proteína de unión a la caperuza, se une tanto a la caperuza como al ribosoma. El primer AUG que se encuentra en el mRNA se utiliza normalmente como codón de inicio en eucariotas. Además, el orden de ensamblaje del complejo de iniciación ribosómico es diferente: en eucariotas, el iniciador Met-tRNA se une a la subunidad ribosómica pequeña antes que el mRNA (al contrario que sucede en las bacterias).

Por último, la traducción en las células eucariotas es inhibida por una toxina proteica sintetizada por la bacteria *Corynebacterium diphteriae*, el agente causante de la difteria. De hecho, esta toxina puede matar las células y es un factor importante en la patología de la enfermedad (Sección 34.3). En línea con las muchas similitudes en los mecanismos traduccionales de arqueas y eucariotas, la toxina diftérica también inhibe la traducción en las células de las arqueas, pero no tiene ningún efecto en el proceso bacteriano (Tabla 8.2).

Tabla 8.2 Comparación de la traducción

Bacterias	*Arqueas*	*Eucariotas* (citoplasma)
Transcripción y traducción acopladas	Transcripción y traducción acopladas	Transcripción y traducción no acopladas para genes nucleares
mRNA policistrónico	mRNA policistrónico	mRNA monocistrónico
mRNA sin caperuza	mRNA sin caperuza	extremo 5′ del mRNA reconocido por su caperuza
El codón de inicio es el primer AUG tras la secuencia de Shine-Dalgarno	A menudo el codón de inicio es el primer AUG tras la secuencia de Shine-Dalgarno	Se utiliza el primer AUG del mRNA No hay sitio de unión al ribosoma
El primer aminoácido en la formilmetionina	La primera metionina no está modificada	La primera metionina no está modificada
Ribosomas 70S con subunidades 30S y 50S	Ribosomas 70S con subunidades 30S y 50S	Ribosomas 80S con subunidades 40S y 60S
rRNA de la subunidad pequeña: 16S (1.500 nucleótidos)	rRNA de la subunidad pequeña: 16S (1.500 nucleótidos)	rRNA de la subunidad pequeña: 18S (2.300 nucleótidos)
rRNA de la subunidad grande: 23S (2.900 nucleótidos) y 5S (120 nucleótidos)	rRNA de la subunidad grande: 23S (2.900 nucleótidos) y 5S (120 nucleótidos)	rRNA de la subunidad grande: 28S (4.200 nucleótidos), 5,8S (160 nucleótidos) y 5S (120 nucleótidos)
Homología de proteínas: bacteriana	Homología de proteínas: eucariótica	Homología de proteínas: eucariótica
Homología de rRNA: bacteriana	Homología de rRNA: eucariótica	Homología de rRNA: eucariótica
No es inhibida por la toxina diftérica	Es inhibida por la toxina diftérica	Es inhibida por la toxina diftérica
Dos factores de elongación	Múltiples factores de elongación	Múltiples factores de elongación
Tres factores de iniciación	Múltiples factores de iniciación	Múltiples factores de iniciación

www.medilibros.com

8.9 Minirrevisión

En los eucariotas, las clases principales de RNA son transcritas por diferentes RNA-polimerasas, siendo la RNA-polimerasa II la responsable de transcribir el mRNA. La traducción en eucariotas implica ribosomas más grandes y más factores de iniciación. Los eucariotas empiezan cada cadena polipeptídica con una metionina sin modificar.

- ¿Qué tipo de RNA-polimerasa eucariótica se parece más a la RNA-polimerasa de las arqueas?
- En los eucariotas, ¿qué tipo de genes son transcritos por las RNA-polimerasas I y III?
- ¿Cómo es reconocido el mRNA por el ribosoma en eucariotas?

8.10 Interferencia por RNA (RNAi)

Las células sanas contienen DNA bicatenario y RNA monocatenario, pero no RNA bicatenario (dsRNA). La presencia de dsRNA normalmente indica la presencia de genoma vírico de RNA en la célula. Obsérvese que incluso si el virión de un virus de RNA contiene RNA monocatenario, el genoma del virus debe atravesar un estadio de doble cadena (la forma replicativa) durante la replicación. **La interferencia por RNA** (RNAi) es un mecanismo que corta el RNA de doble cadena y destruye cualquier ssRNA (normalmente mRNA) que corresponde a la secuencia diana del dsRNA. La interferencia por RNA se encuentra sólo en eucariotas, incluyendo protozoos, animales y plantas. No se ha encontrado en bacterias ni en arqueas. (En bacterias, la ribonucleasa III degrada rápidamente las moléculas de dsRNA, incluso de sólo 12 bp.)

El sistema RNAi es activado por dsRNA mayor de 20 bp de longitud. Las moléculas de dsRNA más largas son cortadas en fragmentos de 21-23 bp por una nucleasa específica de dsRNA conocida como *Dicer* (tajadora). Estos fragmentos cortos de dsRNA reciben el nombre de **RNA interferente pequeño** (siRNA) y se unen al complejo silenciador inducido por RNA (RISC). El complejo RISC reconoce y destruye el RNA monocatenario cuya secuencia corresponde al siRNA (**Figura 8.16**). En la práctica, este RNA monocatenario normalmente es mRNA sintetizado por el virus de RNA infectante. Para lograr esto, el complejo RISC separa el siRNA en sus dos cadenas. Cualquier RNA monocatenario más largo en la célula que se aparee con estos fragmentos es cortado por la nucleasa *Slicer* (rebanadora), que forma parte del RISC.

El efecto del sistema RNAi se puede extender de célula a célula y viajar a lo largo de un organismo. Este

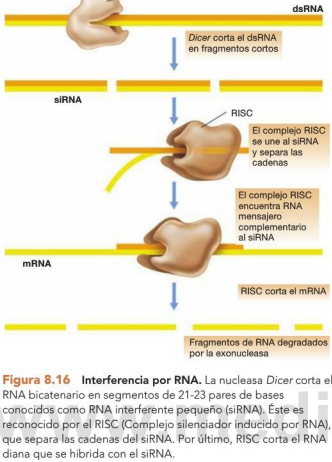


Figura 8.16 **Interferencia por RNA.** La nucleasa *Dicer* corta el RNA bicatenario en segmentos de 21-23 pares de bases conocidos como RNA interferente pequeño (siRNA). Éste es reconocido por el RISC (Complejo silenciador inducido por RNA), que separa las cadenas del siRNA. Por último, RISC corta el RNA diana que se hibrida con el siRNA.

efecto es especialmente notable en plantas. La propagación es debida a la copia de los siRNA por parte de una enzima conocida como RNA-polimerasa dependiente de RNA (RdRP). Después, los siRNA viajan de célula a célula a través de conexiones intercelulares llamadas plasmodesmos. En los animales inferiores, como *Caenorhabditis elegans*, el efecto RNAi puede «heredarse» a lo largo de varias generaciones. Sin embargo, los mamíferos no poseen el RdRP necesario para amplificar el mecanismo RNAi, de modo que el efecto se mantiene localizado y no puede transmitirse.

8.10 Minirrevisión

En los eucariotas, el mecanismo de interferencia por RNA (RNAi) destruye los mRNA extraños. El mecanismo RNAi es activado por la presencia de RNA bicatenario y protege de la infección por virus de RNA.

- ¿Qué activa la interferencia por RNA y cuál es el resultado?
- ¿Cómo se extiende el efecto RNA a lo largo de una planta o un animal inferior?

www.elibros.com

Glosario de términos

Empalme de proteínas: eliminación de secuencias intercaladas de una proteína.

Espliceosoma: complejo de ribonucleoproteínas que cataliza la eliminación de intrones de los transcritos primarios de RNA.

Exón: cada una de las secuencias de DNA codificante en un gen escindido (compárese con intrón).

Exteína: porción de una proteína que permanece y tiene actividad biológica tras la eliminación de las inteínas.

Girasa inversa: enzima que introduce superenrollamiento positivo en el DNA.

Histonas: proteínas básicas que protegen y compactan el DNA en eucariotas y arqueas.

Inteína: secuencia intercalada en una proteína; segmento de una proteína que puede autoescindirse.

Interferencia por RNA (RNAi): respuesta activada por la presencia de RNA bicatenario y produce la degradación de ssRNA homólogos al dsRNA inductor.

Intrón: secuencia intercalada de DNA no codificantes en un gen escindido (compárese con exón).

Intrón autoempalmante: intrón que posee actividad ribozimática y se corta a sí mismo.

Meiosis: forma especializada de división nuclear que divide el número diploide de cromosomas y lo convierte en haploide para los gametos eucarióticos.

Mitosis: forma normal de división celular en las células eucariotas en que los cromosomas se replican y se dividen en dos núcleos hijos.

Nucleosoma: complejo esférico de DNA eucariótico más histonas.

Procesamiento del RNA: conversión de un RNA precursor en su forma madura.

Ribozima: RNA catalítico.

RNA interferente pequeño (siRNA): moléculas cortas de RNA bicatenario que activan el mecanismo de interferencia por RNA.

Telomerasa: complejo enzimático que replica el DNA en los extremos de los cromosomas eucarióticos.

Transcrito primario: molécula de RNA sin procesar que es el producto directo de la transcripción.

Preguntas de repaso

1. Cite al menos cinco rasgos de las arqueas que diferencien claramente a los miembros de este dominio de las bacterias (Secciones 8.1-8.3).
2. Describa los rasgos comunes de las secuencias promotoras en arqueas y en eucariotas (Sección 8.2).
3. Compare la traducción en las arqueas con la traducción en los otros dos dominios (Sección 8.3 y 8.9).
4. Cite al menos cinco rasgos de las células eucariotas que las diferencien claramente de los dos tipos de células procariotas (Sección 8.4).
5. ¿Por qué los genes eucarióticos son más largos que los genes correspondientes en las bacterias (Sección 8.5)?
6. Compare y contraste los procesos de mitosis y meiosis. ¿Qué proceso es absolutamente necesario para el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* y por qué (Sección 8.6)?
7. ¿Por qué se perderían genes del DNA eucariótico en ausencia de actividad telomerasa (Sección 8.7)?
8. ¿Por qué el mRNA eucariótico tiene que ser procesado, mientras que en la mayoría de RNA procarióticos esto no es necesario?
9. ¿Cuántas RNA-polimerasas tiene una célula eucariota (Sección 8.9)? ¿Qué RNA-polimerasa es similar a la RNA-polimerasa de las arqueas?
10. ¿Cuál es el objetivo de la interferencia por RNA?

Ejercicios prácticos

1. Tanto las arqueas como las bacterias tienen cromosomas circulares únicos. Sugiera posibles razones de esta similitud.
2. Las células eucariotas normalmente tienen genomas mucho más largos que las procariotas. Cite tres razones de por qué esto no es sorprendente.
3. Las células eucariotas suelen tener genes interrumpidos que contienen intrones, mientras que las procariotas no. Sugiera posibles razones de esta diferencia.

www.edilibros.com

9

Regulación de la expresión génica

I GENERALIDADES DE LA REGULACIÓN 246
9.1 Principales tipos de regulación 246

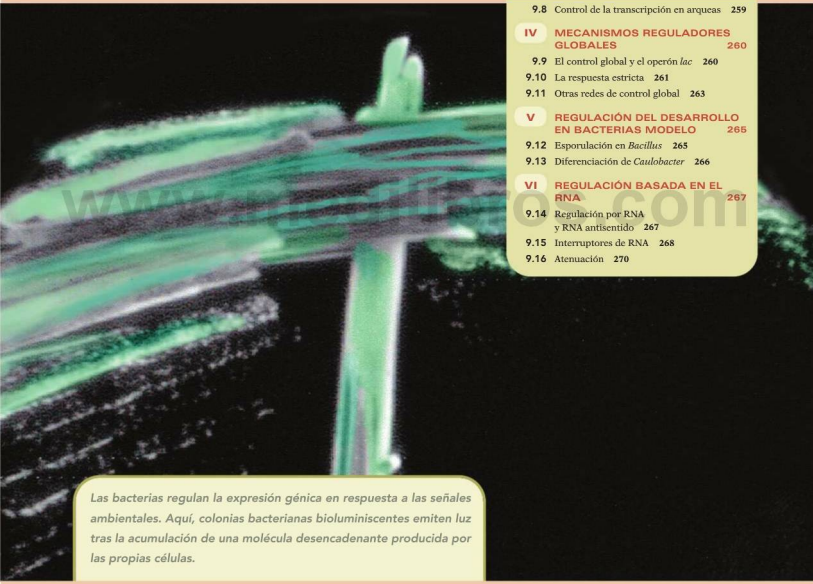
II PROTEÍNAS DE UNIÓN AL DNA Y REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN 247
9.2 Proteínas de unión al DNA 247
9.3 Control negativo de la transcripción: represión e inducción 249
9.4 Control positivo de la transcripción 251

III PERCEPCIÓN Y TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL 253
9.5 Sistemas reguladores de dos componentes 253
9.6 Percepción de quórum 255
9.7 Regulación de la quimiotaxis 257
9.8 Control de la transcripción en arqueas 259

IV MECANISMOS REGULADORES GLOBALES 260
9.9 El control global y el operón *lac* 260
9.10 La respuesta estricta 261
9.11 Otras redes de control global 263

V REGULACIÓN DEL DESARROLLO EN BACTERIAS MODELO 265
9.12 Esporulación en *Bacillus* 265
9.13 Diferenciación de *Caulobacter* 266

VI REGULACIÓN BASADA EN EL RNA 267
9.14 Regulación por RNA y RNA antisentido 267
9.15 Interruptores de RNA 268
9.16 Atenuación 270



Las bacterias regulan la expresión génica en respuesta a las señales ambientales. Aquí, colonias bacterianas bioluminiscentes emiten luz tras la acumulación de una molécula desencadenante producida por las propias células.

www.libreriaelmolino.com

En los Capítulos 7 y 8 vimos que la información genética almacenada en forma de secuencia de nucleótidos en un gen puede transcribirse a RNA en células de los tres dominios de la vida. Posteriormente se traduce esta información para producir un polipéptido específico. En conjunto, estos procesos reciben el nombre de **expresión génica**. La mayoría de proteínas son enzimas (Sección 5.5) que llevan a cabo cientos de reacciones bioquímicas diferentes necesarias para el crecimiento celular. No obstante, para tener éxito en la naturaleza, los microorganismos deben responder rápidamente a los cambios en su entorno. Para organizar eficientemente las numerosas reacciones que ocurren en una célula y hacer el mejor uso de los recursos disponibles, las células necesitan *regular* los tipos y las cantidades de macromoléculas que generan. Esta regulación metabólica es el elemento central de este Capítulo.

I GENERALIDADES DE LA REGULACIÓN

Hay proteínas y moléculas de RNA que son necesarias en las células en aproximadamente igual cantidad en cualesquiera condiciones de crecimiento. La expresión de estas moléculas se denomina *constitutiva*. No obstante, es más común que una determinada macromolécula sea necesaria en determinadas condiciones pero no en otras. Por ejemplo, las enzimas necesarias para el catabolismo del azúcar lactosa son útiles para la célula sólo si la lactosa está presente en su entorno. Los genomas microbianos codifican muchas más proteínas de las que hay realmente presentes en la célula en cualesquiera condiciones particulares. Por lo tanto, la regulación es un proceso fundamental en todas las células y un mecanismo de conservación de la energía y los recursos.

9.1 Principales tipos de regulación

La regulación se realiza a dos niveles principales en la célula. En uno se controla la *actividad* de las enzimas preexistentes (**Figura 9.1**). La actividad de una proteína se puede regular sólo después de haber sido sintetizada (es decir, a nivel postraduccional). Por otra parte, la cantidad de proteína sintetizada se puede regular tanto a nivel de la trascripción, variando la cantidad de RNA mensajero (mRNA) sintetizado, o a nivel de la traducción, traduciendo o no el mRNA.

La regulación de la *actividad* enzimática en procariotas es típicamente un proceso rápido (que se produce en un segundo o menos), mientras que la regulación de la *síntesis* enzimática es relativamente lenta (lleva algunos minutos). Si es necesario sintetizar una nueva enzima, pasará algún tiempo hasta que esté presente en la célula

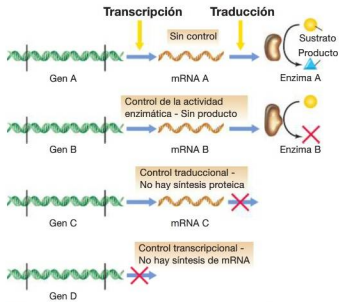


Figura 9.1 Visión general de los mecanismos de regulación. El producto del gen A es la enzima A, que en este ejemplo se sintetiza constitutivamente y lleva a cabo su reacción. La enzima B también se sintetiza constitutivamente, pero su actividad se puede inhibir. La síntesis del producto del gen C se puede evitar mediante el control a nivel de la traducción. La síntesis del producto del gen D se puede evitar a nivel transcripcional.

ebooks-libros.com

en la cantidad suficiente para afectar al metabolismo. Alternativamente, si se detiene la síntesis de una enzima, puede transcurrir un tiempo considerable antes de que la enzima existente esté suficientemente diluida para dejar de afectar al metabolismo. Sin embargo, trabajando conjuntamente, la regulación de la actividad enzimática y de la síntesis enzimática permiten controlar de modo eficiente el metabolismo de la célula.

Los sistemas que controlan el nivel de expresión de genes concretos son variados y los genes pueden estar regulados por más de un sistema. Anteriormente ya hemos estudiado los procesos que regulan la actividad de las enzimas existentes (Sección 5.18). A continuación analizaremos cómo se controla la síntesis del RNA y de las proteínas.

9.1 Minirrevisión

La mayoría de genes codifican proteínas, y la mayoría de proteínas son enzimas. La expresión de un gen que codifica una enzima está regulada mediante el control de la actividad de la enzima o controlando la cantidad de enzima producida.

- ¿Qué etapas de la síntesis proteica pueden ser objeto de regulación?
- ¿Cuál es más rápida, la regulación de la actividad o la regulación de la síntesis? ¿Por qué?

II PROTEÍNAS DE UNIÓN AL DNA Y REGULACIÓN DE LA TRANSCRIPCIÓN

La cantidad de una proteína concreta presente en una célula se puede controlar a nivel transcripcional, a nivel traduccional o, en ocasiones, por degradación de la proteína. Nuestro análisis se centra en el control a nivel transcripcional, ya que es el principal medio de regulación en procariotas.

Recordemos que la vida media de un mRNA típico en procariotas es corta, como mucho de algunos minutos. Los procariotas pueden aprovechar esta corta vida media de sus mRNA para responder con rapidez a los cambios en los parámetros ambientales. A pesar de los costes energéticos de resintetizar los mRNA que se han traducido pocas veces antes de ser degradados, hay beneficios al eliminar rápidamente los mRNA cuando ya no son necesarios, ya que esto evita la producción de proteínas innecesarias.

En la célula en crecimiento, la transcripción y la degradación del mRNA son, por tanto, procesos coexistentes.

Para que un gen sea transcrito, la RNA-polimerasa debe reconocer un promotor específico en el DNA (Sección 7.10). La regulación de la transcripción, tanto la activación como la inhibición, requiere normalmente proteínas que puedan unirse al DNA. Por lo tanto, antes de analizar los mecanismos de regulación específicos debemos estudiar las proteínas de unión al DNA.

9.2 Proteínas de unión al DNA

A menudo, en la regulación de la transcripción están implicadas moléculas pequeñas. No obstante, rara vez actúan de manera directa. En cambio, normalmente influyen en la unión de determinadas proteínas, llamadas *proteínas reguladoras*, a sitios específicos del DNA; son estas proteínas las que realmente regulan la transcripción.

Interacción de proteínas con ácidos nucleicos

Las interacciones entre proteínas y ácidos nucleicos son fundamentales para la replicación, la transcripción y la traducción, así como para la regulación de estos procesos. Las interacciones proteína-ácido nucleico pueden ser inespecíficas o específicas, en función de si la proteína se une en cualquier lugar del ácido nucleico o si la interacción es específica de secuencia. Las histonas (Sección 8.5) son buenos ejemplos de proteínas de unión inespecífica. Las histonas están presentes de manera universal en eucariotas y también en muchas especies de arqueas. Al estar cargadas positivamente, las histonas se unen con fuerza y de manera relativamente inespecífica al DNA cargado negativamente. Si el DNA está cubierto de histonas, la RNA-polimerasa no puede unirse y la transcripción no puede realizarse. Sin embargo, la eliminación de histonas no conduce directamente a la transcripción; simplemente deja los genes en posición de ser activados por otros factores. Por ejemplo, incluso tras la unión y el comienzo de la transcripción, las RNA-polimerasas eucarióticas necesitan varios factores proteicos que les ayuden a elongar la cadena a través del DNA cubierto de histonas.

La mayoría de proteínas de unión al DNA interaccionan con éste de manera específica de la secuencia. La especificidad la proporcionan las interacciones entre las cadenas laterales de aminoácidos específicos en las proteínas y grupos químicos específicos de las bases y el esqueleto azúcar-fosfato en el DNA. A causa de su tamaño, el *surco mayor* del DNA es el sitio principal de unión de las proteínas. En la Figura 7.3 se identifican los átomos de las bases del surco mayor que se sabe que interaccionan con proteínas. Para conseguir una alta especificidad, la proteína de unión debe interaccionar simultáneamente con más de un nucleótido, normalmente con varios de ellos. En la práctica, esto significa que una proteína de unión concreta se une solamente a DNA que contenga una secuencia de bases específica.

Anteriormente hemos descrito una estructura del DNA llamada *repetición invertida* (Figura 7.6). Estas repeticiones invertidas son, frecuentemente, las secuencias a las que las proteínas reguladoras se unen de manera específica al DNA (**Figura 9.2**). Obsérvese que esta interacción no implica la formación de estructuras tallo-bucle en el DNA como se mostraba en la Figura 7.6. Las proteínas de unión al DNA son típicamente homodiméricas,

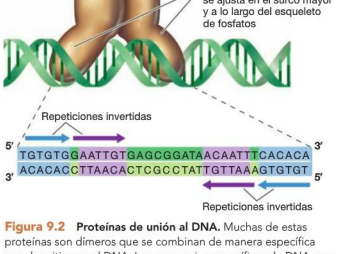


Figura 9.2 Proteínas de unión al DNA. Muchas de estas proteínas son dímeros que se combinan de manera específica con dos sitios en el DNA. Las secuencias específicas de DNA que interaccionan con la proteína son repeticiones invertidas. Se muestra la secuencia de nucleótidos del gen operador del operón lactosa, con las repeticiones invertidas, que son los sitios del DNA a los que se une el represor *lac*, en azul y lila.

lo que significa que están compuestas por dos polipéptidos idénticos. En cada cadena polipeptídica hay un dominio que interacciona específicamente con una región del DNA en el surco mayor. Cuando los dímeros proteicos interaccionan con repeticiones invertidas en el DNA, cada uno de los polipéptidos se une a una de las repeticiones invertidas y, de este modo, se combina con cada una de las cadenas de DNA (Figura 9.2). La proteína de unión al DNA no reconoce secuencias de bases, sino contactos moleculares asociados a secuencias de bases específicas.

Estructura de las proteínas de unión al DNA

Los estudios de la estructura de varias proteínas de unión al DNA de procariotas y de eucariotas han puesto de manifiesto varias clases de dominios proteicos que son fundamentales para la unión correcta de estas proteínas al DNA. Uno de estos dominios se llama *motivo hélice-giro-hélice* (**Figura 9.3**). El motivo hélice-giro-hélice consiste en dos segmentos de cadena polipeptídica con una estructura secundaria en hélice α conectadas entre sí por una secuencia corta que forma el «giro». La primera hélice es la *hélice de reconocimiento*, que interacciona específicamente con el DNA. La segunda hélice es la *hélice estabilizadora*, y estabiliza la primera hélice interaccionando de manera hidrófoba con ella. El giro que une las dos hélices está formado por tres aminoácidos, el primero de los cuales es típicamente una glicina (Figura 9.3(*a*). Las secuencias son reconocidas por interacciones no covalentes que incluyen puentes de hidrógeno y contactos de van der Waals (Sección 3.1), entre la hélice de reconocimiento de la proteína y grupos químicos específicos en la secuencia de pares de bases del DNA.

Muchas proteínas bacterianas de unión al DNA diferentes contienen la estructura hélice-giro-hélice. Entre ellas se incluyen muchas proteínas represoras, como los represores *lac* y *trp* de *Escherichia coli* (Sección 9.3) y algunas proteínas de bacteriófagos, como el represor del fago lambda (Figura 9.3(*b*).
De hecho, se conocen unas 250 proteínas diferentes con este motivo que se unen al DNA para regular la transcripción en *E. coli*.

Hay otros dos tipos de dominios proteicos habituales en las proteínas de unión al DNA. Uno de ellos, el *dedo de zinc*, se encuentra frecuentemente en las proteínas reguladoras de los eucariotas. El dedo de zinc es una estructura proteica que, como su nombre indica, se une a un ión zinc (**Figura 9.4***a*). Parte del «dedo» de aminoácidos que se forma constituye una hélice α, y su hélice de reconocimiento interacciona con el DNA en el surco mayor. Normalmente existen al menos dos o tres dedos de zinc en las proteínas, que los usan para unirse al DNA.

El otro dominio proteico normalmente encontrado en las proteínas de unión al DNA es la *cremallera de leucina*. Estas proteínas contienen regiones en las que hay residuos de leucina espaciados cada siete aminoácidos, que recuerda en cierto modo a una cremallera. A diferencia de la estructura hélice-giro-hélice y el dedo de zinc, la cremallera de leucina no interacciona con el DNA, sino que funciona manteniendo dos hélices de reconocimiento en la orientación correcta para que se unan al DNA (Figura 9.4(*b*).

Cuando una proteína se une a un sitio específico del DNA, hay toda una serie de resultados posibles. En algunos casos, la proteína de unión al DNA es una enzima que cataliza una reacción específica en el DNA, como la transcripción por la RNA-polimerasa. En otros, sin embargo, la unión puede bloquear la transcripción (regulación negativa, Sección 9.3) o activarla (regulación positiva, Sección 9.4).

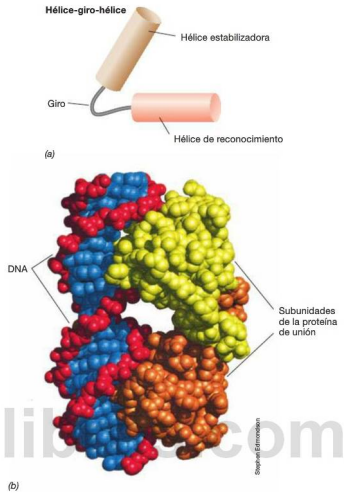


Figura 9.3 Estructura hélice-giro-hélice de algunas proteínas de unión al DNA. (*a*) Modelo sencillo de los componentes del motivo hélice-giro-hélice. (*b*) Modelo computerizado del represor del fago lambda, una proteína típica con motivo hélice-giro-hélice, unida a su operador. El DNA es rojo y azul. Una subunidad del represor dimérico se muestra de color marrón oscuro y la otra de color amarillo oscuro. Cada subunidad contiene una estructura hélice-giro-hélice. Las coordenadas utilizadas para generar esta imagen proceden del Protein Data Base, Brookhaven, NY (**www.pdb.org/pdb/home**).

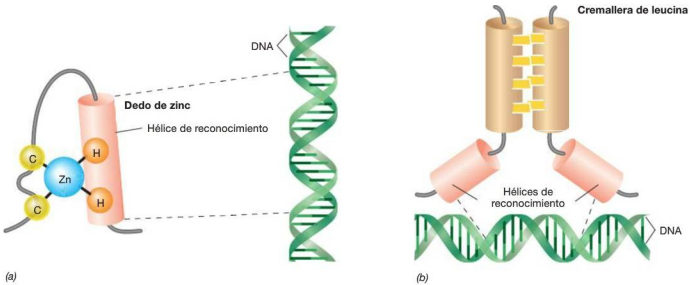


Figura 9.4 **Modelos sencillos de subestructuras proteicas encontradas en proteínas eucarióticas de unión al DNA.** Las hélices · están representadas por cilindros. Las hélices de reconocimiento son los dominios que se unen al DNA. (*a*) Estructura dedo de zinc. Los aminoácidos que sujetan el ión Zn^{2+} incluyen al menos dos residuos de cisteína (C), y los otros residuos son de histidina (H). (*b*) Estructura cremallera de leucina. Los residuos de leucina (en amarillo) están espaciados exactamente cada siete aminoácidos. La interacción con las cadenas laterales de leucina mantiene unidas las dos hélices.

9.2 Minirrevisión

Determinadas proteínas pueden unirse al DNA mediante interacciones entre dominios específicos de dichas proteínas y regiones específicas de la molécula de DNA. En la mayoría de los casos las interacciones son específicas de secuencia. Las proteínas que se unen a los ácidos nucleicos pueden ser enzimas que los usan como sustrato o pueden ser proteínas reguladoras que afectan a la expresión génica.

- ¿Qué es un dominio proteico?
- ¿Por qué algunas interacciones son específicas de determinadas secuencias de DNA?

9.3 Control negativo de la transcripción: represión e inducción

La transcripción es el primer paso del flujo de la información biológica (Figura 9.1); por ello, es relativamente fácil influir en la expresión génica en este punto. Si un gen se transcribe con más frecuencia que otro, habrá más de su mRNA disponible para la traducción y, por lo tanto, más cantidad del producto proteico en la célula. En las bacterias se conocen diversos mecanismos diferentes para controlar la expresión génica, y en todos ellos ejerce gran influencia el ambiente en el que está creciendo el organismo, en concreto la presencia o ausencia de pequeñas moléculas específicas. Estas moléculas pueden interaccionar con proteínas específicas como las proteínas de unión al DNA que acabamos de describir. El resultado es el control de la transcripción o, más raramente, de la traducción.

Para empezar describiremos la represión y la inducción, formas simples de regulación que dirigen la expresión génica a nivel de la transcripción. En esta Sección nos ocuparemos sólo del **control negativo** de la transcripción, un mecanismo regulador que detiene la transcripción (de aquí el término *negativo*).

Represión e inducción enzimáticas

A menudo, las enzimas que catalizan la síntesis de un producto específico no son sintetizadas si el producto está presente en el medio en cantidad suficiente. Por ejemplo, las enzimas necesarias para sintetizar el aminoácido arginina sólo se producen cuando la arginina está ausente del medio de cultivo; un exceso de arginina reprime la síntesis de estas enzimas. Este proceso recibe el nombre de **represión** enzimática.

Como se puede ver en la **Figura 9.5**, si se añade arginina a un cultivo que está creciendo exponencialmente en un medio que carece de arginina, el crecimiento continúa a la velocidad anterior, pero la producción de las enzimas necesarias para la síntesis de arginina se detiene. Obsérvese que se trata de un efecto específico, ya que la síntesis del resto de enzimas de la célula continúa a la velocidad anterior. Esto es debido a que las enzimas afectadas por un acto de represión concreto sólo suponen una pequeña cantidad del complemento total de proteínas de la célula en ese momento.

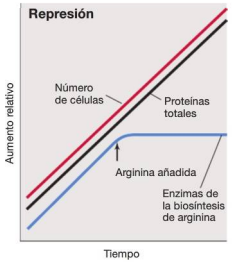


Figura 9.5 **Represión enzimática.** La adición de arginina al medio reprime específicamente la producción de enzimas necesarias para sintetizar arginina. La síntesis neta de proteínas no se ve afectada.

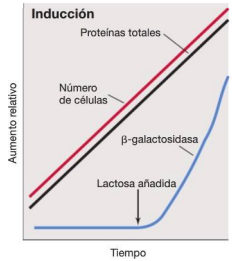


Figura 9.6 **Inducción enzimática.** La adición de lactosa al medio induce específicamente la síntesis de la enzima β-galactosidasa. La síntesis neta de proteína no se ve afectada.

La represión enzimática está muy extendida entre las bacterias como medio para controlar la síntesis de las enzimas necesarias para la biosíntesis de aminoácidos y de los precursores purínicos y pirimidínicos de los nucleótidos. En la mayoría de los casos, es el producto final de una ruta biosintética determinada el que reprime las enzimas de dicha ruta. En estos casos, la represión es bastante específica y normalmente no afecta a la síntesis de otras enzimas diferentes de las de dicha ruta biosintética concreta (Figura 9.5). Las ventajas de la represión enzimática son obvias. Asegura que el organismo no malgasta energía y nutrientes sintetizando enzimas innecesarias.

La **inducción** enzimática es conceptualmente opuesta a la represión enzimática. En la inducción enzimática una enzima es sintetizada sólo cuando su sustrato está presente. La represión enzimática afecta típicamente a las enzimas biosintéticas (anabólicas); en cambio, la inducción enzimática suele afectar a las enzimas degradativas (catabólicas).

Consideremos, por ejemplo, el uso del azúcar lactosa como fuente de carbono y de energía por parte de *Escherichia coli*. En la **Figura 9.6** se muestra la inducción de β-galactosidasa, la enzima que escinde la lactosa en glucosa y galactosa. Esta enzima es necesaria para que *E. coli* pueda crecer en un medio con lactosa. Si el medio no contiene lactosa, la enzima no se sintetiza, pero su síntesis empieza casi inmediatamente tras la adición de lactosa. Los tres genes del operón *lac* codifican tres proteínas, entre las que se incluye la β-galactosidasa, que son inducidas simultáneamente tras la adición de lactosa. Se puede ver claramente el valor para el organismo de un mecanismo de control como éste, que proporciona un medio para sintetizar enzimas específicas únicamente cuando son necesarias.

Inductores y correpresores

La sustancia que induce la síntesis enzimática se llama *inductor* y la sustancia que reprime la síntesis enzimática recibe el nombre de *correpresor*. Estas sustancias, que normalmente son moléculas pequeñas, tienen el nombre genérico de *efectores*. No todos los inductores y correpresores son sustratos o productos finales de las enzimas implicadas. Así, los análogos estructurales pueden inducir o reprimir una enzima a pesar de no ser sustratos de ésta. El isopropil-tiogalactósido (IPTG), por ejemplo, es un inductor de la β-galactosidasa a pesar de que no puede ser hidrolizado por ella. No obstante, en la naturaleza los inductores y los correpresores son, probablemente, metabolitos normales de las células. Sin embargo, estudios detallados sobre la utilización de la lactosa en *E. coli* han demostrado que el verdadero inductor de la β-galactosidasa no es la lactosa, sino la *alolactosa*, que es un compuesto estructuralmente similar sintetizado por la célula a partir de la lactosa. **www.microbiologyplace.com**
Tutorial online 9.1: Control negativo de la transcripción y el operón *lac*.

Mecanismo de represión e inducción

¿Cómo pueden los inductores y los correpresores afectar a la transcripción de un modo tan específico? Lo hacen de manera indirecta uniéndose a proteínas específicas de unión al DNA que, a su vez, afectan a la transcripción.

En el caso de una enzima reprimible (Figura 9.5), el correpresor (en este caso, arginina) se une a una **proteína represora** específica, el represor de arginina, que está presente en la célula (**Figura 9.7**). La proteína represora es una proteína alostérica (Sección 5.8), es decir, que su conformación se altera cuando el correpresor se une a ella.

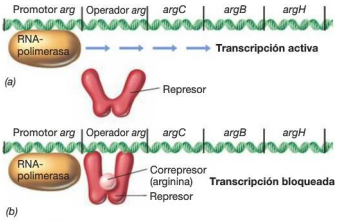


Figura 9.7 Proceso de represión enzimática tomando como ejemplo el operón arginina. (*a*) El operón es transcrito porque el represor es incapaz de unirse al operador. (*b*) Cuando el correpresor (una molécula pequeña) se une al represor, éste se une al operador y bloquea la transcripción; el mRNA y las proteínas que codifica no se sintetizan. Para el operón *argCBH*, el aminoácido arginina es el correpresor que se une al represor de arginina.

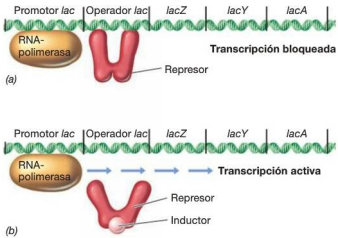


Figura 9.8 Proceso de inducción enzimática tomando como ejemplo el operón lactosa. (*a*) Una proteína represora se une a la región del operador y bloquea la unión de la RNA-polimerasa. (*b*) Una molécula inductora se une al represor y lo inactiva de manera que no pueda unirse al operador. Entonces la RNA-polimerasa transcribe el DNA y sintetiza un mRNA a partir del operón. Para el operón *lac*, el azúcar alolactosa es el inductor que se une al represor de lactosa.

Al unirse a su efector, la proteína represora se vuelve activa y puede unirse a una región específica del DNA cercana al promotor del gen, el *operador*. Esta región es la que dio lugar al término **operón** para describir una agrupación de genes en disposición lineal y consecutiva, cuya expresión está bajo el control de un solo operador (Sección 7.12). Todos los genes de un operón se transcriben en una sola unidad que genera un único mRNA. El operador está situado después del promotor donde empieza la síntesis del mRNA (Figura 9.7). Si el represor se une al operador, la transcripción se bloquea físicamente porque la RNA-polimerasa no puede ni unirse ni trabajar. De este modo, los polipéptidos codificados por los genes del operón no pueden ser sintetizados. Si el mRNA es policistrónico (Sección 7.12), todos los polipéptidos codificados por este mRNA estarán reprimidos.

La inducción enzimática también puede estar controlada por un represor. En este caso, la proteína represora está activa en ausencia del inductor y bloquea completamente la transcripción. Cuando se añade el inductor, éste se combina con la proteína represora y la inactiva; la inhibición se supera y la transcripción puede proceder (**Figura 9.8**).

Todos los sistemas reguladores que utilizan represores tienen el mismo mecanismo subyacente: la inhibición de la síntesis de mRNA mediante la actividad de proteínas represoras específicas que se encuentran a su vez bajo el control de pequeñas moléculas efectoras. Y, como se ha indicado anteriormente, la regulación por represores recibe el nombre de *control negativo*.

9.3 Minirrevisión

La cantidad de una enzima específica en la célula se puede controlar aumentando (inducción) o disminuyendo (represión) la cantidad de mRNA que codifica dicha enzima. Esta regulación transcripcional la llevan a cabo proteínas alostéricas reguladoras que se unen al DNA. En el control negativo de la transcripción, la proteína reguladora recibe el nombre de represor y funciona inhibiendo la síntesis de mRNA.

- ¿Por qué se le llama «control negativo»?
- ¿Cómo inhibe un represor la síntesis de un mRNA específico?

9.4 Control positivo de la transcripción

En el control negativo, el elemento de control —la proteína represora— lleva a cabo la represión de la síntesis de mRNA. Por otra parte, en el **control positivo** de la transcripción, una proteína reguladora activa la unión de la RNA-polimerasa al DNA. Un buen ejemplo de regulación positiva es el catabolismo del disacárido maltosa en *Escherichia coli*.

Catabolismo de la maltosa en *Escherichia coli*

Las enzimas del catabolismo de la maltosa en *E. coli* son sintetizadas sólo tras la adición de maltosa al medio. Así, la expresión de estas enzimas sigue el patrón descrito para la β-galactosidasa en la Figura 9.6, excepto en que es la maltosa en lugar de la lactosa la que influye en la expresión génica. No obstante, la síntesis de las enzimas que degradan la maltosa no está sometida a control negativo como

el operón *lac*, sino a control positivo; la transcripción necesita la unión de una **proteína activadora** al DNA.

La proteína activadora de maltosa no puede unirse al DNA a menos que primero se una a la maltosa, el inductor (también llamado efector). Cuando la proteína activadora de maltosa se une al DNA, permite a la RNA-polimerasa empezar la transcripción (**Figura 9.9**). Al igual que las proteínas represoras, las proteínas activadoras se unen de manera específica sólo a determinadas secuencias del DNA. No obstante, la región del DNA donde se encuentra el centro del activador no recibe el nombre de operador (Figuras 9.7 y 9.8), sino el de *centro de unión del activador* (Figura 9.9). Sin embargo, los genes controlados por este centro de unión del activador siguen llamándose operón.

Unión de proteínas activadoras

En el control negativo, el represor se une al operador y bloquea la transcripción. ¿Cómo funciona una proteína activadora? Los promotores de los operones regulados positivamente poseen secuencias nucleotídicas que se unen débilmente a la RNA-polimerasa (Figura 7.22). Así, incluso con el factor sigma adecuado, la RNA-polimerasa tiene dificultad para unirse a estos promotores.

La función de la proteína activadora es ayudar a que la RNA-polimerasa reconozca el promotor y empiece la transcripción. Por ejemplo, la proteína activadora puede provocar un cambio en la estructura del DNA plegándolo (**Figura 9.10**), lo que permite que la RNA-polimerasa establezca los contactos adecuados con el promotor y empiece la transcripción. O bien, la proteína activadora puede interaccionar directamente con la RNA-polimerasa. Esto ocurre cuando el centro de unión del activador

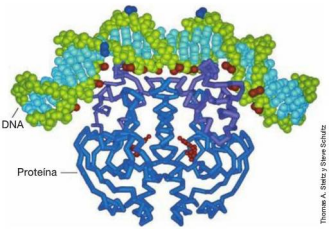


Figura 9.10 Modelo computerizado de la interacción de una proteína reguladora positiva con el DNA. Este modelo muestra la proteína de unión al AMP cíclico (proteína CRP; Sección 9.9), una proteína reguladora que participa en el control de varios operones. El esqueleto de carbonos α de esta proteína se muestra en azul y lila. La proteína se une a una doble hélice de DNA (verde y azul claro). Obsérvese que la unión de la proteína CRP al DNA ha plegado el DNA.

está cerca del promotor (**Figura 9.11*a***) o cuando está a unos cientos de bases de distancia de éste, una situación en la que es necesaria la formación de un bucle en el DNA para establecer los contactos adecuados (Figura 9.11*b*).

Muchos genes de *E. coli* tienen promotores sometidos a control positivo y muchos otros a control negativo. Además, muchos operones tienen un promotor con múltiples tipos de control y otros tienen más de un promotor, cada uno con su propio sistema de control. Por tanto, el senci-

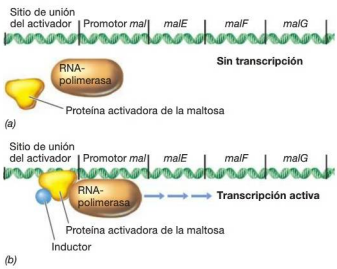


Figura 9.9 Control positivo de la inducción enzimática tomando como ejemplo el operón maltosa. (*a*) En ausencia de inductor, ni la proteína activadora ni la RNA-polimerasa pueden unirse al DNA. (*b*) Una molécula inductora (para el operón *malEFG* es el azúcar maltosa) se une a la proteína activadora (MalT) que, a su vez, se une al centro de unión del activador. Esto permite a la RNA-polimerasa unirse al promotor y empezar la transcripción.

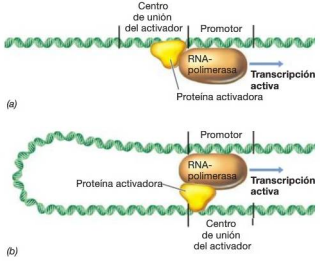


Figura 9.11 Interacciones de la proteína activadora con la RNA-polimerasa. (*a*) El centro de unión del activador está cerca del promotor. (*b*) El centro de unión del activador está a unos cientos de pares de bases del promotor. En este caso, el DNA debe formar un bucle para permitir que el activador y la RNA-polimerasa entren en contacto.

llo esquema que hemos dibujado no es típico de todos los operones. Las características de control múltiple son habituales en los operones de prácticamente todos los procariotas, de modo que su regulación global puede llegar a ser muy compleja.

Operones frente a regulones

En *E. coli*, los genes necesarios para la utilización de la maltosa están esparcidos por todo el cromosoma en varios operones, cada uno de los cuales tiene un centro de unión del activador al que se puede unir una copia de proteína activadora de maltosa. Por tanto, la proteína activadora de maltosa controla en realidad la transcripción de más de un operón. Cuando hay más de un operón bajo el control de una sola proteína reguladora, estos operones reciben colectivamente el nombre de **regulón**. Así, las enzimas para la utilización de la maltosa están codificadas por el regulón maltosa.

También se conocen regulones de operones sometidos a control negativo. Por ejemplo, las enzimas de la biosíntesis de arginina (Sección 9.3) están codificadas por el regulón arginina, cuyos operones están bajo el control de la proteína represora de arginina (en la Figura 9.7 sólo se muestra uno de los operones arginina). No obstante, en el control del regulón, una proteína de unión específica al DNA sólo se une a los operones que controla independientemente de que funcione como activador o como represor; los otros operones no se ven afectados.

www.freelibros.com

9.4 Minirrevisión

Los reguladores positivos de la transcripción reciben el nombre de proteínas activadoras. Se unen a centros de unión del activador en el DNA y estimulan la transcripción. Al igual que sucede con los represores, la actividad de las proteínas activadoras se ve modificada por inductores. En el control positivo de la inducción enzimática, el inductor promueve la unión de la proteína activadora y estimula la transcripción.

- Compare y contraste las actividades de una proteína activadora y una proteína represora.
- Distinga entre un operón y un regulón.

III PERCEPCIÓN Y TRANSDUCCIÓN DE SEÑAL

9.5 Sistemas reguladores de dos componentes

Los procariotas regulan su metabolismo celular en respuesta a las fluctuaciones ambientales, incluidos los cambios de temperatura, los cambios de pH y la disponibilidad de oxígeno, los cambios en la disponibilidad de nutrientes e incluso los cambios en el número de células presentes. Por lo tanto, debe haber mecanismos por los que las células reciben las señales del entorno y las transmiten al objetivo específico que debe regularse.

Ya hemos visto en secciones precedentes que algunas señales pueden ser moléculas pequeñas que entran en la célula y funcionan como efectores. No obstante, en muchos casos la señal externa no se transmite directamente a la proteína reguladora, sino que es detectada por un sensor que la transmite al resto de la maquinaria reguladora mediante un proceso llamado **transducción de señal**.

Cinasas sensoras y reguladores de respuesta

La mayoría de sistemas de transducción de señal tienen dos partes, por lo que se llaman **sistemas reguladores de dos componentes**. Típicamente, estos sistemas incluyen dos proteínas diferentes: una **proteína quinasa sensora** específica situada en la membrana citoplasmática y una **proteína reguladora de respuesta** presente en el citoplasma.

Una quinasa es una enzima que fosforila compuestos, normalmente con fosfato procedente de ATP. Las quinasas sensoras detectan una señal del entorno y se fosforilan a sí mismas (un proceso llamado autofosforilación) en un residuo específico de histidina situado en la superficie citoplasmática (**Figura 9.12**). Por ello, las quinasas sensoras se llaman también *histidina-quinasas*. El grupo fosforilo se transfiere después a otra proteína del interior de la célula, el regulador de respuesta. El regulador de respuesta es normalmente una proteína de unión al DNA que regula la transcripción, sea positiva o negativamente, en función del sistema (Figura 9.12).

Un sistema regulador equilibrado debe tener un bucle de retroalimentación, un modo de completar el circuito regulador y terminar la señal inicial. Esto deja el sistema listo para otro ciclo. Este bucle de retroalimentación implica la presencia de una fosfatasa, una enzima que elimina el grupo fosforilo de la proteína reguladora de respuesta a velocidad constante. En muchos sistemas, esta reacción es llevada a cabo por el propio regulador de respuesta; en otros muchos casos hay proteínas independientes que estimulan esta reacción (Figura 9.12).

La actividad fosfatasa es típicamente un proceso más lento que la fosforilación del regulador de respuesta. Sin embargo, si la fosforilación se detiene por la reducida actividad de la quinasa sensora, la actividad de la fosfatasa devolverá al regulador de respuesta a su estado completamente desfosforilado.

Ejemplos de sistemas reguladores de dos componentes

Los sistemas reguladores de dos componentes regulan una gran cantidad de genes de muchas bacterias diferentes. Sorprendentemente, los sistemas de dos componentes

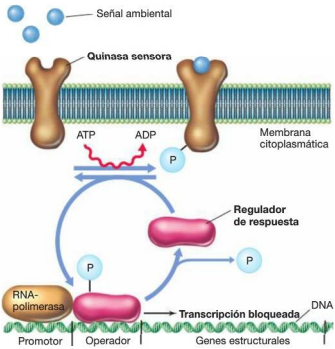


Figura 9.12 Control de la expresión génica por un sistema regulador de dos componentes. Entre los principales componentes del sistema hay una quinasa sensora en la membrana citoplasmática que se fosforila a sí misma en respuesta a una señal ambiental. A continuación, el grupo fosforilo es transferido al otro componente principal, un regulador de respuesta. En el sistema mostrado aquí, el regulador de respuesta fosforilado es una proteína represora. La actividad fosfatasa del regulador de respuesta libera lentamente el fosfato del regulador de respuesta y cierra el ciclo.

parecen estar menos ampliamente distribuidos entre las especies de *Archaea* que en *Bacteria*, y están prácticamente ausentes en las bacterias que viven como parásitos de organismos superiores. Algunos ejemplos clave de los sistemas de dos componentes incluyen la asimilación de fosfato, el metabolismo del nitrógeno y la respuesta a la presión osmótica. En *Escherichia coli* existen casi cincuenta sistemas diferentes de dos componentes; algunos de ellos se nombran en la **Tabla 9.1**. Por ejemplo, la osmolaridad del entorno controla los niveles relativos de las proteínas OmpC y OmpF en la membrana externa de *E. coli*. OmpC y OmpF son porinas, proteínas que permiten el paso de metabolitos a través de la membrana externa de las bacterias gramnegativas (Sección 4.7). Si la presión osmótica es baja, aumenta la síntesis de OmpF, una porina con un poro más grande; en cambio, si la presión osmótica es alta, se sintetiza más cantidad de OmpC, una porina con un poro más pequeño. El regulador de respuesta de este sistema es OmpR. Cuando OmpR está fosforilada, activa la transcripción del gen *ompC* y reprime la transcripción del gen *ompF*. En *E. coli* el gen *ompF* también está controlado por el RNA antisentido (Sección 9.14).

Algunos sistemas de transducción de señal tienen múltiples elementos reguladores. Por ejemplo, en el sistema regulador Ntr, que regula la asimilación de nitrógeno en muchas bacterias, incluida *E. coli*, el regulador de respuesta es la proteína activadoa NRI (regulador de nitrógeno I). NRI activa la transcripción de promotores reconocidos por la RNA-polimerasa mediante σ^{54} (RpoN), un factor sigma alternativo (Sección 7.10 y Tabla 7.3). La quinasa sensora del sistema Ntr, NRII (regulador de nitrógeno II) cumple una función doble, como quinasa y como fosfatasa. La actividad de la NRII está regulada, a su vez, por la adición o la eliminación de grupos de monofosfato de uridina de otra proteína, la PII.

El sistema regulador Nar (Tabla 9.1) controla un conjunto de genes que permiten el uso del nitrato y el nitrito como aceptores alternativos de electrones durante la respiración anaerobia (Secciones 21.6 y 21.7). El sistema Nar contiene dos quinasas sensoras diferentes y dos reguladores de respuesta. Además, todos los genes regulados por este sistema están también controlados por la proteína FNR, un regulador global para genes implicados en la respiración anaerobia (*véase* la Tabla 9.3). Este tipo de regulación múltiple no es infrecuente en sistemas fundamentales para el metabolismo de la célula.

Los análisis genómicos permiten la rápida detección de genes que codifican sistemas reguladores de dos componentes, porque las histidina-quinasas presentan una

Tabla 9.1 Ejemplos de sistemas reguladores de dos componentes que regulan la transcripción en *Escherichia coli*

Sistema	*Señal ambiental*	*Quinasa sensora*	*Regulador de respuesta*	*Actividad del regulador de respuesta*[a]
Sistema Arc	Oxígeno	ArcB	ArcA	Represor/activador
Respiración de nitrato y nitrito (Nar)	Nitrato y nitrito	NarX	NarL	Activador/represor
		NarQ	NarP	Activador/represor
Utilización de nitrógeno (Ntr)	Disminución de nitrógeno orgánico	NRII (=GlnL)	NRI (=GlnG)	Activador de promotores que necesita RpoN/σ^{54}
Regulón Pho	Fosfato inorgánico	PhoR	PhoB	Activador
Regulación de porinas	Presión osmótica	EnvZ	OmpR	Activador/represor

[a]Téngase en cuenta que muchas proteínas reguladoras de respuesta actúan tanto como activadores o como represores, según los genes que haya que regular. Aunque ArcA puede hacer tanto de activador como de represor, funciona como represor en la mayoría de los operones que regula.

significativa conservación de la secuencia de aminoácidos. Algunas especies de *Archaea*, en concreto las metanógenas (Sección 17.4) también poseen genes de sistemas reguladores de dos componentes. Asimismo, se encuentran sistemas de dos componentes estrechamente relacionados con los de las bacterias en eucariotas microbianos como la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, e incluso en plantas. No obstante, la mayoría de vías de transducción de señal eucarióticas se basan en la fosforilación de residuos de serina, treonina y tirosina de proteínas que no están relacionadas con los sistemas de dos componentes bacterianos.

9.5 Minirrevisión

Los sistemas de transducción de señal transmiten señales ambientales a la célula. En procariotas, la transducción de señal es llevada a cabo, típicamente, por un sistema regulador de dos componentes que incluye una quinasa sensora integrada en la membrana y un regulador de respuesta citoplasmático. La actividad del regulador de respuesta depende de su estado de fosforilación.

- ¿Qué son las quinasas y cuál es su función en los sistemas reguladores de dos componentes?
- Tras la disminución de una señal ambiental, ¿cómo se reactivan los dos componentes para la respuesta a un segundo estímulo?

9.6 Percepción de quórum

Como hemos dicho anteriormente, los organismos regulan sus genes en respuesta a señales del entorno. Una señal potencial a la que los procariotas pueden responder es la presencia de otras células de la misma especie a su alrededor. Algunos procariotas tienen vías de regulación controladas por la densidad de células de su misma clase. Este tipo de control recibe el nombre de **percepción de quórum** (la palabra quórum, en este sentido, significa «número suficiente»).

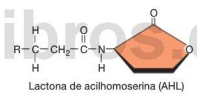
Mecanismo de percepción de quórum

La percepción de quórum es un mecanismo por el cual las bacterias evalúan su densidad de población. Esto resulta muy útil para asegurarse de que hay la suficiente cantidad de células de una especie determinada antes de iniciar una respuesta que requiera de una cierta densidad celular para surtir efecto. Por ejemplo, una bacteria patógena (causante de alguna enfermedad) que secreta una toxina puede no tener efecto como célula individual; la producción de toxina por dicha célula en solitario sería un desperdicio de recursos. Sin embargo, si hay una población de células lo bastante alta, la expresión coordinada de la toxina puede iniciar la enfermedad con éxito.

La percepción de quórum está muy extendida entre las bacterias gramnegativas, pero también se da en las bacterias grampositivas. Cada especie que utiliza la percepción de quórum sintetiza una molécula señal específica llamada **autoinductor**. Esta molécula difunde libremente a través de la envoltura celular en todas direcciones. Así, el autoinductor alcanza una alta concentración en el interior celular sólo si hay muchas células cerca, cada una sintetizando el mismo autoinductor. En el interior de la célula, el autoinductor se une a una proteína activadora específica y, de este modo, activa la transcripción de genes específicos (**Figura 9.13*b***).

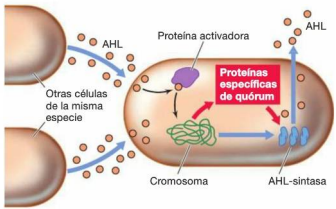
Existen diferentes clases de autoinductores (**Tabla 9.2**). Los primeros que se identificaron fueron las *lactonas de acilhomoserina* (AHL) (Figura 9.13*a*). Se han encontrado varias AHL diferentes, con grupos acilo de distintas longitudes, en bacterias gramnegativas diferentes. Además, muchas bacterias gramnegativas sintetizan AI-2 (*auto*inductor 2, un derivado furánico cíclico), que

www.medilibros.com



Lactona de acilhomoserina (AHL)

(*a*)



(*b*)

Figura 9.13 Percepción de quórum. (*a*) Estructura general de una lactona de acilhomoserina (AHL). Las diferentes AHL son variantes de la estructura original. R = grupo alquilo (C_1–C_{17}); a menudo, el carbono adyacente al grupo R está modificado por un grupo cetónico (C=O). (*b*) Una célula con percepción de quórum expresa la lactona de acilhomoserina-sintasa a nivel basal. Esta enzima sintetiza la AHL específica de la célula. Cuando las células de la misma especie alcanzan una densidad determinada, la concentración de AHL crece lo suficiente para unirse a la proteína activadora, que activa la transcripción de genes específicos de quórum.

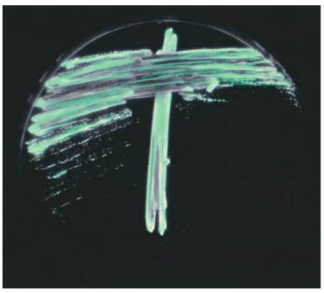
Tabla 9.2 Ejemplos de percepción de quórum y autoinductores

Organismo	*Autoinductor*	*Receptor*[a]	*Proceso regulado*
Proteobacterias	Lactonas de acilhomoserina	Proteína LuxR	Diversos procesos
Muchas bacterias diferentes	AI-2 (furanona ± borato)[b]	Proteína LuxQ	Diversos procesos
Pseudomonas spp.	4-hidroxialquilquinolinas	¿?	Virulencia; biofilms
Streptomyces spp.	Gamma-butirolactonas	Represor ArpA	Síntesis de antibióticos; esporulación
Bacterias grampositivas	Oligopéptidos (lineales o cíclicos)	Sistemas de dos componentes	Diversos procesos
Levadura	Alcoholes aromáticos	¿?	Filamentación

[a] Los detalles de cuántos sistemas de percepción de quórum operan son complejos. Algunos implican sistemas reguladores de dos componentes (Sección 9.5).
[b] El autoinductor AI2 existe con diversas estructuras ligeramente diferentes, algunas de las cuales tienen un grupo borato unido.

parece ser utilizado como autoinductor entre muchas especies de bacterias. Entre las bacterias grampositivas, determinados péptidos cortos funcionan como autoinductores.

La percepción de quórum se descubrió en primer lugar como el mecanismo para regular la emisión de luz en las bacterias bioluminiscentes. Algunas especies bacterianas pueden emitir luz, incluida la bacteria marina *Aliivibrio fischeri* (Sección 15.12). En la **Figura 9.14** se muestran colonias bioluminiscentes de *A. fischeri*. La luz es debida a la actividad de una enzima llamada luciferasa. Los operones *lux*, que codifican las proteínas necesarias para la bioluminiscencia, están bajo el control de la proteína activadora LuxR y son inducidos cuando la concentración de la AHL específica de *A. fischeri*, la lactona de *N*-3-oxohexanoilhomoserina, es suficientemente alta. Esta AHL es sintetizada por la enzima codificada por el gen *luxI*.



Timothy C. Johnston

Figura 9.14 Bacterias bioluminiscentes que producen la enzima luciferasa. Las células de la bacteria *Aliivibrio fischeri* (Sección 15.12) se sembraron en agar nutritivo en una placa de Petri y se dejaron crecer durante toda la noche. La fotografía se tomó en una cámara oscura usando sólo la luz generada por las bacterias.

Ejemplos de percepción de quórum

Toda una serie de genes están controlados por un sistema de percepción de quórum, incluyendo algunos en bacterias patógenas. Por ejemplo, las seudomonas utilizan 4-hidroxialquilquinolinas como autoinductores para inducir genes implicados en la virulencia y actividades relacionadas con ella. En *Pseudomonas aeruginosa*, por ejemplo, la percepción de quórum activa la expresión de una gran cantidad de genes no relacionados cuando la densidad de población es suficientemente alta. Estos genes ayudan a las células de *P. aeruginosa* en la transición entre el crecimiento suspendidas libremente en líquido al crecimiento en una matriz semisólida llamada *biopelícula*. El biofilm, formado a partir de polisacáridos específicos producidos por *P. aeruginosa*, aumenta la patogenia de este organismo y evita la penetración de los antibióticos (Secciones 23.4 y 23.5).

La patogenia de *Staphylococcus aureus* (Secciones 34.10 y 37.5) implica, entre otras muchas cosas, la producción y secreción de pequeños péptidos de la superficie celular y extracelulares que dañan las células hospedadoras o interfieren con el sistema inmunitario. Los genes que codifican estos factores de virulencia están sometidos al control de un sistema de percepción de quórum que responde a un péptido producido por el organismo. La regulación de estos genes es bastante compleja y necesita una molécula de RNA regulador de la que hablaremos a continuación. El sistema de percepción de quórum de *S. aureus* también utiliza proteínas reguladoras que forman parte de un sistema de transducción de señal (Sección 9.5).

La percepción de quórum existe probablemente en arqueas, en concreto en las arqueas haloalcalófilas, organismos que viven en hábitats salinos alcalinos (Sección 17.3), aunque los resultados son preliminares y los detalles aún no están del todo claros. No obstante, la percepción de quórum también existe en los eucariotas microbianos. Por ejemplo, en la levadura de gemación *Saccharomyces cerevisiae*, se producen alcoholes aromáticos específicos como autoinductores que controlan la transición entre el crecimiento de *S. cerevisiae* como células individuales y como filamentos alargados. Se han encontrado transiciones similares en otros hongos, algunos de los cuales, como *Candida*, cuya percepción de

quórum está mediada por el alcohol de cadena larga farnesol, causan enfermedades a los humanos.

9.6 Minirrevisión

La percepción de quórum permite a las células analizar el entorno en busca de células de la misma clase. La percepción de quórum se basa en compartir pequeñas moléculas específicas conocidas como autoinductores. Cuando hay una concentración suficiente de autoinductor, se activa la expresión de genes específicos.

- ¿Qué propiedades debe tener una molécula para actuar como autoinductor?
- En términos de autoinductores, ¿en qué se diferencia la percepción de quórum de las bacterias gramnegativas y las grampositivas?

9.7 Regulación de la quimiotaxis

Ya hemos visto antes cómo los procariotas pueden moverse hacia los atrayentes o escapar de los repelentes, un proceso denominado *quimiotaxis* (Sección 4.15). Hemos observado que los procariotas son demasiado pequeños para percibir gradientes espaciales de una sustancia, pero pueden responder a gradientes temporales. Es decir, pueden percibir el *cambio* en la concentración de una sustancia en el tiempo en lugar de la concentración absoluta del estímulo químico. Los procariotas utilizan un sistema modificado de dos componentes para percibir los cambios temporales en los atrayentes o repelentes, y procesan esta información para regular la rotación flagelar. Obsérvese que en el caso de la quimiotaxis tenemos un sistema de dos componentes que regula directamente la actividad de los flagelos preexistentes y no la transcripción de los genes que codifican los flagelos.

Primera etapa: respuesta a la señal

El mecanismo de quimiotaxis es complejo y depende de una serie de proteínas diferentes. Varias proteínas sensoras se localizan en la membrana citoplasmática y perciben la presencia de atrayentes y repelentes. Estas proteínas sensoras no son quinasas sensoras, pero interaccionan con las quinasas sensoras del citoplasma y permiten a la célula detectar la concentración de distintas sustancias con el tiempo.

Las proteínas sensoras se llaman *proteínas quimiotácticas aceptoras de metilo (MCP)*. En *Escherichia coli* se han identificado cinco MCP diferentes, y todas ellas son proteínas transmembranosas (**Figura 9.15**). Cada MCP puede percibir una serie de compuestos. Por ejemplo, la MCP Tar de *E. coli* puede percibir los atrayentes aspartato y maltosa, y repelentes como los metales pesados cobalto y níquel.

www.manualmos.com

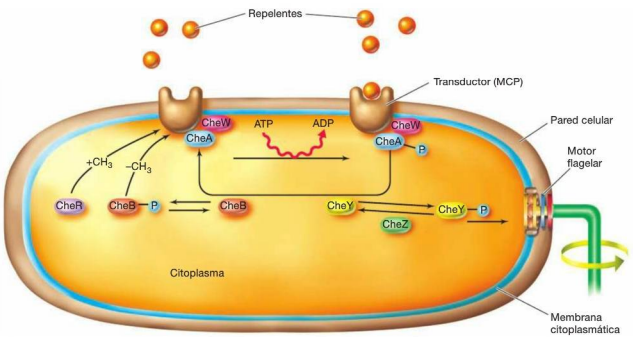


Figura 9.15 **Interacciones entre MCP, proteínas Che y el motor flagelar en la quimiotaxis bacteriana.** La MCP forma un complejo con la quinasa sensora CheA y la proteína acopladora CheW. Esta combinación provoca una autofosforilación regulada por la señal, de CheA a CheA-P. CheA-P puede entonces fosforilar los reguladores de respuesta CheB y CheY. El CheY fosforilado (CheY-P) interacciona directamente con el interruptor del motor flagelar. CheZ desfosforila a CheY-P. CheR añade continuamente grupos metilo al transductor. CheB-P (pero no CheB) los elimina. El grado de metilación de las MCP controla su capacidad para responder a los atrayentes y repelentes y conduce a la adaptación.

Las MCP se unen a los atrayentes o a los repelentes directamente o, en algunos casos, indirectamente mediante interacciones con las proteínas de unión periplasmáticas. La unión de un atrayente o un repelente inicia una serie de interacciones con las proteínas citoplasmáticas que al final afectarán a la rotación flagelar. Recordemos que si la rotación del flagelo se realiza en el sentido contrario a las agujas del reloj, la célula seguirá desplazándose, mientras que si rota en sentido horario, el flagelo se tambaleará (Sección 4.13).

Las MCP están en contacto con las proteínas citoplasmáticas CheW y CheA (Figura 9.15). CheA es la quinasa sensora en la quimiotaxis. Cuando una MCP se une a una sustancia, cambia su conformación y (con la ayuda de CheW) afecta a la autofosforilación de CheA para formar CheA-P. Los atrayentes *disminuyen* la velocidad de autofosforilación, mientras que los repelentes la *incrementan*. A continuación, CheA-P pasa el fosfato a CheY (que forma CheY-P); éste es el regulador de respuesta. CheA-P también puede dar el fosfato a CheB, otro regulador de respuesta, pero se trata de una reacción mucho más lenta que la fosforilación de CheY. Analizaremos más adelante la actividad de CheB-P.

Segunda etapa: control de la rotación flagelar

CheY es una proteína clave en el sistema, ya que gobierna la dirección de la rotación del flagelo. CheY interacciona con el motor flagelar para inducir la rotación flagelar en sentido horario y el tambaleo (Sección 4.13).

Si no está fosforilada, CheY no puede unirse al motor flagelar y el flagelo sigue rotando en sentido antihorario; esto hace que la célula continúe desplazándose. Otra proteína, CheZ, desfosforila a CheY y la devuelve a la forma que permite el desplazamiento en lugar del tambaleo. Como los repelentes aumentan el nivel de CheY-P, provocan el tambaleo, mientras que los atrayentes generan un nivel más bajo de CheY-P y, por tanto, provocan una natación suave (desplazamiento).

Tercera etapa: adaptación

Además de procesar una señal y regular la rotación flagelar, el sistema debe ser capaz de detectar un cambio en la concentración del atrayente o el repelente con el tiempo. Este problema se soluciona por un aspecto ulterior de la quimiotaxis, el proceso de *adaptación*. La adaptación es el bucle de retroalimentación necesario para devolver al sistema a su estado inicial. Esto implica la modificación covalente de las MCP por parte de CheB que hemos mencionado anteriormente.

Como su nombre indica, las MCP se pueden metilar. La proteína citoplasmática CheR (Figura 9.15), añade continuamente grupos metilo a las MCP a velocidad baja utilizando S-adenosilmetionina como donador de metilo. El regulador de respuesta CheB es una demetilasa que elimina grupos metilo de las MCP. La fosforilación de CheB aumenta en gran medida la velocidad de su actividad. Los cambios en el nivel de metilación de las MCP provocan cambios conformacionales similares a los causados por la unión de atrayentes o repelentes. Así, la metilación permite la adaptación a las señales sensoriales como se ha indicado anteriormente.

Si la cantidad de atrayente se mantiene *alta*, el nivel de fosforilación de CheA (y, por lo tanto, de CheY y CheB) se mantiene *bajo*; y la célula nada suavemente. El nivel de metilación de las MCP aumenta durante este período porque CheB-P no está presente para demetilarlas rápidamente. Sin embargo, las MCP dejan de responder al atrayente cuando están completamente metiladas. Por lo tanto, incluso si la cantidad de atrayente se mantiene alta, el nivel de CheA-P y CheB-P aumenta y la célula empieza a dar tumbos. No obstante, ahora las CMP pueden ser demetiladas por CheB-P y cuando esto sucede los receptores son «reactivados» y pueden responder de nuevo a posteriores aumentos o disminuciones de la cantidad de atrayente.

El curso de los acontecimientos es exactamente el contrario para los repelentes. Las MCP completamente metiladas responden mejor a un aumento en el gradiente de repelentes y envían una señal para que empiece el tambaleo de la célula. Ésta, entonces, se mueve al azar mientras las MCP son demetiladas lentamente. Con este mecanismo de adaptación, la quimiotaxis adquiere la capacidad de detectar pequeños cambios en la concentración de atrayentes y de repelentes.

Otros tactismos

Además de la quimiotaxis, se conocen otros tactismos microbianos, como la *fototaxis* (movimiento hacia la luz), la *aerotaxis* (movimiento hacia el oxígeno) y otras clases de movimientos dirigidos (Sección 4.15). Muchas de las proteínas Che citoplasmáticas que funcionan en la quimiotaxis cumplen también alguna función en estos otros tactismos. En la fototaxis, por ejemplo, la proteína que detecta la luz sustituye a las MCP de la quimiotaxis, y en la aerotaxis, una proteína redox detecta los niveles de oxígeno. Estos sensores interaccionan después con las proteínas Che citoplasmáticas para dirigir desplazamientos o tumbos en respuesta a estas otras señales. Así, parece que varios tactismos procarióticos diferentes pueden estar dirigidos por un grupo común de proteínas citoplasmáticas.

9.7 Minirrevisión

La quimiotaxis responde de manera compleja a los atrayentes y a los repelentes. La regulación de la natación afecta a la actividad de las proteínas en lugar de a su síntesis. La adaptación por metilación permite al sistema volver a su estado inicial por la presencia continuada de una señal.

- ¿Cuáles son el regulador de respuesta primario y la quinasa sensora primaria en la regulación de la quimiotaxis?

- ¿Por qué es importante la adaptación?
- ¿Cuál es la diferencia principal en la respuesta del sistema quimiotáctico a un atrayente y a un repelente?

9.8 Control de la transcripción en arqueas

Todos los organismos regulan la expresión de sus genes. Hay dos enfoques alternativos para regular la actividad de la RNA-polimerasa. Una estrategia, de uso predominante entre bacterias y arqueas, consiste en utilizar las proteínas de unión al DNA que impiden la actividad RNA-polimerasa (proteínas represoras) o bien la promueven (proteínas activadoras) (Sección 9.3). La alternativa, usada con más frecuencia por los eucariotas, es transmitir las señales a las subunidades proteicas de la propia RNA-polimerasa. Quizá resulte sorprendente, entonces, que a pesar de la mayor similitud general entre los *mecanismos* de replicación y transcripción en arqueas y eucariotas (Capítulo 8), la *regulación* de la transcripción en arqueas se parezca más a la de las bacterias.

Se han caracterizado pocas proteínas activadoras o represoras de arqueas en detalle, pero parece claro que existen ambos tipos de proteínas reguladoras. Las proteínas represoras de arqueas funcionan bloqueando la unión de la propia RNA-polimerasa o bloqueando la unión de las proteínas TBP y TFB necesarias para el reconocimiento del promotor y la unión de la RNA-polimerasa (Sección 8.2). Al menos algunas proteínas activadoras de arqueas funcionan justo en sentido contrario, reclutando la TBP en el promotor y facilitando así la transcripción.

Proteínas represoras en arqueas

Un buen ejemplo de represor en arqueas es la proteína NrpR del metanógeno *Methanococcus maripaludis*; esta proteína reprime los genes implicados en el metabolismo del nitrógeno (**Figura 9.16**), como los implicados en la fijación de nitrógeno (Sección 20.14) o en la síntesis de glutamina (Sección 5.16). Cuando hay una gran cantidad de nitrógeno orgánico en la célula, NrpR reprime los genes implicados en la fijación de nitrógeno y en la síntesis de glutamina. Sin embargo, si la cantidad de compuestos de nitrógeno se vuelve limitante en la célula, esto representa una señal de que se necesita más nitrógeno y de que hay que inactivar al represor.

Es interesante señalar que la señal de que el nivel de nitrógeno es limitante la proporciona un nivel elevado en la célula de α-cetoglutarato, un intermediario en el ciclo del ácido cítrico. Este compuesto se convierte en el aminoácido glutamato por adición de amonífaco. Cuando la cantidad de α-cetoglutarato aumenta, esto indica que el amonífaco es limitante y que es necesario utilizar medios adicionales para obtenerlo, como la fijación de nitrógeno o la síntesis de la enzima de alta afinidad de asimilación de nitrógeno glutamina-sintetasa. Un nivel alto de α-cetoglutarato actúa como inductor mediante la unión a la proteína NrpR, que entonces es liberada del DNA. Esto permite la unión de la RNA-polimerasa y la transcripción de los genes. Aquí, el mecanismo de inactivación de una proteína represora por una pequeña molécula es análogo al mecanismo de inducción considerado anteriormente en las bacterias, donde la presencia de un inductor, como la lactosa en el operón *lac* de *Escherichia coli*, desencadena la transcripción de los genes implicados en el catabolismo de la lactosa (Sección 9.3).

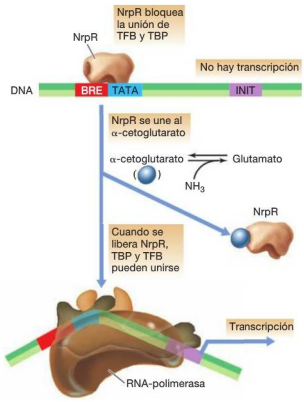


Figura 9.16 Represión de los genes del metabolismo del nitrógeno en arqueas. La proteína NrpR de *Methanococcus maripaludis* actúa como represor. Bloquea la unión de las proteínas TFB y TBP, necesarias para el reconocimiento del promotor, al sitio BRE y a la caja TATA, respectivamente. Si se produce una disminución de amoníaco, el α-cetoglutarato no se transforma en glutamato. Así, el α-cetoglutarato se acumula y se une a NrpR, de forma que lo libera del DNA. Ahora pueden unirse la TBP y la TFB. Esto, a su vez, permite la unión de la RNA-polimerasa y la transcripción del operón, empezando desde un punto en el interior de la caja iniciadora.

9.8 Minirrevisión

Las arqueas, al igual que las bacterias, utilizan proteínas de unión al DNA activadoras y represoras para regular la expresión génica a nivel de la transcripción.

- ¿Cuál es la diferencia principal entre la regulación transcripcional en arqueas y en eucariotas?

IV MECANISMOS REGULADORES GLOBALES

A menudo, un organismo necesita regular simultáneamente muchos genes no relacionados entre sí en respuesta a un cambio en el entorno. Los mecanismos reguladores que responden a las señales ambientales regulando la expresión de muchos genes diferentes se llaman *sistemas de control global*. Tanto el operón lactosa como el regulón maltosa responden a controles globales además de a su propia regulación, explicada en las Secciones 9.3 y 9.4. Empezaremos nuestro análisis de la regulación global volviendo sobre el operón *lac*.

9.9 El control global y el operón *lac*

Nuestro análisis de los sistemas reguladores de la lactosa y la maltosa no tenía en cuenta la posibilidad de que el entorno de la célula pueda contener varias fuentes de carbono diferentes que pueden usar las bacterias. Por ejemplo, *Escherichia coli* puede utilizar muchos azúcares diferentes. Cuando se encuentran con varios azúcares, incluida la glucosa, ¿las células de *E. coli* los utilizan simultáneamente o sólo uno cada vez? La respuesta es que la glucosa siempre se utiliza en primer lugar. De hecho, sería un derroche inducir las enzimas del metabolismo de otros azúcares si la glucosa está disponible, porque *E. coli* crece más rápido en glucosa que en cualquier otra fuente de carbono. Por tanto, un mecanismo de control global, la represión por catabolito, asegura que, si está disponible, la glucosa se utilizará en primer lugar.

Represión por catabolito

En la **represión por catabolito**, la síntesis de enzimas fundamentalmente catabólicas no relacionadas se reprime cuando las células crecen en un medio que contiene glucosa. La represión por catabolito también se conoce como «efecto glucosa», porque la glucosa fue la primera sustancia que se descubrió que iniciaba esta respuesta. No obstante, en algunos organismos, la represión por catabolito está causada por fuentes de carbono diferentes de la glucosa. El punto fundamental es que el sustrato que reprime el uso de otros sustratos sea una fuente de carbono y de energía mejor. De este modo, la represión por catabolito asegura que el organismo utiliza en primer lugar la *mejor* fuente de carbono y energía disponible.

Una consecuencia de la represión por catabolito es que conduce a dos fases de crecimiento exponencial, una situación llamada *crecimiento diáuxico*. Si hay disponibles dos fuentes de energía útiles, las células crecen primero utilizando la mejor. Después, tras un intervalo de demora, el crecimiento se reanuda con la otra fuente de energía. En la **Figura 9.17** se ilustra el crecimiento diáuxico de *E. coli* en una mezcla de glucosa y lactosa.

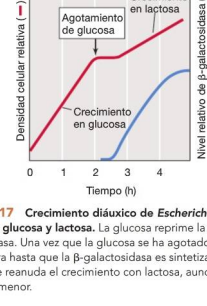


Figura 9.17 Crecimiento diáuxico de *Escherichia coli* en una mezcla de glucosa y lactosa. La glucosa reprime la síntesis de β-galactosidasa. Una vez que la glucosa se ha agotado, se produce una demora hasta que la β-galactosidasa es sintetizada, y después se reanuda el crecimiento con lactosa, aunque a velocidad menor.

Como hemos visto, las proteínas del operón *lac*, incluida la enzima β-galactosidasa, son necesarias para utilizar la lactosa, y son inducidas en su presencia (Figuras 9.6 y 9.8). Pero, además, su síntesis está sujeta a la represión por catabolito. Mientras la glucosa está presente, el operón *lac* no se expresa y la lactosa no se utiliza. Sin embargo, cuando se agota la glucosa, la represión por catabolito desaparece y tras un breve período de demora, el operón *lac* es expresado y las células crecen con lactosa. Como se muestra en la Figura 9.17, las células crecen más rápidamente con glucosa que con lactosa. Si bien tanto la glucosa como la lactosa son excelentes fuentes de energía para *E. coli*, la primera es mejor fuente de carbono para este organismo, y el crecimiento es más rápido con este sustrato.

AMP cíclico y CRP

A pesar de su nombre, en la represión por catabolito, la transcripción está controlada por una proteína activadora y es, en realidad, una forma de control positivo (Sección 9.4). La proteína activadora se llama *proteína receptora del AMP cíclico (CRP)* (también recibe el nombre de proteína activadora de catabolito, o CAP). Un gen que codifica una enzima reprimible por catabolito se expresa sólo si la proteína CRP se une al DNA en la región del promotor. Esto permite la unión de la RNA-polimerasa al promotor. La CRP es una proteína alostérica que se une al DNA sólamente si se ha unido previamente a una pequeña molécula llamada *monofosfato cíclico de adenosina (AMP cíclico o cAMP)* (**Figura 9.18**). Al igual que la mayor parte de las proteínas de unión al DNA (Sección 9.2), la CRP se une al DNA en forma de dímero.

El **AMP cíclico** es una molécula fundamental en muchos sistemas de control metabólico, tanto en procariotas como en eucariotas. Como deriva de un precursor de un

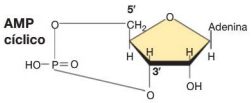


Figura 9.18 **AMP cíclico.** El monofosfato cíclico de adenosina es sintetizado por la enzima adenilato-ciclasa a partir del ATP.

ácido nucleico, es un **nucleótido regulador**. Otros nucleótidos reguladores son el GMP cíclico (monofosfato cíclico de guanosina; importante sobre todo en eucariotas), el diGMP cíclico y el ppGpp (Sección 9.10). El AMP cíclico se sintetiza a partir del ATP por una enzima llamada *adenilato-ciclasa*. No obstante, la glucosa inhibe la síntesis del AMP cíclico y estimula el transporte de éste al exterior de la célula. Cuando la glucosa entra en la célula, el nivel de AMP cíclico disminuye. La proteína CRP no puede unirse al DNA y la RNA-polimerasa es incapaz de unirse a los promotores de los operones sujetos a la represión por catabolito. Así, la represión por catabolito es, en realidad, un resultado indirecto de la presencia de una fuente de energía mejor (la glucosa). La causa directa de la represión por catabolito es un nivel bajo de AMP cíclico.

Aspectos globales de la represión por catabolito

¿Por qué la represión por catabolito se considera un mecanismo de control *global*? En *E. coli* y otros organismos para los que la glucosa es la fuente preferida de energía, la represión por catabolito evita la expresión de la mayoría de los otros operones mientras la glucosa está presente. Docenas de operones catabólicos se ven afectados, incluidos los de la lactosa, la maltosa, toda una serie de otros azúcares y la mayoría de las otras fuentes de carbono y de energía normalmente utilizadas por *E. coli*. Además, los genes para la síntesis de los flagelos también son controlados por represión por catabolito —si las bacterias tienen una buena fuente de carbono disponible, no hay ninguna necesidad de desplazarse en busca de nutrientes.

Volvamos ahora al operón *lac* para poner en contexto la represión por catabolito dentro del cuadro general de la regulación. Para ello, en la **Figura 9.19** se ha diseñado la región reguladora completa del operón *lac*. Para que se transcriban los genes *lac* se deben cumplir dos requisitos: 1) el nivel de AMP cíclico debe ser lo bastante alto para que la proteína CRP se una al centro de unión de CRP (control positivo), y 2) la lactosa debe estar presente de manera que el represor de lactosa no bloquee la transcripción uniéndose al operador (control negativo). Si se cumplen estas dos condiciones, la célula recibe la señal de que la glucosa está ausente y la lactosa, presente; entonces, y sólo entonces empieza la transcripción del operón *lac*.

9.9 Minirrevisión

Los sistemas de control global regulan la expresión de muchos genes simultáneamente. La represión por catabolito es un sistema global de control que ayuda a las células a hacer un uso más eficiente de las fuentes de carbono disponibles. El operón lac está bajo el control de la represión por catabolito a la vez que cuenta con su propio sistema específico de regulación negativa.

- Explique por qué la represión por catabolito depende de una proteína activadora.
- Explique cómo está controlado el operón lac tanto positiva como negativamente.

9.10 La respuesta estricta

Los niveles de nutrientes en los entornos naturales de las células bacterianas suelen cambiar significativamente, aunque sea durante poco tiempo. Estas condiciones son fáciles de simular en el laboratorio, y se han hecho muchas investigaciones con *Escherichia coli* y otros procariotas sobre la regulación de la expresión génica tras un descenso o un incremento en el estatus de nutrientes. Esto incluye, en concreto, los actos reguladores desencadenados por la ausencia de aminoácidos o de energía.

Como resultado de la disminución de aminoácidos desde una situación de exceso hasta el límite —como ocurriría cuando un cultivo es transferido de un medio rico y complejo a un medio definido con una sola fuente de carbono— la síntesis de rRNA y tRNA cesa casi inmediatamente. No se producen nuevos ribosomas, la sínte-

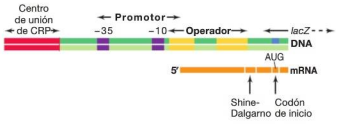


Figura 9.19 **Regulación global del operón lactosa.** El primer gen estructural de este operón, *lacZ*, codifica la enzima β-galactosidasa, que escinde la lactosa. El operón contiene otros dos genes que también participan en el metabolismo de la lactosa. Las dos mitades del operador (donde se une el represor) y el centro de unión de CRP son repeticiones invertidas casi perfectas. El sitio de inicio de la transcripción está situado en el DNA exactamente en el extremo 5′ del mRNA. También se muestra la ubicación de la secuencia –35 y de la secuencia –10, que forman parte del promotor (Figura 7.22). Además se puede ver la secuencia de Shine-Dalgarno y el codón de inicio. Estas dos secuencias son fundamentales para la traducción del mRNA (Sección 7.15).

www.medilibros.com

sis de proteínas y de DNA se restringe, pero se activa la síntesis de nuevos aminoácidos (**Figura 9.20a**). Cuando se produce esta disminución de aminoácidos, hay que generar nuevas proteínas que sinteticen los aminoácidos que no están disponibles en el entorno; éstas son producidas por los ribosomas existentes. Después de un tiempo empieza de nuevo la síntesis de rRNA (y, por lo tanto, la síntesis de nuevos ribosomas), pero a una velocidad proporcional a la velocidad de crecimiento reducida de la célula (Figura 9.20*a*). Esta sucesión de hechos recibe el nombre de **respuesta estricta** (o control estricto) y es otro ejemplo del control global.

El ppGpp y el mecanismo de la respuesta estricta

La respuesta estricta es desencadenada por una mezcla de dos nucleótidos reguladores, el *tetrafosfato de guanosina* (ppGpp) y el *pentafosfato de guanosina* (pppGpp); esta mezcla suele representarse como (p)ppGpp (Figura 9.20*b*). En *E. coli*, estos nucleótidos, que también reciben el nombre de *alarmones*, se acumulan con rapidez durante un descenso desde el exceso de aminoácidos hasta la carencia. Los alarmones son sintetizados por una proteína específica llamada RelA, que utiliza el ATP como donador de fosfato (Figura 9.20*b*, *c*). RelA añade dos grupos fosfato del ATP al GTP o al GDP, y produce pppGpp y ppGpp, respectivamente.

RelA está asociada con la subunidad 50S del ribosoma y es activada por una señal del ribosoma durante la escasez de aminoácidos. Cuando la célula tiene los aminoácidos limitados, el conjunto de tRNA *descargados* aumenta respecto al de tRNA *cargados*. Finalmente, se une un tRNA descargado al ribosoma en lugar de uno cargado durante la síntesis proteica. Cuando esto ocurre el ribosoma se atasca, lo que lleva a la síntesis de (p)ppGpp por parte de RelA (Figura 9.20*c*). La proteína Gpp convierte pppGpp en ppGpp, de manera que éste último es el producto total.

Los alarmones ppGpp y pppGpp tienen efectos de control global. Inhiben con fuerza la síntesis de rRNA y tRNA al unirse a la RNA-polimerasa y evitar la iniciación de la transcripción de genes para esos RNA. Por otra parte, los alarmones activan los operones biosintéticos de determinados aminoácidos así como los operones catabólicos que generan precursores de la síntesis de aminoácidos. Por el contrario, los operones que codifican proteínas biosintéticas cuyos productos aminoacídicos están presentes en cantidades suficientes permanecen desactivados. La respuesta estricta también inhibe la iniciación de nuevos ciclos de síntesis de DNA y división celular y ralentiza la síntesis de los componentes de la envoltura celular, como los lípidos de membrana. La unión eficaz de (p)ppGpp a la RNA-polimerasa requiere la presencia de la proteína DksA, que es necesaria para situar el (p)ppGpp correctamente en el canal que normalmente aloja sustratos (es decir, trifosfatos de nucleósido) en el centro activo de la RNA-polimerasa.

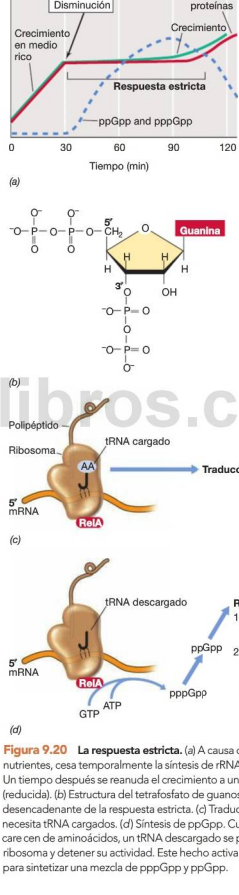


Figura 9.20 **La respuesta estricta.** (*a*) A causa de la disminución de nutrientes, cesa temporalmente la síntesis de rRNA, tRNA y proteínas. Un tiempo después se reanuda el crecimiento a una velocidad nueva (reducida). (*b*) Estructura del tetrafosfato de guanosina (ppGpp), un desencadenante de la respuesta estricta. (*c*) Traducción normal, que necesita tRNA cargados. (*d*) Síntesis de ppGpp. Cuando las células carecen de aminoácidos, un tRNA descargado se puede unir al ribosoma y detener su actividad. Este hecho activa a la proteína RelA para sintetizar una mezcla de pppGpp y ppGpp.

medilibros.com

Además de RelA, otra proteína, SpoT, participa en el desencadenamiento de la respuesta estricta. La proteína SpoT puede sintetizar (p)ppGpp y también degradarlo. En la mayoría de condiciones, SpoT es responsable de degradar (p)ppGpp; sin embargo, SpoT sintetiza (p)ppGpp en respuesta a determinadas situaciones de estrés o cuando se produce una disminución de energía. Así, la respuesta estricta es el resultado, no sólo de la ausencia de precursores para la síntesis proteica, sino también de la carencia de energía para la biosíntesis.

Se puede considerar la respuesta estricta como un mecanismo de ajuste de la maquinaria biosintética de la célula a la disponibilidad de los precursores y la energía necesarios. Con ello, la célula adquiere un nuevo equilibrio entre el anabolismo y el catabolismo. En muchos entornos naturales, los nutrientes aparecen de repente y son consumidos con rapidez. Por tanto, un mecanismo global como la respuesta estricta que equilibra el estado metabólico de la célula con la disponibilidad de precursores y energía mejorará probablemente su capacidad para competir en la naturaleza.

El sistema RelA/(p)ppGpp sólo se ha encontrado en las bacterias y en los cloroplastos de las plantas. Las arqueas y los eucariotas no sintetizan (p)ppGpp en respuesta a una disminución de los recursos. Si bien las arqueas muestran una respuesta similar a la respuesta estricta de las bacterias cuando se encuentran frente a una disminución del carbono y de la energía, utilizan mecanismos reguladores diferentes de los descritos aquí para superar esas situaciones nutricionales.

9.10 Minirrevisión

La respuesta estricta es un mecanismo de control global desencadenado por la carencia de aminoácidos. Los alarmones ppGpp y pppGpp son producidos por RelA, una proteína que detecta la actividad ribosómica. En la célula, la respuesta estricta permite el equilibrio entre la producción de proteínas y las necesidades aminoacídicas.

- ¿Qué genes son activados durante la respuesta estricta y por qué?
- ¿Qué genes son reprimidos durante la respuesta estricta y por qué?
- ¿Cómo se sintetizan los alarmones ppGpp y pppGpp?

9.11 Otras redes de control global

En la Sección 9.9 hemos analizado la represión por catabolito en *Escherichia coli*, y en la Sección 9.10 hemos estudiado la respuesta estricta. Ambos son ejemplos de control global, pero existen otros sistemas de control global en *E. coli* (y probablemente en todos los procariotas); en la **Tabla 9.3** se muestran algunos de ellos.

Los sistemas de control global regulan más de un regulón (Sección 9.4). Las redes de control global pueden incluir activadores, represores, moléculas señal, sistemas reguladores de dos componentes (Sección 9.5), RNA regulador (Secciones 9.13 y 9.14) y factores sigma alternativos (Sección 7.10). Un ejemplo de respuesta global que está muy extendida en las bacterias es la respuesta a la temperatura alta. En muchas bacterias, esta **respuesta al choque térmico** está ampliamente controlada por factores sigma alternativos.

www.libros.com

Proteínas de choque térmico

La mayoría de proteínas son relativamente estables. Una vez sintetizadas, continúan desarrollando sus funciones y son traspasadas en la división celular. Sin embargo, algunas proteínas son menos estables a altas temperaturas y tienden a desplegarse. Estas proteínas plegadas incorrectamente son reconocidas por proteasas de la célula y son degradadas. En consecuencia, las células que son estresadas por calor inducen la síntesis de un conjunto de proteínas, las **proteínas de choque térmico**, que ayudan a contrarrestar el daño. Las proteínas de choque térmico ayudan a

Tabla 9.3 Ejemplos de sistemas de control global conocidos en *Escherichia coli*[a]

Sistema	*Señal*	*Actividad principal de la proteína reguladora*	*Número de genes regulados*
Respiración aerobia	Presencia de O_2	Represora (ArcA)	>50
Respiración anaerobia	Ausencia de O_2	Activadora (FNR)	>70
Represión por catabolito	Nivel de AMP cíclico	Activadora (CRP)	>300
Choque térmico	Temperatura	Sigmas alternativos (RpH y RpoE)	36
Utilización de nitrógeno	Escasez de NH_3	Activadora (NRI)/sigma alternativo RpoN	>12
Estrés oxidativo	Agentes oxidantes	Activadora (OxyR)	>30
Respuesta SOS	DNA dañado	Represora (LexA)	>20

[a] Para muchos de los sistemas de regulación global, la regulación es compleja. Una sola proteína reguladora puede ejercer más de una función. Por ejemplo, la proteína reguladora en la respiración aerobia es un represor de muchos promotores y un activador para otros, mientras la proteína reguladora en la respiración anaerobia es una proteína activadora para muchos promotores y un represor para otros. La regulación también puede ser indirecta o precisar más de una proteína reguladora. Algunas proteínas reguladoras implicadas son miembros de sistemas de dos componentes (Sección 9.5). Muchos genes están regulados por más de un sistema global.

las células a recuperarse del estrés. No sólo son inducidas por calor, también por otros factores de estrés con los que se pueden encontrar las células, entre los que se incluyen determinados productos químicos —como el etanol— y la exposición a altas dosis de radiación ultravioleta.

En *E. coli* y en la mayoría de procariotas analizados, existen tres clases principales de proteínas de choque térmico, Hsp70, Hsp60 y Hsp10. Ya hemos encontrado estas proteínas anteriormente, aunque no con estos nombres. La proteína Hsp70 de *E. coli* es DnaK, que impide la agregación de las proteínas recién sintetizadas y estabiliza las proteínas desplegadas (Sección 7.17). Los principales representantes de las familias Hsp60 y Hsp10 en *E. coli* son las proteínas GroEL y GroES, respectivamente. Son chaperonas moleculares que catalizan el plegamiento correcto de proteínas que se han plegado de modo incorrecto (Sección 7.17 y Figura 7.40). Otra clase de proteínas de choque térmico incluye varias proteasas que funcionan en la célula eliminando proteínas desnaturalizadas o proteínas agregadas irreversiblemente.

Las proteínas de choque térmico parecen ser muy antiguas y están altamente conservadas. La secuenciación molecular de las proteínas de choque térmico, especialmente la Hsp70, se ha utilizado para tratar de dilucidar la filogenia de los eucariotas. Las proteínas de choque térmico están presentes en todas las células, aunque el sistema regulador que controla su expresión varía mucho en diferentes grupos de organismos.

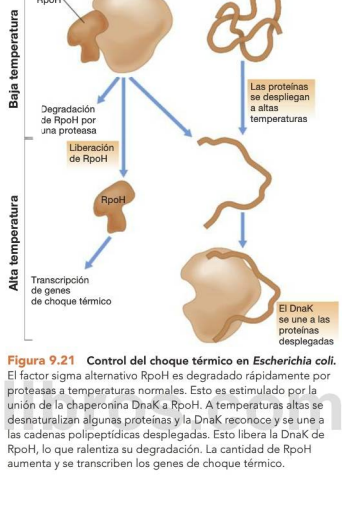


Figura 9.21 **Control del choque térmico en *Escherichia coli*.** El factor sigma alternativo RpoH es degradado rápidamente por proteasas a temperaturas normales. Esto es estimulado por la unión de la chaperonina DnaK a RpoH. A temperaturas altas se desnaturalizan algunas proteínas y la DnaK reconoce y se une a las cadenas polipeptídicas desplegadas. Esto libera la DnaK de RpoH, lo que ralentiza su degradación. La cantidad de RpoH aumenta y se transcriben los genes de choque térmico.

Respuesta al choque térmico

En muchas bacterias, como *E. coli*, la respuesta al choque térmico está controlada por los factores sigma alternativos RpoH (σ^{32}) y RpoE (**Figura 9.21**). El factor sigma RpoH controla la expresión de las proteínas de choque térmico en el citoplasma, y RpoE (de la que se sabe menos) regula la expresión de un grupo diferente de proteínas de choque térmico en el periplasma y en la envoltura celular. RpoH es degradada normalmente uno o dos minutos después de su síntesis. No obstante, cuando las células sufren un choque térmico, la degradación de RpoH es inhibida y, por tanto, su cantidad aumenta. En consecuencia, la transcripción de aquellos operones cuyo promotor es reconocido por la RpoH aumenta también. La velocidad de degradación de RpoH depende de la cantidad de la proteína DnaK libre, que inactiva a RpoH. En las células no sometidas a estrés, la cantidad de DnaK libre es relativamente alta y, por tanto, la cantidad de RpoH intacta es baja. Sin embargo, cuando el calor provoca el desplegamiento de las proteínas, DnaK se une preferentemente a las proteínas desplegadas, de manera que deja de estar libre para promover la degradación de RpoH. Así, cuantas más proteínas desnaturalizadas existen, menos DnaK libre y más RpoH hay; el resultado es la expresión de las proteínas de choque térmico.

Cuando termina la situación de estrés, por ejemplo por la disminución de la temperatura, RpoH es inactivada rápidamente por DnaK, y la síntesis de las proteínas de choque térmico se reduce en gran medida. Como las proteínas de choque térmico realizan funciones vitales para la célula, siempre hay una pequeña cantidad de estas proteínas, incluso cuando las células se encuentran en condiciones óptimas de crecimiento. Sin embargo, la rápida síntesis de las proteínas de choque térmico en células estresadas pone de manifiesto su importancia en la supervivencia en situaciones de excesivo calor, presencia de agentes químicos o físicos. El calor y otras situaciones de estrés pueden generar grandes cantidades de proteínas inactivas que necesitan volver a plegarse (y, en el proceso, reactivarse) o ser degradadas para liberar aminoácidos para la biosíntesis de proteínas nuevas.

También en arqueas se produce una respuesta al choque térmico, incluso en especies que crecen mejor a temperaturas muy altas. En muchas arqueas se ha encontrado un análogo de la Hsp70 bacteriana, y su estructura es bastante similar a las que se han encontrado en especies de bacterias grampositivas. La Hsp70 también está presente en eucariotas. Además, hay otros tipos de proteínas de choque térmico en arqueas que no están relacionadas con las proteínas de estrés bacterianas.

9.11 Minirrevisión

Las células pueden controlar conjuntos de genes utilizando factores sigma alternativos. Éstos reconocen sólo determinados promotores y permiten así la transcripción de una categoría seleccionada de genes que son adecuados en condiciones ambientales concretas. Las células responden al calor y al frío expresando grupos de genes cuyos productos ayudan a la célula a superar el estrés.

- ¿Por qué las células tienen más de un tipo de factor sigma?
- ¿Por qué las proteínas inducidas durante un choque térmico no serían necesarias durante un choque frío?

V REGULACIÓN DEL DESARROLLO EN BACTERIAS MODELO

La diferenciación y el desarrollo son, en gran medida, características de los organismos multicelulares. Como la mayoría de microorganismos procarióticos crecen como células individuales, pocos presentan diferenciación. No obstante, hay ejemplos aislados entre procariotas unicelulares que ilustran el principio básico de la diferenciación, es decir, que una célula da lugar a dos descendientes genéticamente idénticos que desarrollan funciones diferentes y, por tanto, expresan conjuntos de genes distintos. Vamos a analizar dos ejemplos bien conocidos, la formación de endosporas en la bacteria grampositiva *Bacillus* y la formación de dos tipos de células, móviles y estacionarias, en la bacteria gramnegativa *Caulobacter*.

Aunque la formación de sólo dos tipos de células diferentes puede parecer simple superficialmente, los sistemas reguladores que controlan estos procesos son muy complejos. La regulación de la diferenciación consta de tres fases principales: 1) desencadenamiento de la respuesta, 2) desarrollo asimétrico de dos células hermanas y 3) comunicación recíproca entre las dos células que se están diferenciando.

9.12 Esporulación en *Bacillus*

Muchos microorganismos, tanto procarióticos como eucarióticos, responden a las condiciones adversas formando esporas. Cuando se vuelve a las condiciones favorables, la espora germina y el microorganismo regresa a su estilo de vida normal (Sección 4.12). Entre las bacterias, el género *Bacillus* es bien conocido por la formación de endosporas, esporas formadas en el interior de una célula madre. Antes de la formación de endosporas, la célula se divide asimétricamente. La célula más pequeña se desarrolla para formar la endospora, que está rodeada por la célula madre más grande (Sección 4.12). Cuando se ha completado el desarrollo, la célula madre se rompe y libera la endospora.

La formación de endosporas en *Bacillus subtilis* está desencadenada por condiciones externas adversas, como la inanición, la desecación o las temperaturas que inhiben el crecimiento. De hecho, muchos aspectos del entorno son monitorizados por un grupo de cinco quinasas sensoras que funcionan a través de un sistema de fosfotransferencia cuyo mecanismo recuerda al sistema regulador de dos componentes (Sección 9.5), pero es considerablemente más complejo (**Figura 9.22**). El resultado neto de muchas condiciones adversas es la fosforilación sucesiva de varias proteínas llamadas *factores de esporulación*, y culmina con el factor de esporulación Spo0A (Figura 9.22*a*). Cuando Spo0A está muy fosforilado, se producen los mecanismos que conducen a la esporulación.

Desarrollo de la endospora

Una vez iniciado, el desarrollo de la endospora está controlado por cuatro factores sigma diferentes, dos de los cuales (σF y σG) activan los genes necesarios en la propia endospora en desarrollo, y otros dos (σE y σK) activan los genes necesarios para la célula madre que envuelve la endospora (Figura 9.22*b*). La señal de esporulación, transmitida a través de Spo0A, activa a σF en la célula más pequeña, destinada a convertirse en endospora. σF ya está presente, pero se encuentra inactiva, al estar unida a un factor antisigma. La señal de Spo0A activa una proteína que se une al factor antisigma, lo inactiva y libera la σF. Una vez libre, σF se une a la RNA-polimerasa y permite la transcripción (en el interior de la espora) de los genes cuyos productos serán necesarios en la siguiente etapa de la esporulación. Entre ellos se encuentra el gen del factor sigma σG y los genes para las proteínas que entran a la célula madre y activan el factor σE. Este factor σE es necesario para la transcripción en el interior de la célula madre de más genes, incluido el gen del factor sigma σK. Los factores sigma σG (en la endospora) y σK (en la célula madre) son necesarios para la transcripción de genes necesarios incluso más adelante en el proceso de esporulación.

Un aspecto fascinante de la formación de endosporas es que está precedida por lo que es en realidad canibalismo celular. Aquellas células en las que Spo0A ya ha sido activada secretan una proteína que lisa células vecinas de la misma especie cuya proteína Spo0A no está aún activa. Esta proteína tóxica va acompañada por una segunda proteína que retrasa la esporulación de las células vecinas. Las células destinadas a la esporulación también sintetizan una proteína antitoxina para protegerse de los efectos de su propia toxina. Las células hermanas sacrificadas son utilizadas como fuente de nutrientes por las endosporas en desarrollo. De hecho, la disminución de determinados nutrientes, como el fosfato, aumenta la expresión del gen que codifica la toxina.

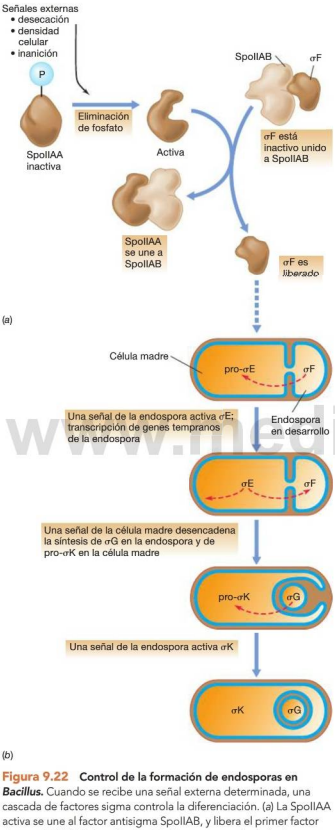


Figura 9.22 **Control de la formación de endosporas en *Bacillus*.** Cuando se recibe una señal externa determinada, una cascada de factores sigma controla la diferenciación. (*a*) La SpoIIAA activa se une al factor antisigma SpoIIAB, y libera el primer factor sigma, *σF*. (*b*) El factor sigma *σF* inicia una cascada de factores sigma, algunos de los cuales ya existen y necesitan ser activados, y otros no están aún presentes y tienen que ser expresados. Después, estos factores sigma promueven la transcripción de los genes necesarios para el desarrollo de la endospora.

9.12 Minirrevisión

La esporulación en condiciones adversas es desencadenada mediante un sistema complejo de fosfotransferencia que monitoriza múltiples aspectos del entorno. El factor de esporulación Spo0A pone en marcha entonces una cascada de respuestas reguladoras bajo el control de varios factores sigma alternativos.

- ¿Cómo se expresan los diferentes grupos de genes en la endospora en desarrollo y en la célula madre?
- ¿Qué es el factor antisigma y cómo se puede contrarrestar su efecto?

9.13 Diferenciación de *Caulobacter*

Caulobacter nos ofrece otro ejemplo de célula que se divide en dos células hijas genéticamente idénticas que desarrollan funciones diferentes y expresan conjuntos de genes distintos. *Caulobacter* es una especie de *Proteobacteria* común en ambientes acuáticos, normalmente en aguas muy pobres en nutrientes (oligotróficas) (Sección 15.16). En el ciclo de vida de *Caulobacter*, las células nadadoras alternan con otras que carecen de flagelos y están unidas a superficies por un pedúnculo con un ancla en el extremo. La función de las células nadadoras es la dispersión, porque las nadadoras no pueden dividirse ni replicar su DNA. Por el contrario, la función de las células pedunculadas es la reproducción.

Ciclo de vida de *Caulobacter*

El ciclo de vida de *Caulobacter* está controlado por tres proteínas reguladoras principales cuyas concentraciones oscilan sucesivamente. Dos de ellas son los reguladores transcripcionales GcrA y CtrA. La tercera es DnaA, una proteína que opera con su función habitual en la replicación del DNA, y también como regulador transcripcional. Cada uno de estos reguladores está activo en una etapa específica del ciclo celular, y cada uno controla otros muchos genes necesarios en dicho ciclo en concreto (**Figura 9.23**).

CtrA se activa por fosforilación en respuesta a señales externas. Una vez fosforilada, CrtA-P activa los genes necesarios para la síntesis de los flagelos y otras funciones de las células nadadoras. Por otra parte, reprime la síntesis de GcrA e inhibe la iniciación de la replicación del DNA uniéndose al origen de replicación y bloqueándolo (Figura 9.23). A medida que se desarrolla el ciclo celular, CrtA es degradada por una proteasa específica; en consecuencia, la cantidad de DnaA crece. La ausencia de CtrA-P permite el acceso al origen cromosómico de la replicación y, como en todas las bacterias, DnaA se une al origen y da comienzo a la iniciación de la replicación del DNA (Sección 7.6). Además, en *Caulobacter*, la DnaA activa otros genes necesarios para la replicación cromosó-

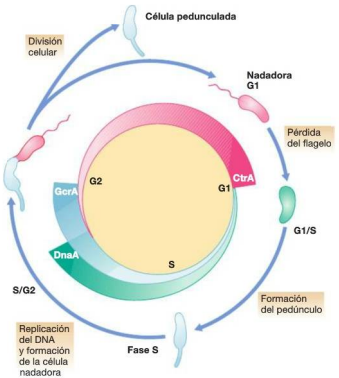


Figura 9.23 **Regulación del ciclo celular en *Caulobacter*.** Las cantidades de tres reguladores globales, CtrA, DnaA y GcrA, oscilan a lo largo del ciclo, tal y como se muestra en la figura. En las células nadadoras en G1, CtrA reprime la iniciación de la replicación del DNA y la expresión de GcrA. En la transición G1/S, CtrA es degradado y la cantidad de DnaA aumenta. DnaA se une al origen de replicación e inicia la replicación. GcrA también crece y activa los genes de la división celular y la síntesis de DNA. En la transición S/G2, la cantidad de CtrA empieza a aumentar de nuevo y detiene la expresión de GcrA. La cantidad de GcrA disminuye lentamente en la célula pedunculada, pero es rápidamente degradada en las nadadoras. CtrA es degradada en la célula pedunculada.

mica. La cantidad de DnaA desciende después a causa de la degradación por proteasas, y la cantidad de GcrA aumenta. El regulador GcrA promueve la fase de elongación de la replicación cromosómica, la división celular y el crecimiento del pedúnculo en la célula hija inmóvil. Finalmente, la cantidad de GcrA disminuye y crece de nuevo el contenido en CtrA (en la célula hija destinada a nadar) (Figura 9.23).

Muchos de los detalles de la regulación del ciclo celular de *Caulobacter* siguen sin estar claros. Se sabe que tanto los estímulos externos como los factores internos (como las reservas de nutrientes y de metabolitos) afectan al ciclo, pero el modo en que esta información se integra en el sistema de control global se conoce sólo en parte. Sin embargo, desde que se secuenció su genoma y se dispone de buenos sistemas genéticos, la diferenciación de *Caulobacter* se ha utilizado como sistema modelo para estudiar los procesos del desarrollo.

9.13 Minirrevisión

La diferenciación en *Caulobacter* consiste en la alternancia entre las células móviles y las que se unen a superficies. Tres proteínas reguladoras principales, CtrA, GcrA y DnaA, actúan sucesivamente para controlar otros muchos genes necesarios en momentos específicos del ciclo celular.

- ¿Por qué durante el ciclo celular de *Caulobacter* la cantidad de proteína DnaA está regulada?
- ¿Cuándo llevan a cabo sus funciones principales los reguladores CtrA y GcrA durante el ciclo celular de *Caulobacter*?

VI REGULACIÓN BASADA EN EL RNA

Hasta aquí hemos analizado varios mecanismos que utilizan las células para regular la transcripción de sus genes. Para ello, nos hemos centrado en mecanismos en los que las proteínas reguladoras detectan señales o se unen al DNA. En algunos casos, una sola proteína desempeña estas dos funciones; en otras hay proteínas independientes para cada una de ellas. Sin embargo, todos estos mecanismos dependen de *proteínas reguladoras*. No obstante, el propio RNA puede regular la expresión génica, tanto a nivel de la transcripción como de la traducción del mRNA para producir proteínas.

Las moléculas de RNA que no son traducidas para dar proteínas se conocen colectivamente como **RNA no codificante**. Esta categoría incluye las moléculas de rRNA y de tRNA que participan en la síntesis de proteínas, así como el RNA presente en la partícula de reconocimiento de señal, una estructura que identifica las proteínas recién sintetizadas para su secreción al exterior de la célula (Sección 7.17). El RNA no codificante también incluye las moléculas de RNA pequeño necesarias para el procesamiento del RNA, especialmente el empalme del mRNA en eucariotas (Sección 8.8). Además, se conoce toda una serie de moléculas de RNA pequeño (sRNA). Los RNA pequeños tienen una longitud aproximada de entre 40 y 400 nucleótidos y regulan la expresión génica tanto en procariotas como en eucariotas. En *Escherichia coli*, por ejemplo, se ha encontrado una serie de moléculas de sRNA que regulan distintos aspectos de la fisiología celular uniéndose a otros RNA o incluso a otras pequeñas moléculas en algunos casos.

9.14 Regulación por RNA y RNA antisentido

La forma más frecuente en que las moléculas de RNA regulador ejercen sus funciones es mediante el apareamiento de bases con otras moléculas de RNA, normalmente

mRNA, que tienen regiones con complementariedad de secuencia. Estas regiones de doble cadena sujetan el mRNA e impiden su traducción (**Figura 9.24**). Los RNA pequeños con esta actividad se llaman *RNA antisentido*, porque el sRNA tiene una secuencia complementaria a la región codificante del mRNA.

Los RNA antisentido inspeccionan el citoplasma en busca de sus mRNA complementarios y forman RNA bicatenarios con ellos. Los RNA bicatenarios no pueden traducirse y pronto son degradados por ribonucleasas específicas (Figura 9.24). De este modo se elimina el mRNA y se impide la síntesis de nuevas proteínas a partir de las moléculas de mRNA ya presentes en la célula, pero cuyos productos génicos ya no son necesarios debido a un cambio en las condiciones nutricionales o por cualquier otra razón.

Regulación por RNA antisentido

Teóricamente, el RNA antisentido podría sintetizarse transcribiendo la cadena no molde del mismo gen que produce un determinado mRNA. En cambio, se utiliza un «antigén» diferente para formar el mRNA antisentido. Sólo es necesario un fragmento relativamente pequeño de RNA antisentido para bloquear la transcripción de un mRNA, de modo que el «antigén» que codifica el RNA antisentido es mucho más corto que el gen que codifica el mensaje original. Normalmente, los RNA antisentido tienen una longitud de unos 100 nucleótidos y se unen a una región diana de aproximadamente 30 nucleótidos. No obstante, cada RNA puede regular varios mRNA diferentes que comparten la misma secuencia diana para la unión del mRNA antisentido.

La transcripción del RNA antisentido se ve estimulada en condiciones en las que los genes diana necesitan ser desactivados. Así, por ejemplo, el RNA antisentido RyhB de *E. coli* se transcribe cuando el hierro resulta limitante para el crecimiento. El RNA RyhB se une a una docena o más de mRNA que codifican proteínas necesarias para el metabolismo del hierro o que utilizan el hierro como cofactor. Las moléculas apareadas RyhB/mRNA son degradadas a continuación por ribonucleasas, en concreto la ribonucleasa E. Esto forma parte del mecanismo por el cual *E. coli* y otras bacterias relacionadas responden a la disminución de hierro. Otras respuestas a la limitación de hierro en *E. coli* incluyen el control transcripcional con proteínas represoras y activadoras (Secciones 9.3 y 9.4) que actúan incrementando la capacidad de las células para captar hierro y llevarlo a los depósitos intracelulares de hierro.

Si bien normalmente bloquea la traducción del mRNA, se conocen algunos ejemplos aislados en los que el RNA antisentido hace exactamente lo contrario y en realidad estimula la traducción de su mRNA diana. Se supone que en estos casos el mRNA nativo adquiere una estructura secundaria que impide la traducción. El mRNA podría, entonces, unirse a una corta región del mRNA y desplegarlo, lo que permitiría el acceso del ribosoma.

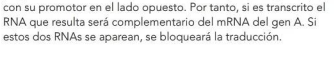


Figura 9.24 Regulación por RNA antisentido. El gen A es transcrito desde su promotor para producir un mRNA que puede ser traducido para formar la proteína A. El gen x es un gen pequeño con una secuencia idéntica a la de parte del gen A pero con su promotor en el lado opuesto. Por tanto, si es transcrito el RNA que resulta será complementario del mRNA del gen A. Si estos dos RNAs se aparean, se bloqueará la traducción.

9.14 Minirrevisión

Las células pueden controlar sus genes de varias maneras mediante el uso de moléculas de RNA regulador. Un modo es aprovechar el apareamiento de bases y utilizar RNA antisentido para formar RNA bicatenario que no podrá ser traducido.

- ¿Por qué los RNA antisentido son mucho más cortos que las moléculas de mRNA a las que se unen?
- ¿Cómo sintetizan las células las moléculas de mRNA antisentido?
- ¿Qué ocurre con las moléculas de mRNA tras la unión a sus RNA antisentido?

9.15 Interruptores de RNA

Uno de los hallazgos más interesantes de la biología molecular fue el descubrimiento de que el RNA puede llevar a cabo muchas funciones que se creían exclusivas de las proteínas. En concreto, el RNA puede reconocer específicamente y unirse a otras moléculas, incluidos metabolitos de bajo peso molecular. Es importante destacar que estas uniones no implican apareamiento de bases complementarias (como ocurre con el RNA antisentido descrito en la Sección anterior), sino que se producen como resultado del plegamiento del RNA en una estructura tridimensional que reconoce la molécula diana, de forma muy similar al modo en que una enzima reconoce su sustrato. Algunas de estas moléculas de RNA se llaman *ribozimas* porque son catalíticamente activas al igual que las enzimas. Ya hablamos de los ribozimas en la Sección 8.8. Otras moléculas de RNA se parecen a los represores y a los activadores en que se unen a metabolitos como

aminoácidos y vitaminas y regulan la expresión génica: son los **interruptores de RNA**.

Algunos mRNA contienen regiones anteriores a las secuencias codificantes que pueden plegarse en estructuras tridimensionales específicas y unir pequeñas moléculas (**Figura 9.25**). Estos dominios de reconocimiento son interruptores moleculares y existen con dos estructuras alternativas, una con la molécula pequeña unida y la otra sin ella. La alternancia entre las dos formas del interruptor de RNA depende, pues, de la presencia o ausencia de la molécula de unión y a su vez controla la síntesis de mRNA. Se han encontrado interruptores de RNA que controlan la síntesis de enzimas de las rutas biosintéticas de varios cofactores enzimáticos, como las vitaminas tiamina, riboflavina y cobalamina (B_{12}), de algunos aminoácidos, de las bases purínicas adenina y guanina, y del 6-fosfato de glucosamina, un precursor en la biosíntesis de peptidoglicanos.

Mecanismo de los interruptores de RNA

El mecanismo de control del interruptor de RNA es análogo a uno que ya hemos visto. Anteriormente en este Capítulo, hemos analizado la regulación de la síntesis de enzimas por control negativo de la transcripción (Sección 9.3).

En este caso, la presencia de un metabolito específico detiene la transcripción de genes que codifican enzimas para la ruta biosintética correspondiente. Esto se consigue gracias a una proteína represora, como el represor de arginina en el caso del operón biosintético de arginina (Figura 9.5).

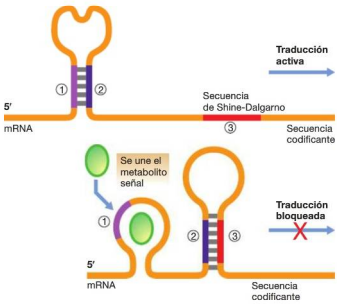


Figura 9.25 Regulación por interruptor de RNA. La unión de un metabolito específico altera la estructura secundaria del dominio del interruptor de RNA, que está situado en la región 5′ sin traducir del mRNA e impide la traducción. La secuencia de Shine-Dalgarno es el lugar en que el ribosoma se une al RNA.

En el caso de un interruptor de RNA, no existe proteína reguladora. En cambio, el metabolito se une directamente al dominio interruptor en el extremo 5′ del mRNA. Los interruptores de RNA normalmente ejercen su control una vez que el mRNA ya ha sido sintetizado. Por lo tanto, la mayoría de ellos funcionan controlando la *traducción* del mRNA en lugar de su *transcripción*.

El metabolito que se une al interruptor de RNA es, típicamente, el producto de una ruta biosintética cuyas enzimas constituyentes son codificadas por el mRNA que porta los interruptores correspondientes. Por ejemplo, el interruptor de tiamina que se une al pirofosfato de tiamina se encuentra en las zonas anteriores a las secuencias codificantes de las enzimas que participan en la ruta biosintética de la tiamina. Cuando la reserva de pirofosfato de tiamina es suficiente en la célula, este metabolito se une a su interruptor específico en el mRNA. La nueva estructura secundaria del interruptor de RNA bloquea la secuencia de unión al ribosoma Shine-Dalgarno en el mRNA (Sección 7.15) y evita que el mensaje se una al ribosoma; esto impide la traducción (Figura 9.25). Si la concentración de pirofosfato de tiamina desciende lo suficiente, esta molécula puede disociarse de su mRNA interruptor, lo que provoca el desplegamiento del mensaje y la exposición de la secuencia de Shine-Dalgarno, de manera que el mRNA se puede unir al ribosoma y ser traducido.

La piritiamina, que es un análogo de la tiamina, bloquea la síntesis de tiamina y, así, inhibe el crecimiento bacteriano. Hasta el descubrimiento de los interruptores de RNA, el centro de acción de la piritiamina era un misterio. Ahora se sabe que la piritiamina se convierte en la célula en pirofosfato de piritiamina, que después se une al interruptor de la tiamina. Así, la ruta biosintética es desactivada incluso aunque no haya tiamina disponible. Los mutantes bacterianos seleccionados por su resistencia a la piritiamina también presentan alteraciones en la secuencia del interruptor de RNA que provocan el fallo en la unión tanto del pirofosfato de piritiamina como del pirofosfato de tiamina.

En *Bacillus subtilis*, donde cerca del 2% de los genes están bajo control de interruptores de RNA, el mismo interruptor está presente en varios mRNA que, en conjunto, codifican las proteínas de una ruta concreta. Por ejemplo, cerca de una docena de genes en seis operones son controlados por el interruptor de la tiamina.

A pesar de formar parte del mRNA, algunos interruptores controlan la transcripción. El mecanismo es similar al que hemos visto en la atenuación —un cambio conformacional en el interruptor provoca la terminación prematura de la síntesis del mRNA que lo contiene (Sección 9.16).

Interruptores de RNA y evolución

¿Cómo de extendidos están los interruptores de RNA y cómo evolucionaron? Por el momento, los interruptores de RNA se han encontrado únicamente en algunas bacterias, algunas plantas y ciertos hongos. Algunos científicos creen que se trata de reminiscencias del mundo de

RNA, un período de hace eones, antes de la existencia de las células, el DNA y las proteínas, cuando se supone que los RNA catalíticos eran la única forma de vida autorreplicante (Sección 14.2). En este entorno, los interruptores de RNA pueden haber sido un mecanismo primitivo de control metabólico, un medio simple por el que las formas de vida de RNA podrían haber controlado la síntesis de otros RNA. A medida que evolucionaron las proteínas, los interruptores de RNA podrían haber sido también los primeros mecanismos de control para la síntesis de éstas. Si esto es así, los interruptores de RNA de hoy en día pueden ser los últimos vestigios de esta forma simple de control porque, como hemos visto en este Capítulo, la regulación metabólica, excepto en este caso, es llevada a cabo exclusivamente por proteínas reguladoras.

9.15 Minirrevisión

Los interruptores de RNA son dominios de RNA en los extremos 5′ de los mRNA que reconocen pequeñas moléculas y responden modificando su estructura tridimensional. Esto, a su vez, afecta a la traducción del mRNA o, en ocasiones, a su terminación prematura. Los interruptores de RNA son utilizados mayoritariamente para controlar las rutas biosintéticas de aminoácidos, purinas y algunos otros metabolitos.

- ¿Qué ocurre cuando un interruptor de RNA se une a la pequeña molécula que reconoce?
- ¿Cuáles son las diferencias principales entre utilizar una proteína represora y un interruptor de RNA para controlar la expresión génica?

9.16 Atenuación

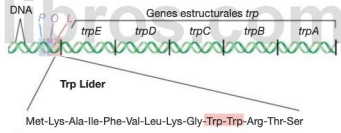
La **atenuación** es una forma de control transcripcional que funciona por terminación prematura de la síntesis de mRNA. Es decir, en la atenuación, el control es ejercido *después* de la iniciación de la transcripción, pero *antes* de su finalización. En consecuencia, el número de transcritos terminados procedentes de un operón se reduce, aunque el número de transcritos iniciados no varíe.

El principio básico de la atenuación es que la primera parte del mRNA que se va a sintetizar, llamada *región líder*, puede plegarse en dos estructuras secundarias alternativas. En este aspecto, el mecanismo de atenuación recuerda al de los interruptores de RNA. En la atenuación, una estructura secundaria del mRNA permite la síntesis continuada del mRNA, mientras que la otra estructura secundaria provoca la terminación prematura. El plegamiento del mRNA depende de acontecimientos en el ribosoma o bien de la actividad de proteínas reguladoras, en función del organismo. Los mejores ejemplos de atenuación implican la regulación de genes que controlan la biosíntesis de determinados aminoácidos en las bacterias gramnegativas. El primero de estos sistemas en ser descrito se encontró en el operón triptófano de *Escherichia coli*, y vamos a centrarnos en él. El control por atenuación se ha documentado en otras especies de *Bacteria* y análisis genómicos de *Archaea* sugieren que el mecanismo también está presente en este dominio. Sin embargo, como los procesos de transcripción y traducción están separados espacialmente en eucariotas, el control por atenuación está ausente en *Eukarya*.

La atenuación y el operón triptófano

El operón triptófano contiene genes estructurales para cinco proteínas de la ruta biosintética del triptófano, más el promotor habitual y las secuencias reguladoras al principio del operón (**Figura 9.26**). Como muchos operones, el operón triptófano tiene más de un tipo de regulación. La primera enzima de la ruta, la antranilato-sintasa (una enzima formada por varias subunidades codificada por *trpD* y *trpE*) está sujeta a retroinhibición por triptófano (Sección 5.18). La transcripción de todo el operón triptófano posee también regulación por control negativo (Sección 9.3). No obstante, además de las regiones promotora (P) y operadora (O) necesarias para el control negativo, hay una secuencia en el operón llamada *secuencia líder*.

www.medilibros.com



(a)

Treonina	Met-Lys-Arg-Ile-Ser-Thr-Thr-Ile-Thr-Thr-Thr-Ile-Thr-Ile-Thr-Thr-Gly-Asn-Gly-Ala-Gly
Histidina	Met-Thr-Arg-Val-Gln-Phe-Lys-His-His-His-His-His-His-His-His-Pro-Asp
Fenilalanina	Met-Lys-His-Ile-Pro-Phe-Phe-Phe-Ala-Phe-Phe-Phe-Thr-Phe-Pro

(b)

Figure 9.26 **La atenuación y el péptido líder.** Estructura del operón triptófano y de los péptidos líder del triptófano y de otros operones en *Escherichia coli*. (*a*) Disposición del operón triptófano. Obsérvese que el líder (L) codifica un pequeño péptido que contiene dos residuos de triptófano cerca del extremo terminal (después del codón Ser hay un codón de parada). El promotor está representado por una P y el operador por una O. Los genes del *trpE* al *trpA* codifican las enzimas necesarias para la síntesis de triptófano. (*b*) Secuencias aminoacídicas de los péptidos líder de algunos operones para la síntesis de aminoácidos. Como la isoleucina se sintetiza a partir de la treonina, es un importante constituyente del péptido líder de la treonina.

La secuencia líder codifica un polipéptido corto, el *péptido líder*, que contiene codones de triptófano en tándem cerca de su extremo terminal y funciona como un atenuador (Figura 9.26).

La base del control del atenuador de triptófano es la siguiente: si el triptófano es abundante en la célula, habrá una reserva suficiente de tRNA cargado con triptófano y el péptido líder será sintetizado. Por otra parte, si el triptófano es escaso, el péptido líder rico en triptófano no se sintetizará. La síntesis del péptido líder provoca la terminación de la transcripción del operón *trp* restante, que incluye los genes estructurales para las enzimas biosintéticas. Por el contrario, si la síntesis de péptido líder es bloqueada por la deficiencia de triptófano, el resto del operón es transcrito. **www.microbiologyplace.com Tutorial online 9.2 La atenuación y el operón triptófano.**

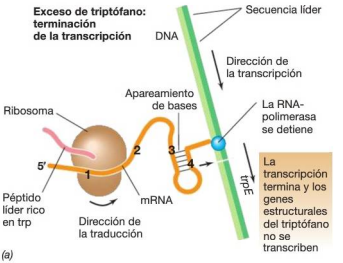
El mecanismo de atenuación

¿Cómo puede la traducción del péptido líder regular la transcripción de los genes de triptófano que hay a continuación? Consideremos que en las células procariotas la transcripción y la traducción son procesos simultáneos; a medida que el mRNA es liberado del DNA, el ribosoma se une a él y empieza la traducción (Figura 7.29). Es decir, mientras aún se está realizando la transcripción de las secuencias posteriores del DNA, la traducción de las secuencias transcritas ya ha empezado (**Figura 9.27**).

La atenuación se produce (se detiene la transcripción) porque una porción del mRNA recién formado se pliega en una única estructura tallo-bucle que provoca el cese de la actividad RNA-polimerasa. Esta estructura tallo-bucle se forma en el mRNA porque hay dos secuencias de nucleótidos cercanos entre sí que son complementarios y pueden aparearse. Si el triptófano es abundante, el ribosoma traducirá la secuencia líder hasta llegar al codón de parada líder. El resto del RNA líder asume entonces la estructura tallo-bucle, un centro de pausa de la transcripción, que va seguido de una secuencia rica en uracilos que es la que en realidad provoca la terminación (Figura 9.27).

Si el triptófano es escaso, obviamente es deseable la transcripción de los genes que codifican las enzimas biosintéticas del triptófano. Durante la transcripción del líder, el ribosoma se detiene en un codón triptófano a causa de la escasez de tRNA cargados con triptófano. La presencia del ribosoma estancado en esta posición permite la formación de una estructura tallo-bucle diferente del tallo-bucle terminador (sitios 2 y 3 en la Figura 9.27). Esta estructura alternativa no es una señal de terminación de la transcripción; en cambio, impide la formación de la estructura tallo-bucle terminadora (sitios 3 y 4 de la Figura 9.27). Esto permite a la RNA-polimerasa superar el sitio de terminación y empezar la transcripción de los genes estructurales del triptófano. Así pues, en el control por atenuación, la velocidad de la transcripción está influida por la velocidad de la traducción.

La atenuación también se produce en *Escherichia coli* en las rutas biosintéticas de la histidina, la treonina-isoleucina, la fenilalanina y otros aminoácidos y metabolitos esenciales. Como se muestra en la Figura 9.26*b*, el péptido líder de cada uno de estos operones biosintéticos de aminoácidos es rico en ese aminoácido concreto. El operón *his* es especialmente relevante, porque tiene siete histidinas en fila cerca del final del péptido líder (Figura 9.26*b*). Este tramo más largo de los codones reguladores da a la atenuación un efecto importante en la regulación,



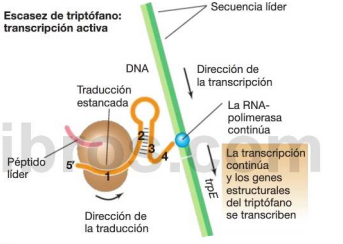


Figura 9.27 Mecanismo de atenuación. Control de la transcripción de los genes estructurales del operón triptófano por atenuación en *Escherichia coli*. El péptido líder está codificado por las regiones 1 y 2 del mRNA. Hay dos regiones de la cadena de mRNA en crecimiento capaces de formar bucles de doble cadena, mostrados como 3:4 y 2:3. (*a*) Cuando hay un exceso de triptófano, el ribosoma traduce el péptido líder completo, de manera que la región 2 no puede aparearse con la región 3. Las regiones 3 y 4 se aparean entonces para formar un bucle que detiene la acción de la RNA-polimerasa. (*b*) Si la traducción se estanca debido a la carencia de triptófano, se forma un bucle por apareamiento de las regiones 2 y 3, el bucle 3:4 no se forma y la transcripción procede superando la secuencia líder.

que puede compensar el hecho de que, a diferencia del operón *trp*, el operón *his* no está sometido a control negativo.

Mecanismos de atenuación independientes de la traducción

Las bacterias grampositivas, como *Bacillus*, también utilizan la atenuación de la transcripción para regular determinados operones biosintéticos de aminoácidos. Y, al igual que en las bacterias gramnegativas, el mecanismo se basa en las estructuras secundarias alternativas del mRNA, que en una configuración provocan la terminación. No obstante, el mecanismo es independiente de la traducción y necesita la presencia de una proteína de unión al RNA.

En el operón triptófano de *Bacillus subtilis*, la proteína de unión se llama proteína de atenuación de *trp*. En presencia de una cantidad suficiente del aminoácido triptófano, esta proteína reguladora se une al mRNA líder y provoca la terminación de la transcripción. Por otra parte, si el triptófano es limitante, la proteína no se une al mRNA. Esto permite la formación de la estructura secundaria favorable y la transcripción sigue adelante.

La atenuación también ocurre en genes que no están relacionados con la biosíntesis de los aminoácidos. Obviamente, en estos casos, el mecanismo no depende de la cantidad de aminoácidos. Algunos de los operones de la biosíntesis de pirimidinas (los operones *pyr*) de *E. coli* están regulados por atenuación, y lo mismo ocurre con *Bacillus*. Sin embargo, los mecanismos de los dos organismos son bastante diferentes, si bien ambos utilizan sistemas para medir la cantidad de pirimidinas en la célula. En *E. coli* el mecanismo controla la velocidad de transcripción, no de traducción. Si las pirimidinas son abundantes, la RNA-polimerasa se desplaza y transcribe el DNA líder a velocidad normal; esto permite una estructura tallo-bucle que indica la formación de señales de terminación en el mRNA. Sin embargo, si las pirimidinas son escasas, la polimerasa se detiene en las secuencias ricas en pirimidinas, lo que conduce a la formación de un tallo-bucle no terminador que permite que la transcripción continúe.

En *Bacillus* se utiliza un mecanismo diferente. Para la atenuación de *pyr*, una proteína de unión a RNA controla las estructuras tallo-bucle alternativas del mRNA *pyr* y termina la transcripción cuando las pirimidinas están en exceso. De este modo, la célula puede mantener la cantidad de pirimidinas —compuestos que necesitan una cantidad significativa de recursos de la célula para su biosíntesis (Sección 5.16)— a los niveles necesarios para equilibrar las necesidades biosintéticas.

9.16 Minirrevisión

La atenuación es un mecanismo por el que la expresión génica es controlada después de la iniciación de la síntesis de mRNA. Los mecanismos de atenuación dependen de estructuras tallo-bucle alternativas en el mRNA.

- Explique cómo la formación de una estructura tallo-bucle en el RNA puede bloquear la formación de otra.
- ¿En qué se diferencian la atenuación del operón triptófano de *Escherichia coli* y de *Bacillus subtilis*?

Libros.com

Glosario de términos

AMP cíclico: nucleótido regulador que participa en la represión por catabolito.

Atenuación: mecanismo de control de la expresión génica; típicamente la transcripción termina después de la iniciación pero antes de que se haya sintetizado completamente el mRNA.

Autoinductor: pequeña molécula señal que participa en la percepción de quórum.

Control negativo: mecanismo de regulación de la expresión génica en el que una proteína represora impide la transcripción de genes.

Control positivo: mecanismo de regulación de la expresión génica en que una proteína activadora funciona promoviendo la transcripción de genes.

Expresión génica: transcripción de un gen seguida de traducción del mRNA resultante en proteína(s).

Inducción: producción de una enzima en respuesta a una señal (a menudo la presencia del sustrato de la enzima).

Interruptor de RNA: dominio de RNA, normalmente en una molécula de mRNA, que puede unirse a una pequeña molécula específica y altera su estructura secundaria; esto, a su vez, controla la traducción del mRNA.

Nucleótido regulador: nucleótido que funciona como señal en lugar de incorporarse al RNA o al DNA.

Operón: uno o más genes transcritos en un solo mRNA y sometidos al control de un solo centro regulador.

Percepción de quórum: sistema regulador que detecta la cantidad de población y controla la expresión génica basándose en la densidad celular.

Proteína activadora: proteína reguladora que se une a secuencias específicas del DNA y estimula la transcripción; está implicada en el control positivo.

Proteína quinasa sensora: uno de los miembros de un sistema de dos componentes; una proteína que se autofosforila en respuesta a una señal externa y después transfiere el grupo fosforilo a una proteína reguladora de respuesta.

Proteína reguladora de respuesta: uno de los miembros de un sistema de dos componentes; una proteína que es

fosforilada por una quinasa sensora y actúa como reguladora, a menudo uniéndose al DNA.

Proteína represora: proteína reguladora que se une a secuencias específicas del DNA y bloquea la transcripción; está implicada en el control negativo.

Proteínas de choque térmico: proteínas inducidas por alta temperatura (u otras situaciones de estrés determinadas) que protegen de las altas temperaturas, especialmente volviendo a plegar proteínas parcialmente desnaturalizadas o degradándolas.

Regulón: serie de operones controlados como una unidad.

Represión por catabolito: supresión de rutas catabólicas alternativas por la presencia de una fuente preferente de carbono y energía.

Represión: mecanismo que impide la síntesis de una enzima en respuesta a una señal.

Respuesta al choque térmico: respuesta a las altas temperaturas que incluye la síntesis de proteínas de choque térmico junto a otros cambios en la expresión génica.

Respuesta estricta: control de regulación global que es activado por la carencia de aminoácidos o la deficiencia energética.

RNA no codificante: mólecula de RNA que no se traduce en una proteína.

Sistema regulador formado por dos proteínas: una quinasa sensora y un regulador de respuesta.

Transducción de señal: *véase* sistema regulador de dos componentes.

Preguntas de repaso

1. Explique por qué una proteína que se une a una secuencia específica del DNA bicatenario no puede unirse a la misma secuencia si el DNA es monocatenario (Sección 9.2).
2. La mayoría de operones biosintéticos sólo necesitan estar sometidos a control negativo para que su regulación sea eficaz, mientras que la mayor parte de los operones catabólicos necesitan estar bajo control tanto negativo como positivo. ¿Por qué (Secciones 9.4 y 9.5)?
3. ¿Cuáles son los dos componentes que dan su nombre a un sistema de transducción de señal en procariotas? ¿Cuál es la función de cada uno de los componentes (Sección 9.5)?
4. ¿Cómo se puede considerar la percepción de quórum un mecanismo regulador para la conservación de los recursos de la célula (Sección 9.6)?
5. La adaptación permite restaurar el mecanismo de control de la rotación flagelar. ¿Cómo se consigue (Sección 9.7)?
6. ¿Qué diferencia hay entre un operón y un regulón (Sección 9.9)?
7. Describa el mecanismo de funcionamiento de la proteína receptora de cAMP (CRP), la proteína reguladora de la represión por catabolito, tomando como ejemplo el operón lactosa (Sección 9.9).
8. ¿Qué hechos desencadenan la respuesta estricta? ¿Por qué los acontecimientos de la respuesta estricta son una consecuencia lógica al desencadenamiento de la respuesta (Sección 9.10)?
9. Describa las proteínas producidas cuando las células de *Escherichia coli* sufren un choque térmico. ¿De qué valor son para la célula (Sección 9.11)?
10. ¿En qué se diferencia la regulación por RNA antisentido de la de los interruptores de RNA (Secciones 9.14 y 9.15)?
11. Describa cómo funciona la atenuación transcripcional. ¿Qué se «atenúa» en realidad (Sección 9.16)?
12. ¿Por qué el tipo de atenuación que controla diversas rutas biosintéticas de aminoácidos en *Escherichia coli* no se encuentra en eucariotas (Sección 9.16)?

Ejercicios prácticos

1. ¿Qué ocurriría en la regulación de un promotor sometido a control negativo si la región a la que se une la proteína reguladora fuera eliminada? ¿Y si el promotor estuviera bajo control positivo?
2. Los promotores de *Escherichia coli* sometidos a control positivo no se parecen a la secuencia consenso del DNA para *E. coli* (Sección 7.10). ¿Por qué?
3. El control por atenuación de algunos genes de la ruta de biosíntesis de pirimidinas en *Escherichia coli* implica el acoplamiento entre la transcripción y la traducción. ¿Puede describir un mecanismo por el que la célula pueda, de alguna manera, utilizar la traducción para medir la cantidad de nucleótidos de pirimidina?
4. La mayoría de los sistemas reguladores descritos en este Capítulo utilizan proteínas reguladoras. No obstante, el RNA regulador también es importante. Describa cómo se podría obtener un control negativo del operón *lac* usando uno de los dos tipos de RNA regulador existentes.
5. Muchos operones de biosíntesis de aminoácidos bajo control por atenuación están también sometidos a control negativo. Teniendo en cuenta que el entorno de una bacteria puede ser muy dinámico, ¿qué ventaja podría conferir el uso de la atenuación como segundo mecanismo de control?

www.libreriauniversitaria.it

10

Una visión rápida de los virus y la virología

I ESTRUCTURA Y CRECIMIENTO DE LOS VIRUS 275
10.1 Propiedades generales de los virus 275
10.2 Naturaleza del virión 276
10.3 El hospedador del virus 280
10.4 Cuantificación de virus 280

II REPLICACIÓN VÍRICA 282
10.5 Características generales de la replicación vírica 282
10.6 Unión y penetración víricas 283
10.7 Producción de ácidos nucleicos y proteínas víricas 285

III DIVERSIDAD VÍRICA 287
10.8 Generalidades de los virus bacterianos 287
10.9 Bacteriófagos virulentos y T4 290
10.10 Bacteriófagos atemperados, lambda y P1 292
10.11 Generalidades de los virus animales 295
10.12 Retrovirus 297

IV ENTIDADES SUBVÍRICAS 299
10.13 Virus defectivos 299
10.14 Viroides 299
10.15 Priones 300

www.medilibros.com

Los virus que infectan células bacterianas están muy extendidos en la naturaleza. La infección de un césped de bacterias creciendo en agar provoca zonas claras, llamadas calvas, en las que las células han sido lisadas.

Los **virus** son elementos genéticos que no pueden replicarse independientemente de una célula viva, llamada **célula hospedadora**. Por tanto, los virus son parásitos intracelulares obligados que tienen que introducirse en una célula viva adecuada para llevar a cabo su ciclo de replicación. No obstante, los virus poseen su propia información genética y son, por tanto, independientes del genoma de la célula hospedadora (Sección 7.4). Sin embargo, a diferencia de elementos genéticos como los plásmidos (Sección 11.2), los virus tienen una forma extracelular, la partícula vírica, que les permite existir fuera del hospedador durante largos períodos y que facilita la transmisión entre una célula y otra. Para multiplicarse, los virus tienen que entrar en una célula en la que puedan replicarse, un proceso llamado *infección*.

Los virus, al igual que los plásmidos y otros elementos genéticos, explotan la maquinaria metabólica de la célula. Como estos otros elementos genéticos, los virus pueden conferir nuevas propiedades importantes a su célula hospedadora. Estas propiedades se heredarán cuando la célula hospedadora se divida si cada célula nueva hereda también el genoma vírico. Estos cambios no siempre son perjudiciales, e incluso pueden ser beneficiosos. Los virus pueden replicarse de un modo que resulta destructivo para la célula hospedadora, y esto influye en el hecho de que algunos virus sean agentes de enfermedades. En los capítulos 34 y 35 explicamos una serie de enfermedades humanas causadas por virus.

El estudio de los virus se llama virología, y en este capítulo, que hemos dividido en cuatro partes, vamos a presentar los fundamentos de este campo. En la primera parte se presentan los conceptos básicos de la estructura vírica, la infección de la célula hospedadora y cómo se pueden detectar y cuantificar los virus. La segunda parte trata sobre la biología molecular básica de la replicación vírica. La tercera parte proporciona una visión general de algunos virus fundamentales que infectan bacterias y animales; una explicación más detallada de la diversidad vírica se puede encontrar en el Capítulo 19. La cuarta parte trata sobre las entidades subvíricas.

Los virus son los microorganismos más numerosos de nuestro planeta e infectan todo tipo de organismos celulares. Por tanto, son interesantes por derecho propio. No obstante, los científicos también estudian los virus por lo que pueden enseñarnos sobre la genética y la bioquímica de los procesos celulares y, para muchos virus, el desarrollo de la enfermedad. Además, como veremos en los capítulos 11 y 12, los virus también son herramientas importantes para la genética microbiana y la ingeniería genética.

I ESTRUCTURA Y CRECIMIENTO DE LOS VIRUS

10.1 Propiedades generales de los virus

Aunque los virus no son células, y por lo tanto no están vivos, poseen un genoma que codifica la información que necesitan para replicarse. Sin embargo, los virus dependen de las células hospedadoras para que les proporcionen la energía y los materiales necesarios para replicar sus genomas y sintetizar sus proteínas. En consecuencia, no pueden replicarse a menos que se hayan introducido en una célula hospedadora adecuada.

Los virus pueden existir en forma extracelular o intracelular. En su forma extracelular, un virus es una partícula microscópica que contiene ácido nucleico rodeado por proteínas y, en algunos casos, según el virus en concreto, otras macromoléculas. En esta forma, la partícula vírica, llamada **virión**, es metabólicamente inerte y no realiza respiración ni biosíntesis. El virión es la estructura en la que el genoma vírico se desplaza de la célula en la que fue producido hasta otra célula. Una vez se encuentra en la nueva célula, empieza el estado intracelular y el virus se replica. Se producen nuevas copias del genoma vírico y se sintetizan los componentes que forman la cubierta del virus. Algunos virus animales (como el virus de la polio y el virus respiratorio sincitial) pueden saltarse la etapa extracelular cuando se desplazan de célula a célula dentro del mismo organismo. En este caso, median en la fusión de células infectadas con otras no infectadas y transfieren el virus de este modo. Sin embargo, cuando se mueven de un organismo a otro son completamente extracelulares.

Los genomas víricos son, normalmente, muy pequeños, y codifican principalmente aquellas funciones que los virus no pueden adaptar de sus hospedadores. Así pues, durante la replicación dentro de una célula, los virus dependen en gran medida de los componentes estructurales y metabólicos de la célula hospedadora. El virus redirige las funciones metabólicas del hospedador para sustentar su replicación y el ensamblaje de nuevos viriones. Finalmente, se liberan nuevas partículas víricas y el proceso puede repetirse de nuevo.

Genomas víricos

Todas las células contienen genomas de DNA bicatenario. Por el contrario, los virus pueden tener genomas de DNA o de RNA. (Un grupo de virus utiliza tanto el DNA como el RNA como material genético, pero en diferentes etapas de su ciclo de replicación.) Los genomas víricos se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de ácido nucleico del virión, si es DNA o RNA, y después subdividirse según si éste es monocatenario o bicatenario, lineal o circular (**Figura 10.1**). Algunos genomas víricos son circulares, pero la mayoría son lineales.

Aunque los virus cuyo genoma está formado por DNA siguen el dogma central de la biología molecular (DNA → RNA → proteína, Sección 7.1), los virus de RNA son excepciones a esta regla. No obstante, la información genética sigue fluyendo desde los ácidos nucleicos hacia las proteínas. Además, todos los virus utilizan la maquinaria de traducción de la célula, de modo que independientemente de la estructura genética del virus, debe generarse un RNA mensajero (mRNA) que pueda ser traducido por los ribosomas de la célula hospedadora.

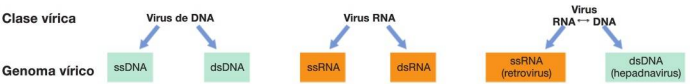


Figura 10.1 **Genomas víricos.** Los genomas de los virus pueden ser de DNA o de RNA, y algunos usan ambos materiales genómicos en diferentes etapas de su ciclo de replicación. No obstante, en el virión de cada tipo particular de virus sólo hay un tipo de ácido nucleico. Éste puede ser monocatenario (ss), bicatenario (ds) o, en los hepadnavirus, parcialmente bicatenario. Algunos genomas víricos son circulares, pero la mayoría son lineales.

Hospedadores víricos y taxonomía

Los virus pueden clasificarse sobre la base de los hospedadores a los que infectan, así como por sus genomas. Así, tenemos virus bacterianos, virus animales, virus vegetales y virus que infectan otras clases de células eucariotas. Los virus bacterianos, en ocasiones llamados **bacteriófagos** (o fagos para abreviar, del griego *phagein*, que significa «comer»), han sido estudiados intensamente como sistemas modelo para la biología molecular y la genética de la replicación vírica. Hay bacteriófagos específicos que infectan especies de *Bacteria* y de *Archaea*. De hecho, muchos de los conceptos básicos de la virología fueron concluidos por vez primera a partir de los virus bacterianos, y posteriormente aplicados a los virus de los organismos superiores. A causa de su frecuente importancia médica, los virus animales también se han estudiado en profundidad, mientras que los virus vegetales, a pesar de su enorme importancia en la agricultura moderna, son los menos estudiados de todos.

Existe un sistema formal de clasificación de los virus que los agrupa en varios taxones, como órdenes, familias e incluso géneros y especies. El taxón familia es especialmente útil. Los miembros de una familia de virus tienen una morfología del virión, una estructura genómica y una estrategia de replicación similares. Los nombres de las familias víricas incluyen el sufijo *-viridae* (como en *Poxiviridae*). Hablaremos de ellos en el Capítulo 19.

10.1 Minirrevisión

Un virus es un parásito obligado que no puede replicarse sin una célula hospedadora adecuada. Un virión es la forma extracelular de un virus y contiene un genoma de RNA o de DNA en el interior de una cubierta proteica. El genoma del virus puede introducirse en una nueva célula hospedadora mediante infección. El virus redirige el metabolismo del hospedador para sustentar su replicación. Los virus se clasifican por sus ácidos nucleicos y por el tipo de hospedador.

- ¿En qué se diferencia un virus de un plásmido?
- ¿En qué se diferencia un virión de una célula?
- ¿Qué es un bacteriófago?

10.2 Naturaleza del virión

Los viriones pueden tener muchos tamaños y formas diferentes. La mayoría de los virus son más pequeños que las células procariotas, con un tamaño que varía entre los 0,02 y los 0,3 μm (20-300 nm). Una unidad de medida habitual para los virus es el nanómetro, que es la milésima parte de un micrómetro. El virus de la viruela, uno de los más grandes, tiene unos 200 nm de diámetro (aproximadamente el tamaño de las células bacterianas más pequeñas). El poliovirus, uno de los virus más pequeños, tiene sólo 28 nm de diámetro (el tamaño de un ribosoma). Por lo tanto, los virus no pudieron ser caracterizados correctamente hasta la invención del microscopio electrónico, en la primera mitad del siglo XX.

Los genomas víricos son más pequeños que los de la mayoría de las células. La mayor parte de los genomas bacterianos tienen entre 1.000 y 1.500 pares de kilobases (kbp) de DNA, y el más pequeño de los conocidos cuenta con sólo 500 kbp. (Curiosamente, las bacterias con los genomas más pequeños son, como los virus, parásitos que se replican en otras células; Secciones 13.2, 15.13 y 16.3.) El mayor genoma vírico conocido, el de *Mimivirus*, está formado por 1,18 Mbp de dsDNA (DNA bicatenario). Este virus, que infecta a protistas como *Amoeba*, es uno de los pocos virus conocidos cuyo genoma es más largo que el de algunas células. En la **Tabla 10.1** se indican los tamaños más típicos de los genomas víricos. Algunos virus poseen genomas tan pequeños que contienen menos de cinco genes. También, como se puede ver en la tabla, el genoma de algunos virus, como el reovirus o el virus de la gripe, está segmentado en más de una molécula de ácido nucleico.

Estructura vírica

La estructura de los viriones es muy variada, tanto en tamaño como en forma o composición química. El ácido nucleico del virión siempre está localizado en el interior de la partícula, rodeado por una cubierta proteica llamada **cápsida**. Esta cubierta proteica está compuesta por una serie de moléculas proteicas individuales, dispuestas siguiendo un patrón preciso y altamente repetitivo alrededor del ácido nucleico (**Figura 10.2**).

El pequeño tamaño del genoma de la mayoría de virus restringe el número de proteínas víricas diferentes. Algu-

Tabla 10.1 Algunos tipos de genomas víricos[a]

			Genoma vírico			
Virus	*Hospedador*	*DNA o RNA*	*Monocatenario o bicatenario*	*Estructura*	*Número de moléculas*	*Tamaño[a]*
Parvovirus H-1	Animales	DNA	Monocatenario	Lineal	1	5.176
ϕX174	Bacterias	DNA	Monocatenario	Circular	1	5.386
Virus 40 de los simios (SV40)	Animales	DNA	Bicatenario	Circular	1	5.243
Poliovirus	Animales	RNA	Monocatenario	Lineal	1	7.433
Virus del mosaico de la coliflor	Plantas	DNA	Bicatenario	Circular	1	8.025
Virus del mosaico del caupí	Plantas	RNA	Monocatenario	Lineal	2 diferentes	9.370 (total)
Reovirus de tipo 3	Animales	RNA	Bicatenario	Lineal	10 diferentes	23.549 (total)
Bacteriófago lambda	Bacterias	DNA	Bicatenario	Lineal	1	48.514[b]
Virus herpes simplex de tipo 1	Animales	DNA	Bicatenario	Lineal	1	152.260
Bacteriófago T4	Bacterias	DNA	Bicatenario	Lineal	1	168.903
Citomegalovirus humano	Animales	DNA	Bicatenario	Lineal	1	229.351

[a] Los tamaños de los genomas víricos elegidos en esta tabla se conocen con exactitud porque han sido secuenciados. No obstante, esta exactitud puede ser errónea porque sólo se ha secuenciado una cepa concreta o el genoma aislado de un virus. Por tanto, la secuencia y el número exacto de bases de otros aislados pueden ser ligeramente diferentes. No se ha pretendido escoger los virus más grandes y más pequeños conocidos, sino dar una muestra representativa de los tamaños y las estructuras del genoma de los virus que contienen RNA y DNA monocatenarios y bicatenarios. El tamaño se da en bases o en pares de bases según si el virus es monocatenario o bicatenario.

[b] Esto incluye las extensiones monocatenarias de 12 nucleótidos en cualquier extremo de la forma lineal del DNA (*véase* la Sección 10.10).

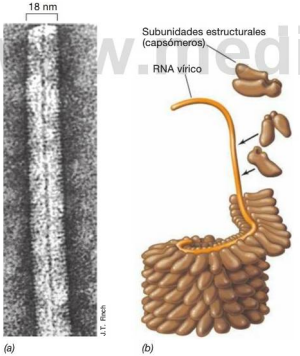


Figura 10.2 Disposición del ácido nucleico y de la cubierta proteica en un virus sencillo, el virus del mosaico del tabaco. (*a*) Micrografía electrónica de alta resolución de un fragmento de la partícula vírica. (*b*) Ensamblaje del virión del virus del mosaico del tabaco. El RNA adopta una configuración helicoidal rodeado por una cápsida proteica. El centro de la partícula está hueco.

nos virus tienen sólo una única clase de proteína en su cápsida, pero la mayoría cuentan con proteínas químicamente distintas que se asocian entre sí de maneras específicas para formar ensamblajes mayores llamados **capsómeros** (Figura 10.2). El capsómero es la unidad morfológica más pequeña que se puede ver al microscopio electrónico. Un solo virión puede tener una gran cantidad de capsómeros. La información para el correcto plegamiento y la agregación de las proteínas en capsómeros está contenida en la estructura de las propias proteínas; así pues, el proceso total de ensamblaje de un virión se denomina *autoensamblaje*.

El complejo completo de ácido nucleico y proteínas empaquetado en el virión recibe el nombre de **nucleocápsida**. A menudo, dentro del virión hay una o más enzimas específicas del virus. Estas enzimas cumplen su función durante los procesos de infección y replicación, como se verá más adelante en este capítulo. Algunos virus están *desnudos*, mientras que otros poseen capas alrededor de la nucleocápsida, que forman lo que se conoce como *envoltura* (**Figura 10.3**).

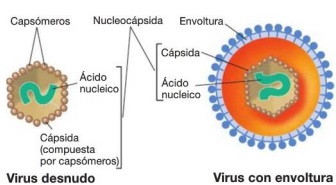


Figura 10.3 Comparación entre una partícula vírica desnuda y una con envoltura.

Simetría de los virus

La nucleocápsida de los virus está construida con una gran dosis de simetría en lo que respecta a la forma de disponerse los capsómeros en la cápsida del virus. Cuando una estructura simétrica se hace rotar alrededor de un eje, la misma forma se ve de nuevo tras una cantidad determinada de grados de rotación. En virus se reconocen dos tipos de simetría, que corresponden a las dos formas principales, bastón y esférica. Los virus con forma de bastón tienen simetría *helicoidal*, mientras que en los virus esféricos la simetría es *icosaédrica*. En todos los casos, la estructura característica de los virus está determinada por la estructura de las subunidades proteicas por las que está formada.

Un virus típico con simetría helicoidal es el virus del mosaico del tabaco (TMV) que se ilustra en la Figura 10.2. Se trata de un virus de RNA en el que los 2.130 capsómeros idénticos están dispuestos formando una hélice. Las dimensiones totales del virión TMV son 18 × 300 nm. La longitud de los virus helicoidales está determinada por la longitud de su ácido nucleico, pero la anchura del virión helicoidal viene dada por el tamaño y el empaquetamiento de las subunidades proteicas.

Un **icosaedro** es una estructura simétrica que tiene 20 caras y 12 vértices y una forma vagamente esférica (**Figura 10.4**). La simetría icosaédrica es la disposición más eficiente de subunidades en una cápsida, ya que utiliza la menor cantidad de unidades para construir cápsida. La disposición más sencilla de capsómeros es de tres por cara, con un total de 60 unidades por virión; pero la mayoría de viriones tienen más ácido nucleico del que se puede empaquetar en una cubierta formada por sólo 60 unidades morfológicas. La siguiente estructura posible que permite el empaquetamiento contiene 180 unidades, y muchos virus tienen cubiertas con esta configuración. Otras configuraciones habituales contienen 240 y 420 unidades.

En la Figura 10.4*a* se muestra un modelo de icosaedro. En la Figura 10.4*b* se muestra el mismo icosaedro visto desde tres ángulos diferentes para ilustrar su compleja simetría 5-3-2. Los ejes de simetría dividen el icosaedro en segmentos (5, 3 o 2) de tamaño y forma idénticos. En la Figura 10.4*c* se muestra una micrografía electrónica de un virus icosaédrico típico, el virus del papiloma humano; este virus está formado por 360 unidades morfológicas agrupadas en grupos de cinco. En la Figura 10.4*d* se puede observar un modelo computerizado del mismo virus, donde los grupos de cinco unidades se ven más fácilmente.

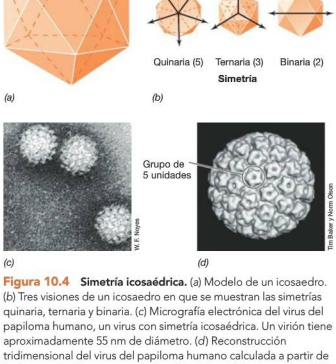


Figura 10.4 Simetría icosaédrica. (*a*) Modelo de un icosaedro. (*b*) Tres visiones de un icosaedro en que se muestran las simetrías quinaria, ternaria y binaria. (*c*) Micrografía electrónica del virus del papiloma humano, un virus con simetría icosaédrica. Un virión tiene aproximadamente 55 nm de diámetro. (*d*) Reconstrucción tridimensional del virus del papiloma humano calculada a partir de imágenes de viriones congelados hidratados. El virus contiene 360 unidades dispuestas en 72 grupos de 5 unidades cada uno.

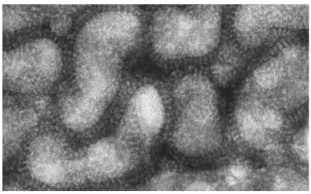
Virus con envoltura

Los virus con envoltura poseen una membrana que envuelve la nucleocápsida (**Figura 10.5a**). Muchos virus poseen una envoltura, y la mayoría de ellos infectan a células animales (por ejemplo el virus de la gripe), aunque se conocen también algunos virus con envoltura bacterianos y vegetales. La envoltura vírica consiste en una bicapa lipídica con proteínas, normalmente glicoproteínas, integradas en ella. Los lípidos de la membrana vírica son derivados de las membranas de la célula hospedadora, pero las proteínas están codificadas por genes del virus. Estas proteínas específicas del virus son fundamentales para la unión del virión a la célula hospedadora durante la infección o para la liberación del virión de la célula hospedadora después de la replicación. La simetría de los virus con envoltura no está expresada por el virión en conjunto, sino por la nucleocápsida presente en el interior de la cubierta vírica.

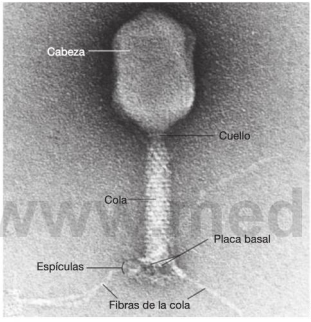
¿Cuál es la función de la envoltura en una partícula vírica? Hablaremos de ello más detalladamente, pero cabe observar que la envoltura es el componente estructural de la partícula vírica que hace el contacto inicial con la célula hospedadora. La especificidad de la infección vírica y algunos aspectos de la penetración del virus están controlados en parte por las características de las envolturas víricas.

Virus complejos

Algunos viriones son aún más complejos que todo lo explicado hasta ahora, ya que están compuestos por varias partes, cada una con forma y simetría independientes. Los virus más complicados en términos de



(a)



(b)

Figura 10.5 Micrografías electrónicas de un virus animal y uno bacteriano. (*a*) Virus de la gripe, un virus con envoltura. Los viriones tienen unos 80 nm de diámetro pero no tienen forma definida (Sección 19.8 y Figura 19.16). (*b*) Bacteriófago T4 de *Escherichia coli*. Los componentes de la cola actúan en la unión del virión al hospedador y la inyección del ácido nucleico (Figura 10.10). La cabeza tiene un diámetro de unos 85 nm.

estructura son algunos de los virus bacterianos, que poseen cabezas icosaédricas y colas helicoidales. En algunos virus bacterianos, como el bacteriófago T4 de *Escherichia coli* (Figura 10.5*b*), la cola en sí también presenta una estructura compleja. La cola completa de T4 tiene casi 20 proteínas diferentes, y la cabeza algunas más. En algunos virus complejos, el ensamblaje también está bastante implicado en dicha complejidad. Por ejemplo, en T4 la cola completa se forma como un subensamblaje, y a continuación se añade a la cabeza que contiene el DNA. Por último, las fibras de la cola, formadas por otra proteína, son añadidas para constituir el virión infeccioso maduro.

Enzimas de los viriones

Las partículas víricas no llevan a cabo procesos metabólicos y, por tanto, un virus es inerte metabólicamente fuera de la célula hospedadora. Sin embargo, algunos viriones contienen enzimas que juegan papeles importantes en la infección. Algunas de estas enzimas son necesarias para los pasos iniciales en el proceso de infección. Por ejemplo, algunos bacteriófagos contienen la enzima lisozima (Sección 4.6), que utilizan para hacer un pequeño orificio en la pared celular bacteriana. Esto permite la entrada del ácido nucleico vírico. La lisozima también se produce en mayor cantidad en las etapas posteriores de la infección para causar la lisis de la célula hospedadora y la liberación de los viriones.

Muchos virus contienen sus propias polimerasas de ácido nucleico para la replicación del genoma vírico y para la transcripción del RNA específico del virus. Por ejemplo, los retrovirus son virus de RNA que se replican a través de intermedios de DNA. Estos virus poseen una DNA-polimerasa dependiente de RNA, llamada *transcriptasa inversa* o *retrotranscriptasa*, que transcribe el RNA vírico para formar un intermedio de DNA. Otros virus contienen genomas de RNA y necesitan su propia RNA-polimerasa. Estas enzimas del virión son necesarias porque las células no pueden sintetizar DNA o RNA a partir de un molde de RNA (Secciones 7.5 y 7.9).

Algunos virus contienen enzimas que participan en su liberación del hospedador. Por ejemplo, determinados virus animales poseen proteínas superficiales llamadas *neuraminidasas*, enzimas que cortan los enlaces glicosídicos de las glicoproteínas y los glicolípidos del tejido conectivo de las células animales y liberan así los viriones. Por tanto, aunque la mayoría de partículas víricas carecen de sus propias enzimas, las que las poseen lo hacen por una buena razón: la célula hospedadora no sería capaz de producir viriones en ausencia de estas enzimas extra.

10.2 Minirrevisión

En el virión de los virus desnudos sólo hay ácidos nucleicos y proteínas, con el ácido nucleico en el interior; la unidad completa se llama nucleocápsida. Los virus con envoltura tienen una o más capas de lipoproteínas envolviendo a la nucleocápsida. La nucleocápsida tiene una disposición simétrica, con una cantidad y una disposición precisa de las subunidades estructurales envolviendo al ácido nucleico del virus. Si bien los virus son metabólicamente inertes, en algunos de ellos existe una o más enzimas fundamentales en el virión.

- ¿Cuál es la diferencia entre un virus desnudo y un virus con envoltura?
- ¿Qué clases de enzimas se pueden encontrar en los viriones de virus específicos?

10.3 El hospedador del virus

Como los virus se replican únicamente en el interior de las células vivas, su cultivo requiere el uso de hospedadores adecuados. De los tres tipos de hospedadores víricos —procariotas, animales y plantas—, los virus que infectan procariotas son, típicamente, los más fáciles de cultivar en el laboratorio. Para el estudio de los virus bacterianos, se utilizan cultivos puros en medios líquidos o semisólidos (agar). La mayoría de virus animales y muchos virus vegetales se pueden cultivar en cultivos tisulares o en cultivos celulares, y el uso de estos cultivos ha facilitado enormemente la investigación sobre estos virus. Los virus vegetales son los más difíciles para trabajar, porque su estudio requiere, en ocasiones, el uso de la planta completa. Esto es un problema, porque las plantas crecen mucho más lentamente que las bacterias, y los virus vegetales también necesitan a menudo de una brecha en la gruesa pared celular de las plantas para poder infectar.

Cultivos de células animales

Los cultivos de células animales derivan de las células tomadas inicialmente de un órgano de un animal experimental. A menos que se utilicen células sanguíneas, los cultivos celulares suelen obtenerse eliminando asépticamente fragmentos de tejido, disociando las células mediante tratamiento con una enzima que rompa el cemento intercelular y esparciendo la suspensión resultante en una superficie plana como la base de un matraz de cultivo o una placa de Petri. La fina capa de células que se adhieren al cristal o a la placa de plástico, llamada *monocapa*, se cubre con un medio de cultivo adecuado y se incuba a la temperatura apropiada. El medio utilizado para cultivos celulares es bastante complejo, ya que contiene toda una serie de aminoácidos y vitaminas, sales, glucosa y un sistema tamponador de bicarbonato. Para obtener el mejor crecimiento suele ser necesaria la adición de una pequeña cantidad de suero sanguíneo, y se añaden varios antibióticos para evitar la contaminación bacteriana.

Algunos cultivos celulares preparados de esta forma se pueden subcultivar y dejar crecer indefinidamente como *líneas celulares permanentes*. Las líneas celulares son convenientes para la investigación vírica porque de este modo se dispone siempre de material celular. En muchos casos, un cultivo no crecerá indefinidamente pero puede permanecer con vida durante varios días. Estos cultivos, llamados *cultivos celulares primarios* pueden seguir siendo útiles para el cultivo de virus, si bien es necesario preparar nuevos cultivos cada cierto tiempo a partir de elementos frescos, un proceso caro y largo. En ocasiones no es posible obtener líneas celulares primarias o permanentes, pero los órganos enteros o fragmentos de los órganos pueden replicar con éxito el virus. Estos cultivos de órganos pueden seguir siendo útiles en la investigación vírica porque permiten el crecimiento de virus en condiciones de laboratorio más o menos controladas.

10.3 Minirrevisión

Los virus pueden replicarse sólo en determinados tipos de células o en organismos completos. Los virus bacterianos han demostrado ser útiles como sistemas modelo porque las células hospedadoras son fáciles de cultivar y de manipular en cultivo. Muchos virus animales y vegetales pueden crecer en células cultivadas.

- ¿Qué es un hospedador en virología?
- ¿Por qué es útil utilizar cultivos celulares para la investigación vírica?

10.4 Cuantificación de virus

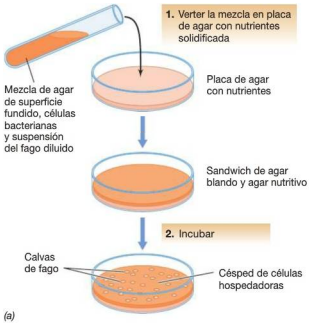
En virología, en muchas ocasiones es necesario cuantificar las partículas víricas en suspensión. Aunque se pueden contar los viriones con ayuda de un microscopio electrónico (Figura 10.4), en una suspensión es más fácil cuantificarlos midiendo sus efectos en el hospedador. Con este método observamos que una unidad infecciosa de virus es la unidad más pequeña que causa un efecto detectable cuando se añade a un hospedador susceptible. Puede tratarse de un solo virión, aunque normalmente es necesario un inóculo más grande. Al determinar la cantidad de unidades infecciosas por volumen de líquido se puede obtener una medida de la cantidad de virus llamada *título*.

Ensayo de calvas

Cuando un virión empieza una infección en una capa de células hospedadoras que están creciendo sobre una superficie plana, se puede ver una zona de lisis como un área más clara en el césped de células hospedadoras. Esta aclaración se denomina **calva**, y se supone que cada calva se origina a partir de la replicación de un solo virión (**Figura 10.6**).

Las calvas son, esencialmente, «ventanas» en el césped de crecimiento celular confluyente. Con los bacteriófagos, las calvas se pueden obtener mezclando partículas víricas en una delgada capa de bacterias hospedadoras que se ha extendido sobre un agar superpuesto en la superficie de un medio de agar (Figura 10.6*a*). Durante la incubación del cultivo, las bacterias crecen y forman una capa turbia que se puede ver a simple vista. No obstante, cuando se inicia una infección vírica con éxito, las células se lisan y forman una calva (Figura 10.6*b*). Mediante el recuento de la cantidad de *unidades formadoras de calvas* se puede calcular el número de unidades infecciosas de virus presentes en la muestra original.

El procedimiento de las calvas también permite el aislamiento de cepas víricas puras, ya que si cada calva es producida por un solo virión, todos los virus de la calva deberían ser genéticamente idénticos. Algunos de los viriones de esta calva se pueden tomar e inocularse en un cultivo bacteriano fresco para establecer una línea vírica



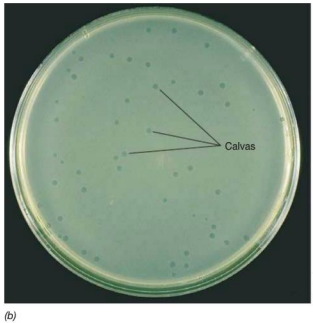


Figura 10.6 **Cuantificación de virus bacterianos por ensayo de calvas utilizando la técnica de superposición de agar.** (*a*) Se mezcla una dilución de una suspensión que contiene el virus con una pequeña cantidad de agar fundido y la bacteria hospedadora sensible. La mezcla se vierte en la superficie de una placa de agar con el medio adecuado. La bacteria hospedadora, que se ha extendido uniformemente a lo largo de toda la capa de agar de superficie, empieza a crecer, y tras toda una noche de incubación forma un césped de crecimiento confluyente. Las células infectadas por los viriones son lisadas y forman calvas en el césped. El tamaño de las calvas depende del virus, del hospedador y de las condiciones de cultivo. (*b*) Fotografía de una placa en la que aparecen calvas formadas por un bacteriófago en un césped de bacterias sensibles. Las calvas mostradas son de 1-2 mm de diámetro.

www.medilibros.com

pura. El desarrollo de la técnica del ensayo de calvas fue tan importante para el avance de la virología como lo fue el desarrollo de los medios sólidos por parte de Koch (Sección 1.8) para la microbiología de los cultivos puros.

Las calvas se pueden obtener para virus animales utilizando sistemas de cultivo de células animales como hospedadoras. En una placa o una botella de fondo plano se prepara una monocapa de células animales en cultivo y se añade la suspensión vírica. Las calvas se ponen de manifiesto en forma de zonas de destrucción de las células animales y, a partir del número de calvas producidas, se puede obtener una estimación del título del virus (**Figura 10.7**).

Eficiencia de la siembra

El concepto *eficiencia de la siembra* es importante en la virología cuantitativa. En un sistema vírico dado, el número de unidades formadoras de calva es siempre más bajo que el recuento de la suspensión vírica realizado al microscopio electrónico. La eficiencia con la que los viriones infectan las células hospedadoras es, pues, rara vez del 100% y, en ocasiones, puede ser considerablemente menor. Los viriones que no producen infección son, a menudo, inactivos, aunque no siempre es el caso. Algunos virus producen muchas partículas incompletas de virus durante la infección.

En otros casos, especialmente con los virus de RNA, la velocidad de mutación vírica es tan alta que muchos viriones contienen genomas defectuosos. No obstante, en ocasiones, una eficiencia baja de siembra significa simplemente que, en las condiciones utilizadas, algunos viriones no han podido infectar con éxito las células. Aunque a menudo la eficiencia de la siembra con los virus bacterianos es mayor del 50%, con muchos virus animales puede ser mucho más baja, 0,1% o 1%. Conocer la eficiencia de siembra es útil para cultivar virus porque nos permite estimar la concentración necesaria de la suspensión vírica (es decir, el título) para obtener un número determinado de calvas.

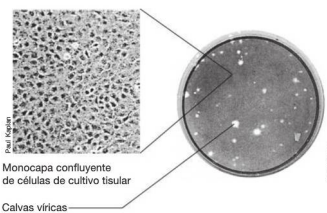


Figura 10.7 **Cultivos celulares en monocapa en una placa de Petri.** Obsérvese la presencia de calvas. También se muestra una microfotografía de un cultivo celular.

Métodos en animales intactos

Algunos virus no provocan efectos reconocibles en los cultivos celulares, aunque causan la muerte en los animales intactos. En estos casos, la cuantificación sólo puede hacerse por valoración en animales infectados. El procedimiento general es llevar a cabo diluciones en serie de la muestra vírica (Sección 6.10), generalmente diluciones decimales, e inyectar muestras de cada dilución en varios animales sensibles. Tras un período de incubación adecuado, se tabula la fracción de animales vivos y muertos para cada dilución y se calcula una dilución de punto final. Ésta es la dilución a la cual, por ejemplo, la mitad de los animales inyectados mueren (el LD50, Sección 28.8). Si bien trabajar con animales enteros es mucho más incómodo y menos preciso que los métodos con cultivos celulares, puede resultar fundamental para el estudio de determinados tipos de virus.

10.4 Minirrevisión

Aunque se necesita un solo virión para empezar un ciclo infeccioso, no todos los viriones son igual de infecciosos. Una de las formas más precisas de medir la infectividad de un virus es mediante el ensayo de calvas. Las calvas son zonas claras que se desarrollan en los céspedes de células hospedadoras. Teóricamente, cada calva es debida a la infección por una sola partícula de virus. La calva del virus es análoga a la colonia bacteriana.

- Dé una definición de eficiencia de siembra.
- ¿Qué es una unidad formadora de calvas?

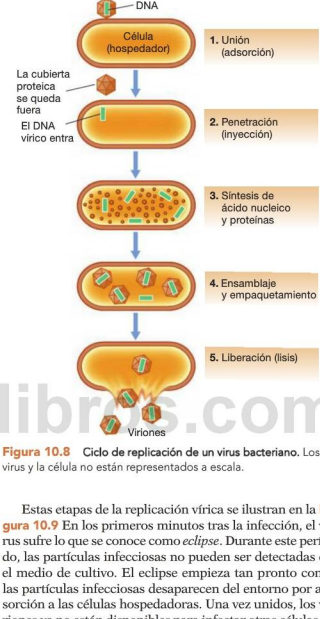


Figura 10.8 Ciclo de replicación de un virus bacteriano. Los virus y la célula no están representados a escala.

www.edilibros.com

II REPLICACIÓN VÍRICA

10.5 Características generales de la replicación vírica

Para que un virus pueda replicarse, debe inducir a una célula viva hospedadora a sintetizar todos los componentes esenciales necesarios para producir más viriones. Luego, estos componentes deberán ensamblarse en nuevos viriones que escaparán de la célula. La replicación vírica se puede dividir en cinco etapas (**Figura 10.8**):

1. *Unión* (adsorción) del virión a una célula hospedadora susceptible.
2. *Penetración* (entrada, inyección) del virión o su ácido nucleico en la célula.
3. *Síntesis* del ácido nucleico y las proteínas del virus por el metabolismo celular redirigido por el virus.
4. *Ensamblaje* de las cápsidas (y los componentes de la membrana en los virus recubiertos) y *empaquetamiento* de los genomas víricos en nuevos viriones. Este proceso, en conjunto, se llama *maduración*.
5. *Liberación* de los viriones maduros de la célula.

Estas etapas de la replicación vírica se ilustran en la **Figura 10.9** En los primeros minutos tras la infección, el virus sufre lo que se conoce como *eclipse*. Durante este período, las partículas infecciosas no pueden ser detectadas en el medio de cultivo. El eclipse empieza tan pronto como las partículas infecciosas desaparecen del entorno por adsorción a las células hospedadoras. Una vez unidos, los viriones ya no están disponibles para infectar otras células. A esto le sigue la entrada del ácido nucleico vírico (o el virión intacto) en la célula hospedadora. Si en este momento la célula infectada permite la entrada, el virión deja de existir como entidad infecciosa, ya que no tiene el genoma vírico dentro de su cápsida. La *maduración* empieza cuando las nuevas moléculas de ácido nucleico recién sintetizadas son empaquetadas en las cubiertas proteicas. Durante la fase de maduración, el título de viriones activos dentro de la célula aumenta dramáticamente. No obstante, las nuevas partículas víricas no pueden detectarse a menos que las células sean lisadas artificialmente para liberarlas. Puesto que los nuevos viriones sintetizados aún no se encuentran en el exterior celular, los períodos de eclipse y maduración reciben el nombre conjunto de período de latencia.

Al final de la maduración, los viriones maduros son liberados, bien como resultado de la lisis celular o por gemación

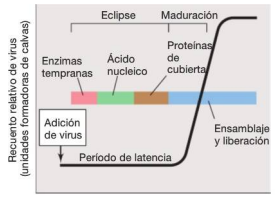


Figura 10.9 Curva de una sola etapa de la replicación vírica. Esta gráfica muestra los resultados de un solo ciclo de replicación vírica en una población de células. Después de la adsorción, la infectividad de las partículas víricas desaparece, un fenómeno llamado eclipse. Esto es debido a la pérdida de la cubierta por parte de los virus. Durante el período de latencia, el ácido nucleico se replica y se realiza la síntesis de proteínas. A esto le sigue el período de maduración, cuando el ácido nucleico y las proteínas se ensamblan en partículas víricas maduras. Finalmente, los viriones son liberados, ya sea con lisis celular o sin ella. Este esquema general aparece más detallado en la Figura 10.15 para el bacteriófago T4.

o excreción, según el virus. El número de viriones liberados, llamado tamaño de la explosión, varía en función del virus y la célula hospedadora concretos y puede ir de unos pocos a varios miles. El tiempo de este ciclo completo de replicación varía de entre 20 y 60 minutos (en muchos virus bacterianos) a entre 8 y 40 horas (en la mayoría de virus animales). Como la liberación de los virus es más o menos simultánea, la replicación vírica se caracteriza normalmente por una *curva de crecimiento de una sola etapa* (Figura 10.9). En las dos secciones siguientes veremos en detalle algunos pasos fundamentales de la replicación vírica.

10.5 Minirrevisión

El ciclo de replicación de los virus se puede dividir en cinco etapas: unión (adsorción), penetración (inyección), síntesis de ácido nucleico y proteínas, ensamblaje y empaquetamiento y liberación de los viriones.

- ¿Qué es lo que se empaqueta en los viriones?
- Explique el término maduración.
- ¿Qué pasos se producen durante el período de latencia de la replicación vírica?

10.6 Unión y penetración víricas

En esta sección vamos a centrarnos en la unión y la penetración del virus, las primeras etapas de la replicación. También estudiaremos el mecanismo con el que algunas bacterias reaccionan a la penetración del DNA del bacteriófago.

Unión

La base más habitual de la especificidad del hospedador para un virus depende de la etapa de unión. El virión (ya sea desnudo o recubierto) tiene una o más proteínas en el exterior, que interaccionan con componentes específicos de la superficie celular llamados receptores. Estos receptores son componentes normales de la superficie del hospedador, como proteínas, carbohidratos, glicoproteínas, lípidos, lipoproteínas o complejos de estos, a los que se une el virión. Los receptores desempeñan funciones normales en la célula. Por ejemplo, el receptor del bacteriófago T4 es una proteína de captación de hierro, y el del bacteriófago lambda está implicado normalmente en la captación de maltosa. Los receptores de los virus animales pueden incluir macromoléculas necesarias para el contacto intercelular o para el sistema inmunitario. Por ejemplo, los receptores del poliovirus y el VIH normalmente realizan funciones de interacciones entre las células humanas.

En ausencia de este receptor específico, el virus no puede adsorberse y, por tanto, es incapaz de infectar. Además, si el sitio de unión del receptor está alterado, por ejemplo, por mutación, el hospedador puede resultar resistente a la infección vírica. No obstante, también pueden surgir virus mutantes que adquieran la habilidad para adsorberse a hospedadores inicialmente resistentes. También, algunos virus animales pueden utilizar más de un receptor, de manera que la pérdida de uno de ellos no impide necesariamente la unión. Así, el rango de hospedadores de un virus concreto está, en cierta medida, determinado por la disponibilidad de un receptor adecuado que el virus pueda reconocer. En los organismos multicelulares, las células de diferentes tejidos u órganos expresan con frecuencia proteínas diferentes en su superficie. En consecuencia, los virus que infectan a animales, a menudo infectan sólo células de determinados tejidos. Por ejemplo, muchos virus que causan resfriados y tos sólo infectan células del sistema respiratorio superior.

Penetración

La unión de un virus a su célula hospedadora provoca cambios en la superficie de la célula y del virus que llevan a la penetración. Los virus deben replicarse en el interior de las células, de manera que, como mínimo, el genoma vírico debe entrar en la célula (Figura 10.8). Sin embargo, ya hemos mencionado (Sección 10.2) que para que algunos virus puedan replicarse, deben entrar también algunas proteínas en la célula hospedadora. Es importante señalar que la unión e incluso la penetración del virus en una célula susceptible no llevarán a la replicación vírica si la información del genoma vírico no puede ser leída. De una célula que permite el ciclo completo de replicación de un virus se dice que es *permisiva* para ese virus.

Diferentes virus poseen estrategias diferentes de penetración. Algunos virus animales recubiertos pierden su

recubrimiento en la membrana citoplasmática, y liberan el contenido de los viriones en el citoplasma. Sin embargo, el virión completo de los virus animales desnudos y muchos virus animales recubiertos entran en la célula por endocitosis. En estos casos, los virus deben perder su cubierta en el interior de la célula hospedadora, de manera que el genoma quede expuesto y se pueda llevar a cabo la replicación. Algunos virus recubiertos pierden su cubierta en el citoplasma y otros (como el de la gripe) lo hacen en la membrana nuclear.

Unión y penetración del bacteriófago con cola

Las células con pared celular, como la mayoría de las bacterias, se infectan de manera diferente a las células animales, que carecen de ella. Los mecanismos de penetración más complejos que se han encontrado pertenecen a virus que infectan bacterias; el bacteriófago T4, que infecta a *Escherichia coli* es un buen ejemplo de ello.

La estructura del bacteriófago T4 se muestra en la Figura 10.5*b*. El virión tiene una cabeza, dentro de la cual se encuentra plegado el DNA bicatenario lineal del virus, y una cola larga y sumamente compleja, con fibras basales y espículas en su extremo. Al principio, los viriones se unen a las células mediante las fibras basales (**Figura 10.10**). Los extremos de las fibras interaccionan con polisacáridos que forman parte de la capa exterior de la envoltura de las células gramnegativas (Sección 4.7). Estas fibras basales se retraen entonces, y el centro de la cola entra en contacto con la pared celular de la bacteria a través de unas finas espículas que se encuentran en el extremo de la cola. La actividad de una enzima similar a las lisozimas crea un pequeño poro en el peptidoglicano. Después se contrae la vaina y el DNA vírico pasa al citoplasma a través de un orificio en la punta de la cola del fago, y deja la mayoría de la cubierta proteica en el exterior (Figura 10.10).

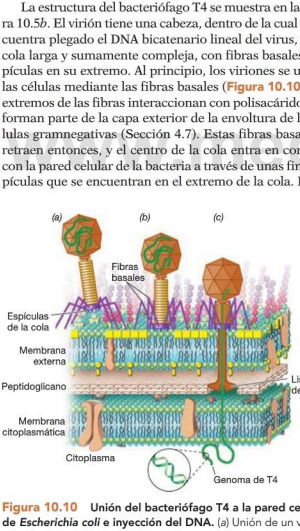


Figura 10.10 Unión del bacteriófago T4 a la pared celular de *Escherichia coli* e inyección del DNA. (*a*) Unión de un virión T4 a la pared celular mediante la interacción de las largas fibras basales con el centro lipopolisacarídico. (*b*) Contacto de la pared celular con las espículas de la cola. (*c*) Contracción de la vaina de la cola e inyección del genoma de T4. El tubo de la cola penetra en la membrana externa y la lisozima de la cola digiere una pequeña abertura a través del peptidoglicano.

Restricción vírica y modificación por el hospedador

A menudo, los animales pueden eliminar a los virus invasores con mecanismos de defensa inmunitaria antes de que la infección vírica se extienda o, en ocasiones, antes incluso de que el virus penetre en las células diana. Además, los eucariotas, incluidos los animales y las plantas, poseen un mecanismo antivírico conocido como interferencia por RNA (Sección 8.10). Los procariotas carecen de ambos tipos de defensa, pero poseen sistemas de destrucción de DNA específico que pueden destruir el DNA vírico bicatenario una vez que ha sido inyectado. Esta destrucción es realizada por endonucleasas de restricción del hospedador (Sección 12.1), enzimas que cortan el DNA vírico en uno o más puntos e impiden su replicación. Este fenómeno se llama *restricción*, y forma parte de un mecanismo general del hospedador para impedir la invasión de ácido nucleico extraño. Para que este sistema sea eficaz, el hospedador debe tener un mecanismo para proteger su propio DNA. Para ello, se produce una modificación del DNA propio en los sitios en los que cortan las enzimas de restricción (Sección 12.1).

Las enzimas de restricción son específicas para el DNA bicatenario, de modo que los virus de DNA monocatenario y los virus de RNA no se ven afectados por las enzimas de restricción. Aunque los sistemas de restricción del hospedador confieren un grado significativo de protección, algunos virus de DNA han sorteado los mecanismos de restricción de sus hospedadores modificando sus propios ácidos nucleicos, de manera que dejan de estar sujetos al ataque de las enzimas de restricción. Se conocen dos patrones de modificación química del DNA vírico: glicosilación y metilación. Por ejemplo, los bacteriófagos T-par (T2, T4 y T6) glicosilan su DNA en distinto grado, lo que impide el ataque de las endonucleasas. Muchos otros ácidos nucleicos víricos pueden modificarse por metilación. No obstante, sea por glicosilación o por metilación, los ácidos nucleicos se modifican después de la replicación del genoma por proteínas codificadas por el virus.

Otros virus, como los bacteriófagos T3 y T7, evitan la destrucción por enzimas de restricción del hospedador codificando proteínas que inhiben los sistemas de restricción. Para contrarrestar esto, algunos hospedadores tienen múltiples sistemas de restricción y metilación que ayudan a evitar la infección de los virus que pueden sortear sólo alguno de ellos. Los hospedadores también tienen otras metilasas de DNA además de las que los protegen de sus propios sistemas de restricción. Algunas de estas metilasas participan en la reparación del DNA o en la regulación génica, y otras protegen el DNA del hospedador de endonucleasas extrañas. Esto es necesario

porque algunos virus codifican sus propias enzimas de restricción, sistemas diseñados para destruir el DNA del huésped. Así pues, parece claro que tanto virus como hospedadores han respondido a los mecanismos de defensa del otro evolucionando los suyos para mejorar las posibilidades de infección y defensa, respectivamente.

10.6 Minirrevisión

La unión de un virión a una célula hospedadora es un proceso muy específico que necesita receptores en la superficie de la célula hospedadora susceptible complementarios al virus que va a infectarla. La resistencia del hospedador a la infección por el virus puede implicar sistemas de restricción-modificación que reconozcan y destruyan el DNA bicatenario extraño.

- ¿Cómo contribuye el proceso de unión a la especificidad virus-hospedador?
- ¿Por qué algunos virus tienen que perder su cubierta después de la penetración y otros no?

10.7 Producción de ácidos nucleicos y proteínas víricas

Una vez que el hospedador ha sido infectado, hay que producir nuevas copias del genoma vírico y sintetizar proteínas específicas del virus para que éste se replique. Normalmente, la producción de, al menos, algunas proteínas víricas empieza muy pronto una vez que el genoma vírico ha entrado en la célula. La síntesis de estas proteínas requiere mRNA vírico. Para algunos tipos de virus de RNA, el propio genoma es el mRNA, pero para la mayoría, primero hay que transcribir el mRNA a partir del genoma de DNA o RNA y después replicar el genoma. Vamos a analizar estos importantes procesos.

Esquema de la clasificación de Baltimore y virus de DNA

El virólogo David Baltimore, que compartió el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1975 con Howard Temin y Renato Dulbecco por el descubrimiento de los retrovirus y la transcriptasa inversa, desarrolló un esquema de clasificación de los virus basado en la relación del genoma vírico con su mRNA. En el esquema de la clasificación de Baltimore (**Tabla 10.2**), se reconocen siete clases de virus. Los virus de DNA bicatenario (dsDNA) son la clase I. El mecanismo de producción de mRNA y la replicación del genoma de los virus de la clase I son los mismos que los utilizados por el genoma de la célula hospedadora, si bien virus diferentes utilizan diferentes estrategias para asegurar que el mRNA vírico se expresa preferentemente respecto al del hospedador.

Los virus de la clase II son virus de DNA monocatenario (ssDNA). Antes de poder producir el mRNA, estos virus deben sintetizar una cadena de DNA, ya que la RNA-polimerasa utiliza DNA de doble cadena como molde (Sección 7.9). Estos virus forman un intermediario de DNA bicatenario durante la replicación, y es este intermediario el que se utiliza para la transcripción (**Figura 10.11**). La síntesis del dsDNA intermediario y su consiguiente transcripción pueden ser llevadas a cabo por enzimas celulares (aunque también pueden ser necesarias algunas proteínas víricas). El intermediario de doble cadena también sirve para generar el genoma vírico; una cadena se convierte en genoma mientras la otra es desechada (Figura 10.11). Hasta hace poco, todos los virus conocidos de ssDNA contenían DNA con la misma secuencia que su mRNA (virus de cadena positiva, véase más adelante). Sin embargo, en 1997, se descubrió un nuevo virus con ssDNA circular de polaridad negativa. El virus Torque Teno (TTV) está extendido entre los humanos y otros animales, pero no provoca síntomas obvios de enfermedad. El modo de replicación del TTV aún está siendo investigado.

Virus de RNA de cadenas positivas y negativas

La producción de mRNA y la replicación del genoma son diferentes para los virus de RNA (clases III-VI). No obstante, antes de hablar de estos virus, es necesario explicar un poco de nomenclatura relacionada con la orientación de la cadena de ácido nucleico. Recordemos que el mRNA es complementario en su secuencia de bases con la cadena molde del DNA. Por convenio, en virología se

Tabla 10.2 Sistema de clasificación de Baltimore para los virus

		Ejemplos	
Clase	*Descripción del genoma y estrategia de replicación*	*Virus bacterianos*	*Virus animales*
I	Genoma de DNA bicatenario	Lambda, T4	Herpesvirus, viruela
II	Genoma de DNA monocatenario	ϕX174	Virus de anemia aviar
III	Genoma de RNA bicatenario	ϕ6	Reovirus (Sección 19.10)
IV	Genoma de RNA monocatenario positivo	MS2	Poliovirus
V	Genoma de RNA monocatenario negativo		Virus de la gripe, virus de la rabia
VI	Genoma de RNA monocatenario que se replica con un intermediario de DNA		Retrovirus
VII	Genoma de DNA monocatenario que se replica con un intermediario de RNA		Virus de la hepatitis B

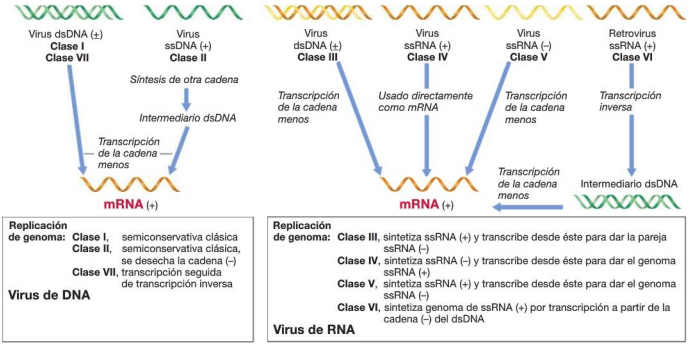


Figura 10.11 **Formación de mRNA y nuevo genoma en (*a*) virus de DNA, y (*b*) virus de RNA.** Por convenio, el mRNA siempre se considera con orientación más (+). En la Tabla 10.2 se dan ejemplos de cada clase de virus.

www.medilibros.com

dice que el mRNA tiene configuración más (+). Su complementario será, por tanto, de configuración menos (−). Esta convención se utiliza para describir la configuración del genoma de un virus monocatenario, ya sea de DNA o de RNA (Figura 10.11). Por ejemplo, un virus con un genoma de RNA monocatenario con la misma orientación que su mRNA es un **virus de RNA de cadena positiva**. Un virus cuyo genoma de RNA monocatenario sea complementario a su mRNA es un **virus de RNA de cadena negativa**. ¿Cómo se replican estos virus?

Las RNA-polimerasas celulares no suelen catalizar la formación de RNA a partir de un molde de RNA, sino que requieren un molde de DNA. Así, los virus de RNA, sean positivos, negativos o de doble cadena, necesitan una RNA-polimerasa dependiente de RNA específica. El caso más simple es el de los virus de RNA de cadena positiva (clase IV), en los que el genoma vírico es de configuración más y, por tanto, puede funcionar directamente como mRNA (Figura 10.11). Además de otras proteínas necesarias, este mRNA codifica una RNA-polimerasa dependiente de RNA específica del virus (también llamada RNA-replicasa). Una vez sintetizada, esta polimerasa produce, en primer lugar, las cadenas negativas complementarias del RNA y después las utiliza como moldes para generar más cadenas positivas. Las cadenas positivas producidas pueden ser traducidas como mRNA o empaquetadas como genoma en los nuevos viriones sintetizados (Figura 10.11).

Para los virus de RNA de cadena negativa (clase V) la situación es más compleja. El RNA introducido tiene la polaridad incorrecta para servir como mRNA, de manera que primero hay que sintetizar el mRNA. Puesto que las células no cuentan con una RNA-polimerasa capaz de esto, estos virus portan esta enzima en sus viriones, que entra en la célula junto con el RNA genómico. La cadena positiva complementaria del RNA es sintetizada por esta RNA-polimerasa dependiente de RNA y utilizada como mRNA. Esta cadena positiva de mRNA también es utilizada como molde para sintetizar más genomas de cadena negativa (Figura 10.11). Los virus de RNA bicatenario (clase III) se enfrentan a un problema similar. Aunque el virión contiene RNA de cadena positiva, éste forma parte de la doble cadena de RNA genómico y no puede ser liberado para actuar como mRNA. En consecuencia, los viriones de virus de dsRNA también contienen RNA-polimerasas que transcriben el genoma de dsRNA para producir mRNA de cadena positiva al entrar en la célula hospedadora.

Retrovirus

Los **retrovirus** son virus animales responsables de algunos tipos de cáncer y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida o SIDA. Los retrovirus contienen RNA monocatenario en sus viriones, pero se replican a través de un intermediario de dsDNA (clase VI). El proceso de copiar la información que se encuentra en el RNA a DNA se llama **transcripción inversa** o **retrotranscripción**, y, por tanto, estos virus necesitan una enzima llamada *transcriptasa inversa o retrotranscriptasa*. Aunque el RNA de los retrovirus que se introduce en la célula es de ca-

dena positiva, no se utiliza como mensajero, y por tanto estos virus deben transportar la retrotranscriptasa en sus viriones. Tras la infección, el ssRNA del virión se convierte en dsDNA a través de un intermediario híbrido RNA-DNA. El dsDNA es entonces el molde para la síntesis de mRNA por parte de las enzimas normales de la célula.

Por último, los virus de clase VII son aquellos que tienen DNA bicatenario en sus viriones pero se replican a través de un RNA intermediario. Estos virus inusuales también utilizan la retrotranscriptasa (Sección 19.15). La estrategia que utilizan para producir mRNA es la misma que la de los virus de clase I (Figura 10.11), si bien la replicación de su DNA es muy poco habitual porque, como veremos más tarde, el genoma es bicatenario sólo en parte (Sección 19.15).

Aunque podría parecer que el esquema de Baltimore cubre todas las posibilidades, existen excepciones. Por ejemplo, los ambivirus contienen un genoma de RNA monocatenario, la mitad del cual está en orientación positiva (y por tanto puede utilizarse como mRNA) y la otra mitad en configuración negativa (que no puede utilizarse). Así, antes de que los genes puedan traducirse hay que sintetizar una cadena complementaria de esta última mitad. Desde luego, la evolución ha llevado la diversidad de los genomas víricos hasta el límite.

Proteínas víricas

Una vez producido el mRNA (Figura 10.11), se pueden sintetizar las proteínas víricas. Estas proteínas se pueden agrupar en dos grandes categorías:

1. Proteínas sintetizadas inmediatamente después de la infección, llamadas **proteínas tempranas**, que son necesarias para la replicación del ácido nucleico del virus, y
2. Proteínas sintetizadas más tarde, llamadas **proteínas tardías**, que incluyen las proteínas de la cubierta del virus.

Generalmente, tanto la distribución temporal como la cantidad de proteínas víricas están estrechamente reguladas. Las proteínas tempranas son, típicamente, enzimas que actúan catalíticamente y, por tanto, se sintetizan en cantidades más pequeñas. Por el contrario, las proteínas tardías son normalmente componentes estructurales del virión y se producen en cantidades mucho más grandes.

La infección vírica altera los mecanismos reguladores del hospedador porque hay una acusada sobreproducción de ácido nucleico y proteínas del virus en la célula infectada. En ocasiones, la infección vírica provoca la parada total de la síntesis de macromoléculas del hospedador, mientras que en otros casos la síntesis del hospedador procede a la vez que la síntesis vírica. En cualquier caso, la regulación de la síntesis vírica está bajo el control del virus y no del hospedador. Algunos elementos de este control se parecen a los mecanismos reguladores expuestos en el Capítulo 9, pero también hay mecanismos reguladores exclusivos de los virus. Hablaremos de estos mecanismos reguladores durante el estudio de algunos virus bien conocidos.

10.7 Minirrevisión

Antes de que el ácido nucleico del virus pueda replicarse son necesarias nuevas proteínas víricas, y éstas están codificadas por el mRNA transcrito a partir del genoma del virus. En algunos virus de RNA, el RNA genómico es también el mRNA; en otros, el genoma del virus es un molde para la formación del mRNA y, en algunos casos, el virión contiene enzimas esenciales para la transcripción.

- ¿Por qué algunos tipos de virus deben contener enzimas en el virión para producir el mRNA?
- Distinga entre un virus de RNA de cadena positiva y un virus de RNA de cadena negativa.
- Tanto los virus de RNA de cadena positiva como los retrovirus contienen genomas de RNA de configuración positiva. Compare la producción de mRNA en estas dos clases de virus.

www.medilibros.com

III DIVERSIDAD VÍRICA

10.8 Generalidades de los virus bacterianos

Entre los bacteriófagos existe bastante diversidad, en la **Figura 10.12** se ilustran ejemplos de algunas clases de estos virus. La mayoría de virus bacterianos que se han investigado en detalle infectan bacterias bien conocidas, como *Escherichia coli* y *Salmonella enterica*. No obstante, se conocen virus que infectan varios procariotas, tanto bacterias como arqueas.

La mayoría de bacteriófagos conocidos contienen genomas de DNA bicatenario, y este tipo de bacteriófago se considera el más abundante en la naturaleza. No obstante, se conocen muchas otras clases, incluidas las que tienen genomas de RNA monocatenario, genomas de RNA bicatenario y genomas de DNA monocatenario (Figura 10.11).

Unos pocos virus bacterianos tienen envolturas lipídicas, pero la mayoría están desnudos. No obstante, muchos virus bacterianos son estructuralmente complejos. Todos los ejemplos de bacteriófagos con genomas de DNA bicatenario que se muestran en la Figura 10.12 tienen cabeza y cola. Las colas de los bacteriófagos T2, T4 y Mu son contráctiles y participan en la penetración del ácido nucleico en el hospedador (Figura 10.10). Por otra parte, la cola del fago lambda es flexible.

¿Inventaron los virus el DNA?

La teoría de los tres dominios de la evolución celular divide a las células vivas en tres linajes, *Bacteria, Archaea* y *Eukarya*, basándose en la secuencia de su RNA ribosómico (Sección 14.8). Además, los análisis moleculares de los componentes celulares necesarios para la transcripción y la traducción apoyan bastante bien el esquema. No obstante, si tenemos en cuenta los análisis moleculares de los componentes necesarios para la replicación, la recombinación y la reparación del DNA, el esquema de los tres dominios no se aguanta tan bien. Por ejemplo, las topoisomerasas de tipo II de las arqueas están más cerca de las de las bacterias que de las de los eucariotas. Además, las enzimas víricas que procesan el DNA presentan relaciones erráticas con las de los organismos celulares. Por ejemplo, la DNA-polimerasa del bacteriófago T4 guarda más relación con las DNA-polimerasas de los eucariotas que con las de sus hospedadores bacterianos.

Otro gran problema de la evolución bacteriana es dónde encajan los virus en el árbol universal de la vida. ¿Emergieron relativamente tarde como astutos elementos genéticos que escaparon de los genomas celulares, o rondaban ya por la tierra al mismo tiempo que lo hacían las primeras células? Un asunto relacionado con esto es cuándo entró en la escena de la evolución el DNA y desplazó al RNA como material genético. El escenario del mundo de RNA (Sección 14.2) propone al RNA como material genético original, y dice que el DNA lo habría relevado relativamente pronto porque es una molécula más estable que el RNA. Así, según este esquema, el último ancestro común universal (LUCA, de *Last Universal common ancestor*) de los tres dominios de la vida habría sido una célula con DNA. Pero ¿cómo habría obtenido LUCA su DNA?

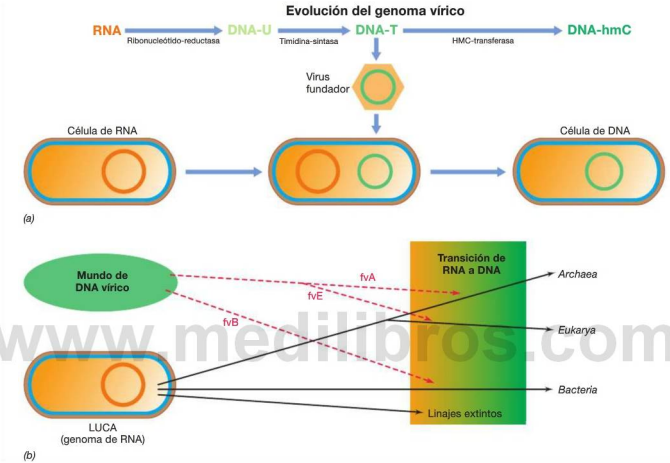
Recientemente, Patrick Forterre, del Instituto Pasteur (Figura 1.14) ha sugerido un nuevo escenario evolutivo para explicar cómo habrían obtenido las células su DNA, que explica también cómo la maquinaria celular que trabaja con el DNA se originó en primer lugar en las células. Forterre aduce que las pequeñas mejoras en la estabilidad genética no habrían sido lo bastante beneficiosas como para seleccionar todo el embrollo de convertir un genoma celular completo de RNA a DNA. En cambio, sugiere que los virus inventaron el DNA como un mecanismo de modificación para proteger sus genomas de las enzimas de la célula hospedadora diseñadas para destruirlos (**Figura 1**). En la actualidad se conocen virus que contienen RNA, DNA, DNA con uracilo en lugar de timina y DNA con hidroximetilcitosina en lugar de citosina (Figura 1*a*). Además, las células modernas de los tres dominios contienen sistemas diseñados para destruir el DNA y el RNA extraños que penetran en ellas.

La hipótesis de Forterre empieza con un mundo de RNA formado por células con genomas de RNA más virus con genomas de RNA. Los virus de DNA fueron siendo seleccionados porque esto los protegía de la degradación por las nucleasas celulares. Esto habría ocurrido antes de que LUCA (que también contendría un genoma de RNA) se escindiera en los tres dominios (Figura 1*b*). Entonces, tres virus de DNA no virulentos (los «virus fundadores») habrían infectado a los ancestros de los tres dominios. Los tres virus de DNA se habrían replicado en el interior de sus células hospedadoras en forma de plásmidos de DNA, de manera muy similar a como se replica el profago P1 en el interior de *Escherichia coli* en la actualidad. Además, dos de los virus fundadores guardarían más relación entre sí (que son los que habrían infectado a los ancestros de *Archaea* y de *Eukarya*) que con el tercero (que habría infectado al ancestro de *Bacteria*). Gradualmente, las células habrían convertido sus genes de RNA en genes de DNA debido a su mayor estabilidad. Se cree que la retrotranscriptasa es una enzima de muy temprano origen, y resulta concebible que estuviera implicada en la conversión de los genes de RNA en DNA, como ocurre hoy en día en los retrovirus.

Recapitulando la hipótesis, LUCA divergió en los tres ancestros celulares de los tres dominios de la vida, y esto preparó el terreno para la maquinaria de transcripción y de traducción de las células —es decir, las funciones en que está implicado el RNA (pero no el DNA)—. Sin embargo, el uso del DNA como sistema de almacenamiento para la información genética —actualmente una propiedad universal de las células— procede de una familia de virus de DNA que infectaron a las células hace eones. Puesto que el DNA es una molécula más estable que el RNA, las células con genoma de RNA que no fueron infectadas por los virus de DNA nunca se convirtieron en células basadas en DNA y, finalmente, se extinguieron (Figura 1*b*).

El modelo de Forterre explica el origen del DNA en las células y proporciona un mecanismo para la sustitución gradual de los genomas de RNA con DNA. Y, lo que es muy importante, también explica la incongruencia de la maquinaria de replicación, recombinación y reparación del DNA de las células de los diferentes dominios, en comparación con la maquinaria de transcripción y traducción. Si bien esta hipótesis no aclara completamente el origen de los virus, sí que explica la diversidad de los sistemas de replicación y las antiquísimas similitudes entre algunas familias de virus de DNA y de RNA.

¿Inventaron los virus el DNA? *(continuación)*



www.medilibros.com

Figura 1 **Origen vírico del DNA.** (*a*) Varios ciclos sucesivos de mutaciones y selecciones derivaron en la aparición de ácidos nucleicos víricos más resistentes a la degradación por la célula hospedadora: DNA-U, DNA con uracilo; DNA-T, DNA con timina (es decir, DNA normal); DNA-hmC, DNA con 5-hidroximetilcitosina. Los cuatro tipos de ácido nucleico se encuentran en virus actuales, si bien el DNA-U y el DNA-hmC son raros. La conversión de los genomas celulares de RNA a DNA postula la lisogenia por un «virus fundador» de DNA, seguida por el movimiento de los genes del hospedador al genoma de DNA. (*b*) Se supone que tres virus fundadores, fvB, fvA y fvE habrían infectado a los ancestros de *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*, respectivamente. Obsérvese que los virus fvA y fvE están más relacionados entre sí que con fvB. Como resultado de la infección vírica, los genomas de estas tres líneas ancestrales se habrían convertido finalmente de RNA a DNA. Presumiblemente, otros linajes celulares derivados del último ancestro universal común (LUCA) que retuvieron el genoma de RNA se habrían extinguido.

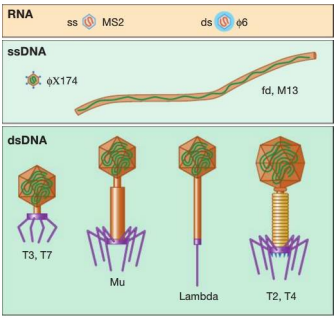


Figura 10.12 Representación esquemática de los principales tipos de virus bacterianos. Los tamaños están aproximadamente a escala. La nucleocápsida de ϕ6 está rodeada por una membrana.

Si bien los virus bacterianos con cola se estudiaron en principio como sistemas modelo para entender las características generales de la replicación vírica, algunos de ellos se utilizan actualmente como herramientas útiles en ingeniería genética. Entender los virus bacterianos no sólo es de gran valor como trasfondo en el análisis de los virus animales, sino que también es fundamental para comprender el material presentado en los capítulos sobre genética microbiana (Capítulo 11) e ingeniería genética (Capítulo 12).

En las próximas dos secciones examinaremos dos ciclos de vida víricos opuestos: *virulento* y *atemperado*. En el modo virulento, los virus lisan o matan a sus hospedadores tras la infección, mientras en el modo atemperado los virus replican sus genomas en tándem con el genoma del hospedador sin matar a éste.

10.8 Minirrevisión

Los virus bacterianos, o bacteriófagos, poseen una gran diversidad. Los bacteriófagos mejor estudiados infectan bacterias como *Escherichia coli* y son muy complejos estructuralmente, ya que contienen cabeza, cola y otros componentes.

▮ ¿Qué tipo de ácido nucleico se considera más común entre los genomas de los bacteriófagos?

10.9 Bacteriófagos virulentos y T4

Los virus **virulentos** matan a sus hospedadores tras la infección. Los primeros de estos virus en ser estudiados en detalle fueron los bacteriófagos con genomas de DNA bicatenario lineal que infectan a *Escherichia coli* y algunas bacterias relacionadas. Los virólogos empezaron aislando y estudiando estos virus como sistemas modelo para la replicación vírica, y los utilizaron para establecer muchos de los principios fundamentales de la biología molecular y la genética. Estos fagos fueron designados por T1, T2, etc. hasta T7, donde la T se refiere a la cola (*tail* en inglés) que poseen estos fagos. En este capítulo ya hemos mencionado brevemente cómo uno de estos virus, T4, se une a su hospedador y cómo penetra su DNA en éste (Sección 10.6 y Figura 10.10). Ahora estudiaremos este virus con más detalle para ilustrar el ciclo de replicación de los virus virulentos.

El genoma de los bacteriófagos T-par

Los bacteriófagos T2, T4 y T6 son virus estrechamente emparentados, pero T4 es el más estudiado. El virión del fago T4 es estructuralmente complejo (Figura 10.5*b*). Consiste en una cabeza icosaédrica alargada cuyas dimensiones totales son 85 × 110 nm. Esta cabeza lleva unida una cola compleja formada por un tubo helicoidal (25 × 110 nm) con una vaina, un «cuello» conector con «collar» y una placa basal compleja, a la que se unen largas fibras basales (Figura 10.5*b*). En conjunto, la partícula vírica contiene 25 tipos distintos de proteínas estructurales.

El genoma de T4 es una molécula lineal de DNA bicatenario de 168.903 pares de bases. El genoma de T4 codifica unas 250 proteínas diferentes, y aunque no se conoce ningún virus que codifique su propio aparato traduccional, T4 codifica algunos de sus tRNA. Si bien el genoma de T4 tiene una secuencia lineal única, en realidad las moléculas de DNA genómico tampoco son idénticas entre los diferentes viriones. Esto es así porque el DNA del fago T4 sufre una permutación circular. Las moléculas que son permutadas circularmente parecen haber sido linealizadas mediante la apertura de círculos idénticos en distintos puntos. Además de la permutación circular, el DNA de cada virión de T4 tiene secuencias repetidas de entre 3 y 6 kbp en cada extremo, llamadas repeticiones terminales. Ambos factores afectan al empaquetamiento del genoma.

El DNA de T4, redundante en sus extremos, cuando infecta a una sola célula hospedadora se replica en primer lugar como una unidad, y después se recombinan varias unidades genómicas, extremo con extremo, para formar una larga molécula de DNA llamada *concatémero* (**Figura 10.13**). Durante el empaquetamiento del DNA de T4, el DNA no se corta en una secuencia específica; en cambio se cortan segmentos de DNA del concatémero lo bastante largos para llenar la cabeza de un fago. Como en la cabeza de T4 cabe ligeramente más que la longitud de un genoma, este «mecanismo de encapsulación» lleva a la permutación circular y a la redundancia en los extremos. El DNA de T4 contiene la base modificada *5-hidroximetilcitosina* en lugar de la citosina (**Figura 10.14**). Son

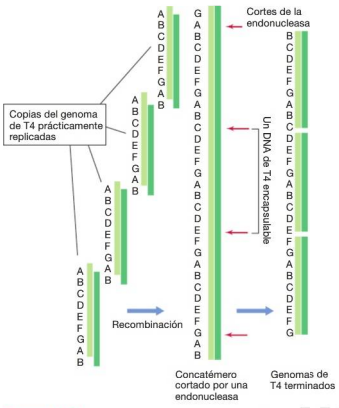


Figura 10.13 **Permutación circular.** Generación de moléculas de DNA de T4 de la longitud del genoma de un virus con secuencias permutadas por una endonucleasa que corta longitudes constantes de DNA independientemente de la secuencia. Izquierda: copias del genoma de T4 infeccioso prácticamente replicadas son recombinadas para formar un concatémero. Centro: las flechas rojas son sitios de corte de la endonucleasa. Derecha: moléculas de genoma terminadas. Obsérvese que cada genoma de T4 formado en la derecha contiene genes A-G, pero los extremos son únicos en cada molécula.

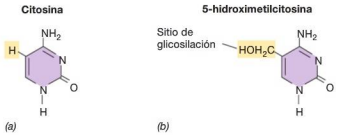


Figura 10.14 **La base exclusiva del DNA de los fagos T-par, 5-hidroximetilcitosina.** (*a*) Citosina. (*b*) 5-hidroximetilcitosina. El DNA con 5-hidroximetilcitosina glicosilada es resistente a los cortes de las enzimas de restricción.

estos los residuos que se glicosilan (Sección 10.6), y el DNA con esta modificación es resistente a prácticamente todas las enzimas de restricción conocidas. En consecuencia, el DNA introducido por T4 está protegido de las defensas del hospedador.

Etapas durante la infección

Las cosas ocurren con rapidez en una infección por T4. Inmediatamente, T4 dirige la síntesis de su propio RNA y empieza también a replicar su DNA exclusivo. Aproximadamente un minuto después de su unión y penetración en el hospedador, la síntesis del DNA y el RNA del hospedador se detiene y empieza la transcripción de genes específicos del fago. La traducción del mRNA vírico empieza inmediatamente después, y en cuatro minutos ha dado comienzo la replicación del DNA.

El genoma de T4 se puede dividir en tres partes, que codifican *proteínas tempranas*, *proteínas medias* y *proteínas tardías*, respectivamente (**Figura 10.15**). Las proteínas tempranas y medias son fundamentalmente enzimas necesarias para la replicación del DNA y la

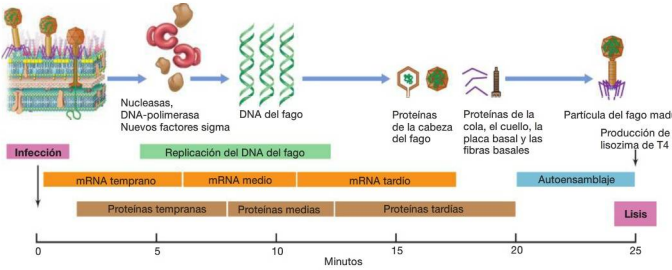


Figura 10.15 **Curso de los acontecimientos en la infección por el fago T4.** Después de la inyección del DNA se sintetizan los mRNA tempranos y medios que codifican las endonucleasas, la DNA-polimerasa, los nuevos factores sigma específicos del fago y otras proteínas necesarias para la replicación del DNA. El mRNA tardío codifica proteínas estructurales del virión del fago y la lisozima T4, necesaria para lisar la célula y liberar las nuevas partículas de fago.

transcripción, mientras que las proteínas tardías son las proteínas de la cabeza y la cola y las enzimas necesarias para liberar las partículas de fago maduro de la célula. El curso de los acontecimientos durante la infección por T4 se muestra en la Figura 10.15.

Si bien T4 tiene un genoma muy largo para ser un virus, no codifica su propia RNA-polimerasa. El control de la síntesis del mRNA de T4 necesita la producción de proteínas que modifiquen secuencialmente la especificidad de la RNA-polimerasa del hospedador de manera que reconozca los promotores del fago. Los promotores tempranos son leídos directamente por esta RNA-polimerasa y necesitan el factor sigma del hospedador. La transcripción del hospedador es inactivada poco tiempo después por un factor antisigma que se une al σ^{70} del hospedador (Sección 7.10) e interfiere con su reconocimiento de los promotores de éste.

Las proteínas específicas del fago codificadas por los genes tempranos también modifican covalentemente las subunidades α de la RNA-polimerasa del hospedador (Sección 7.9) y algunas proteínas del fago también se unen a la RNA-polimerasa. Estas modificaciones alteran la especificidad de la polimerasa, que ahora reconoce los promotores medios de T4. Una de las proteínas tempranas de T4, MotA, reconoce una secuencia concreta de DNA de los promotores medios y guía a la RNA-polimerasa hacia esta secuencia. La transcripción a partir de los promotores tardíos requiere un nuevo factor sigma codificado por T4. La modificación secuencial de la RNA-polimerasa de la célula hospedadora tal y como se ha descrito aquí para el fago T4 es utilizada por muchos otros bacteriófagos para regular la expresión génica.

El T4 codifica unas veinte proteínas nuevas que son sintetizadas muy pronto después de la infección. Entre ellas se incluyen enzimas para la síntesis de la base inusual 5-hidroximetilcitosina (Figura 10.14) y para su glicosilación, así como una enzima para degradar el precursor habitual del DNA trifosfato de desoxicitidina. Además, T4 codifica algunas enzimas que tienen funciones similares a las de las enzimas del hospedador en la replicación del DNA, pero que se sintetizan en mayor cantidad, lo que permite la síntesis más rápida del DNA específico de T4. Otras proteínas tempranas adicionales están implicadas en el procesamiento del DNA recién replicado del fago (Figura 10.13).

La mayoría de los genes tardíos codifican proteínas estructurales para el virión, incluidas las de la cabeza y la cola. El ensamblaje de cabezas y colas es independiente. El DNA es bombeado activamente hacia la cabeza hasta que la presión interna alcanza el grado necesario —que es unas diez veces el del cava embotellado. La cola y las fibras basales se añaden una vez que se ha llenado la cabeza (Figura 10.15). El virus sale cuando la célula es lisada. El fago codifica una enzima, la *lisozima de T4*, que ataca el peptidoglicano de la célula hospedadora. Después de cada ciclo de replicación, que dura sólo veinticinco minutos (Figura 10.15), se liberan unos 100 viriones nuevos de cada célula hospedadora, que resulta casi completamente destruida.

10.9 Minirrevisión

Después de que un virión de T4 se une a una célula hospedadora y el DNA penetra en el citoplasma, la expresión de los genes víricos se regula de forma que se redirecciona la maquinaria sintética del hospedador hacia la producción de ácido nucleico y proteínas del virus. A continuación se ensamblan los viriones nuevos y se liberan de la célula mediante lisis. T4 tiene un genoma de DNA bicatenario que sufre permutación circular y tiene extremos redundantes.

- ¿Qué significa que el genoma del bacteriófago T4 sufre permutación circular y tiene extremos redundantes?
- Dé un ejemplo de un mecanismo utilizado por T4 para asegurar que se transcriben sus genes en lugar de los del hospedador.

10.10 Bacteriófagos atemperados, lambda y P1

El bacteriófago T4 es virulento. Sin embargo, otros virus, aunque son capaces de matar células mediante un ciclo lítico, también pueden llevar a cabo un ciclo de vida diferente, resultante de una relación genética estable con el hospedador. Estos virus reciben el nombre de **virus atemperados**, y pueden entrar en un estado llamado **lisogenia**, en el que la mayoría de sus genes no se expresan y el genoma del virus, llamado **profago**, se replica en sincronía con el cromosoma del hospedador. Es la expresión del genoma vírico la que daña la célula hospedadora, no la mera presencia del DNA vírico. Por lo tanto, las células hospedadoras pueden albergar genomas víricos sin peligro, siempre que la expresión de los genes que controlan las funciones líticas del virus se mantenga bajo control. En las células que albergan un virus atemperado, denominadas **lisógenas**, el genoma del fago se replica junto con el del hospedador y, durante la división celular, pasa de una generación a la siguiente. En determinadas condiciones los virus lisógenos pueden revertir a la **vía lítica** y empezar a producir viriones.

Los dos fagos atemperados mejor estudiados son *lambda* y *P1*. Ambos han contribuido de manera significativa al avance de la genética molecular y son herramientas importantes de la genética bacteriana (el fago P1, Sección 11.11) y la clonación molecular (lambda, Sección 12.14). La lisogenia también es de importancia ecológica, ya que la mayoría de las bacterias aisladas de la naturaleza son lisógenas para uno o más bacteriófagos. La lisogenia puede conferir nuevas propiedades genéticas a la célula bacteriana, y en los últimos capítulos veremos

ejemplos de bacterias patógenas cuya virulencia depende del bacteriófago lisógeno al que albergan. La lisogenia no está limitada a los bacteriófagos: muchos virus animales establecen relaciones similares con sus hospedadores.

Ciclo de replicación de un fago atemperado

Los fagos atemperados pueden entrar en modo lítico tras la infección, o bien pueden establecer la lisogenia. En la **Figura 10.16** se muestra un esquema general del ciclo de vida de un bacteriófago atemperado. Durante la lisogenia, el virus atemperado no existe como partícula vírica en el interior de la célula. En lugar de eso, el genoma del virus se integra en el cromosoma bacteriano (por ejemplo, el fago lambda) o bien existe en el citoplasma en forma de plásmido (como el bacteriófago P1). En cualquier caso, se replica a la vez que la célula huésped siempre que los genes para activar su vía lítica no se expresen. Estas formas no líticas se conocen con el nombre de profagos. Normalmente, este control es debido a una proteína represora codificada por el fago (obviamente, el gen que codifica la proteína represora sí debe expresarse). La proteína represora del virus no sólo controla los genes líticos del profago, también impide la expresión de cualquier gen del mismo virus que quiera penetrar.

Si el represor del fago es inactivado o bien se impide su síntesis, el profago se induce (Figura 10.16). Se producen nuevos viriones y se lisa la célula hospedadora. En algunos casos (por ejemplo el fago lambda) la alteración de las condiciones, especialmente por daño al DNA de la célula hospedadora, induce el estado lítico. Si el virus pierde la capacidad para salir del genoma del hospedador (a causa de una mutación), se convierte en un virus críptico. Estudios genómicos han demostrado que muchos genomas bacterianos contienen secuencias de DNA que alguna vez formaron parte de un genoma vírico. Así, el establecimiento y la ruptura del estado lisógeno es, probablemente, un proceso dinámico en procariotas. **www.microbiologyplace.com Tutorial online 10.1: Un bacteriófago atemperado.**

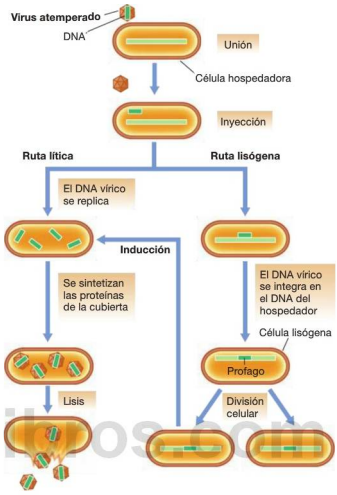


Figura 10.16 Consecuencias de la infección por un fago atemperado. Las alternativas tras la infección son la replicación y liberación del virus maduro (lisis) o la lisogenia, a menudo, como se muestra aquí, por integración del DNA del virus en el DNA del hospedador. La célula lisógena puede ser inducida para producir virus maduros y lisarse.

El bacteriófago lambda

El bacteriófago lambda, que infecta a *Escherichia coli*, ha sido estudiado en gran detalle. Al igual que otros fagos atemperados, tanto la vía lítica como la lisógena son posibles (Figura 10.16). Los viriones de lambda se parecen a los de otros bacteriófagos con cola, aunque no tiene fibras basales (**Figura 10.17** y Figura 10.12). El genoma de lambda está formado por dsDNA lineal. No obstante, en el extremo 5′ de cada cadena hay una región de 12 nucleótidos de cadena sencilla. Estos extremos cohesivos monocatenarios son complementarios, y cuando el DNA de lambda penetra en la célula hospedadora, se aparean para formar el sitio *cos* (**Figura 10.18**). A continuación el DNA se liga y forma un círculo bicatenario.

Cuando lambda es lisógeno, se integra en el cromosoma de *E. coli* en un único sitio, conocido como *sitio attλ* (de *lambda attachment site,* sitio de unión λ.) La in-

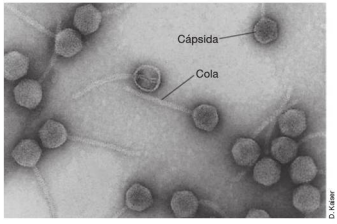


Figura 10.17 El bacteriófago lambda. Micrografía electrónica mediante tinción negativa de viriones del fago lambda. La cabeza de cada virión tiene un diámetro de unos 6,5 nm y contiene dsDNA lineal.

tegración necesita la presencia de la enzima integrasa de lambda, que reconoce los sitios de unión del fago y de la bacteria (marcados como *att* en la Figura 10.18) y facilita su unión. A continuación, el DNA integrado de lambda se replica junto con el resto del genoma del hospedador y es transmitido a las células de la progenie.

Cuando lambda entra en el modo lítico, sintetiza concatémeros de DNA largos y lineales mediante la replicación por círculo rodante (**Figura 10.19**). A diferencia de la replicación semiconservativa, este mecanismo es asimétrico y se produce en dos etapas. En la primera, se forma una muesca en una cadena del genoma circular de lambda. Entonces se origina un largo concatémero de cadena sencilla usando la cadena intacta como molde. En la segunda etapa se sintetiza una segunda cadena con el concatémero de cadena sencilla como molde. Por último, el concatémero de doble cadena se corta en fragmentos del tamaño del genoma en los sitios *cos*, lo que da lugar a extremos cohesivos. Entonces se empaquetan los genomas lineales en la cabeza de los fagos y se añaden las colas; a continuación se lisa la célula con enzimas codificadas por el fago. Muchos virus de DNA y de RNA y algunos plásmidos (Sección 11.2) utilizan variaciones de la replicación por círculo rodante. En algunos casos se cortan y se empaquetan concatémeros monocatenarios; en otros, se sintetiza la cadena complementaria antes del empaquetamiento, como en lambda.

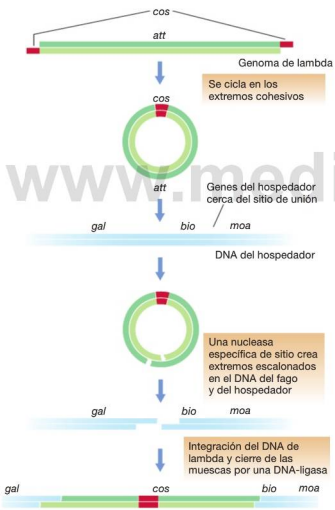


Figura 10.18 Integración del DNA de lambda en el hospedador. La integración ocurre siempre en sitios de unión específicos (sitios att) del DNA del fago y del hospedador. Se indican algunos genes del hospedador cercanos al sitio de unión: operón *gal*, utilización de galactosa; operón *bio*, síntesis de biotina; operón *moa*, síntesis de cofactores de molibdeno. Se necesita una enzima específica de sitio (integrasa), y el apareamiento específico de los extremos complementarios da lugar a la integración del DNA del fago.

Lambda: ¿lisis o lisogenia?

La decisión entre lisis o lisogenia durante la infección por lambda depende de un interruptor genético extremadamente complejo. Los elementos clave son dos proteínas represoras, el represor de lambda o *proteína cI* (Figura 9.3*b*), y el represor *Cro*. Para establecer la lisogenia deben producirse dos hechos: 1) se debe impedir la producción de proteínas tardías; y 2) una copia del genoma de lambda debe estar integrada en el cromosoma del hospedador. Si se sintetiza cI, ésta reprime la síntesis del resto de proteínas codificadas por lambda y se establece la lisogenia. Por el contrario, Cro reprime la expresión de las proteínas cII y cIII, necesarias para mantener la lisogenia mediante inducción de la síntesis del represor de lambda (cI). Así, cuando se sintetiza Cro en grades cantidades, lambda pasa a modo lítico. La degradación de cII por una proteasa de la célula hospedadora (la proteína FtsH) también es crítica. La proteína cIII de lambda protege a cII del ataque de la proteasa y la estabiliza. En la **Figura 10.20** se muestra un resumen de las etapas implicadas en el control de la lisis y la lisogenia de lambda. El resultado final está determinado por la proteína que domina finalmente en una infección determinada, Cro o cI. Si Cro domina el proceso regulador, la consecuencia es la lisis; si es cI quien domina, se producirá lisogenia.

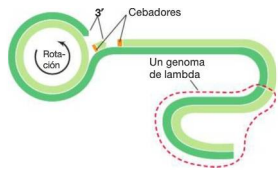


Figura 10.19 Replicación por círculo rodante del genoma de lambda. A medida que la cadena de color verde oscuro se desenrolla, va siendo replicada por su extremo opuesto. Obsérvese que la síntesis es asimétrica porque una de las cadenas parentales sigue sirviendo como molde y la otra es utilizada sólo una vez.

10.10 Minirrevisión

La lisogenia es un estado en el que se reprime el proceso de lisis. Los virus que pueden entrar en estado lisógeno se llaman virus atemperados. En la lisogenia, el genoma del virus se convierte en un profago, bien por integración en el cromosoma del hospedador o por replicación como un plásmido en concomitancia con la célula hospedadora. No obstante, determinados estímulos ambientales pueden inducir la lisis.

- ¿Cuáles son las dos vías disponibles para un virus atemperado?
- ¿Qué tiene que suceder para que lambda se convierta en un profago?
- ¿Cuál debería ser el beneficio para los hospedadores de los virus atemperados?

10.11 Generalidades de los virus animales

Las primeras secciones de este capítulo están dedicadas a las propiedades generales de los virus, y hemos hablado poco de los virus animales. En esta sección vamos a analizar algunas de las características de los virus animales, y prepararemos el campo para el estudio de los retrovirus, uno de los cuales es el causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

www.medi

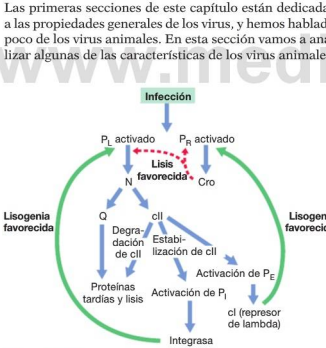


Figura 10.20 Resumen de las etapas de la infección por lambda. La opción lisis frente a la lisogenia la decide el hecho de que se sintetice o no el represor de lambda (cI). Una alta actividad Cro impide la síntesis de suficiente proteína cII, lo que a su vez impide la síntesis de la proteína cI, y el resultado es la lisis. Además, la cantidad de cII depende de la relación entre su degradación por las proteasas del hospedador frente a su protección por la proteína cIII de lambda. Si hay suficiente cII, los promotores de cI y de la integrasa se activan, con la consiguiente síntesis de cI y de la integrasa. En consecuencia, se produce integración y lisogenia. P_L es el promotor hacia la izquierda de lambda, y P_R es el promotor hacia la derecha.

En nuestro análisis de la reproducción vírica en las Secciones 10.5-10.7, hablamos del «hospedador» del virus de un modo general. Sin embargo, es importante recordar que el hospedador de los bacteriófagos es una célula bacteriana, mientras que el hospedador de un virus animal es una célula eucariota. Profundizaremos en estas importantes diferencias en el Capítulo 19, donde hablaremos de varios tipos de virus animales con más detalle. No obstante, los puntos fundamentales son que 1) a diferencia de lo que ocurre en procariotas, en la célula animal penetra el virión entero, y 2) las células eucariotas contienen un núcleo, donde se replican muchos virus animales. Además, algunos detalles del procesamiento del RNA eucariótico afectan a la replicación de los virus animales, pero esto no debe preocuparnos por el momento.

Clasificación de los virus animales

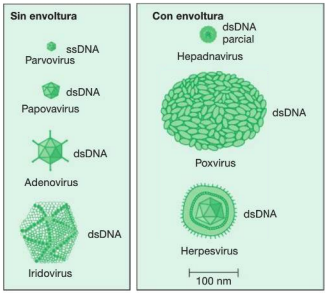
En la **Figura 10.21** se ilustran varios tipos de virus animales. Ya hablamos de los principios de la clasificación de los virus en la Sección 10.7. Los virus animales se clasifican siguiendo los mismos esquemas que los virus bacterianos, incluyendo el sistema de clasificación de Baltimore (Tabla 10.2), que clasifica los virus según el tipo de genoma y la estrategia reproductiva. Se conocen virus animales en todas las categorías de replicación, y se analiza un ejemplo de cada uno en el Capítulo 19. La mayoría de los virus animales que se han estudiado en detalle son aquellos que pueden replicarse en cultivo celular (Sección 10.3).

Obsérvese que existen muchos más tipos de virus recubiertos animales que bacterianos (Sección 10.7) Esto, probablemente, refleja las diferencias entre el exterior de las células hospedadoras en cada caso. A diferencia de las células procariotas, las células animales carecen de pared celular, de modo que los virus son secretados de la célula con más facilidad. En su salida eliminan parte de la bicapa lipídica de la célula animal cuando pasan a través de la membrana.

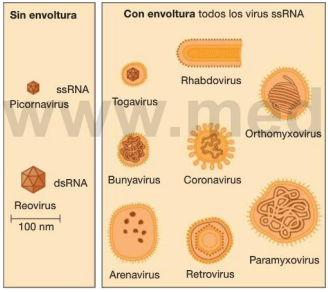
Consecuencias de la infección vírica en las células animales

Los virus pueden tener diversos efectos en las células animales. La infección lítica provoca la destrucción de la célula hospedadora (**Figura 10.22**). Sin embargo, con los virus recubiertos, la liberación de los viriones, que se produce por una especie de proceso de gemación, puede ser lenta y es posible que no se lise la célula hospedadora. Así pues, la célula infectada puede seguir viva y continuar produciendo virus indefinidamente. Estas infecciones se llaman infecciones persistentes (Figura 10.22).

Los virus también pueden causar infección latente en un hospedador. En una infección latente, existe una demora entre la infección por el virus y los sucesos de lisis. Las ampollas de fiebre (pupas de resfriado), causadas por el virus herpes simple (Sección 19.12) son un ejemplo tí-



(a) **Virus de DNA**



(b) **Virus de RNA**

Figura 10.21 **Diversidad de los virus animales.** Formas y tamaños relativos de los principales grupos de virus de vertebrados. El genoma del hepadnavirus tiene una cadena completa de DNA y parte de la cadena complementaria (Sección 19.15).

pico de infección vírica latente; los síntomas (el resultado de la lisis de las células) reaparecen esporádicamente cuando el virus emerge de la latencia. La etapa latente en la infección vírica de una célula animal no suele deberse a la integración del genoma vírico en el genoma del hospedador, como ocurre a menudo con las infecciones latentes (lisógenas) por los bacteriófagos atemperados. En cambio, los herpesvirus existen en un estado relativamente inactivo en el interior de las células nerviosas. Sigue produciéndose la transcripción a bajo nivel, pero el DNA vírico no se replica.

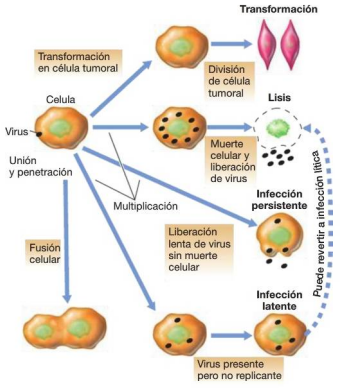


Figura 10.22 **Posibles efectos de los virus animales en las células que infectan.** La mayoría de los virus son líticos, y sólo se conocen unos pocos que provoquen cáncer.

www.medilibros.com

Algunos virus con envoltura inducen la fusión entre múltiples células animales, y crean células gigantes con varios núcleos (Figura 10.22). No resulta sorprendente que dichas células fusionadas no se desarrollen correctamente y tengan una vida corta. Además, la fusión celular permite a los virus evitar la exposición al sistema inmunitario moviéndose entre los núcleos de las células hospedadoras sin tener que emerger de ellas. Por último, algunos virus animales pueden convertir una célula normal en una célula tumoral, un proceso llamado **transformación**. Hablaremos de los virus causantes de cáncer en las Secciones 19.11 y 19.12.

Se conocen muchos virus diferentes, pero de todos los citados en la Figura 10.21, un grupo se erige con un modo absolutamente único de replicación. Se trata de los retrovirus. Los exploraremos a continuación como ejemplo de virus animal complejo y altamente inusual con implicaciones médicas significativas.

10.11 Minirrevisión

Hay virus animales con todos los tipos conocidos de replicación del genoma vírico. Muchos virus animales tienen envoltura y toman porciones de membrana del hospedador al abandonar la célula. No todas las infecciones de células animales terminan en lisis celular o muerte; son habituales las infecciones latentes o persistentes, y algunos virus animales pueden causar cáncer.

- Diferencie entre una infección vírica persistente y una latente.
- Compare los mecanismos por los que los virus animales penetran en las células con los utilizados por los virus bacterianos.

10.12 Retrovirus

Los retrovirus contienen un genoma de RNA que se replica a través de un intermediario de DNA (Sección 10.1 y Figura 10.11). El prefijo *retro* significa «hacia atrás» y el nombre retrovirus procede del hecho de que estos virus transfieren la información «hacia atrás», del RNA al DNA. Los retrovirus utilizan la enzima *retrotranscriptasa* o *transcriptasa inversa* para llevar a cabo este interesante proceso. El uso de la retrotranscriptasa no está restringido a los retrovirus; el virus de la hepatitis B (un virus humano) y el virus del mosaico de la coliflor (un virus vegetal) también utilizan la transcripción inversa en sus procesos de replicación (Sección 19.15). Sin embargo, a diferencia de los retrovirus, estos otros virus son de DNA, no de RNA.

Los retrovirus son interesantes también por otras razones. Por ejemplo, fueron los primeros virus de los que se demostró que causaban cáncer, y han sido estudiados en profundidad por sus características cancerígenas. También un retrovirus, el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) causa el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Este virus infecta a una clase específica de linfocito T (las células T-colaboradoras) en humanos que es vital para el correcto funcionamiento del sistema inmunitario. En capítulos posteriores hablaremos de los aspectos médicos e inmunológicos del SIDA (Sección 34.15).

Los retrovirus son virus con envoltura (**Figura 10.23***a*). Hay varias proteínas en la envoltura del virus y típicamente siete proteínas internas, cuatro de las cuales son estructurales y tres enzimáticas. Las enzimas del virión son la retrotranscriptasa, la integrasa y una proteasa. El virión también contiene moléculas específicas de tRNA que utiliza en la replicación (como se explicará más adelante en esta sección).

Características del genoma de los retrovirus y replicación

El genoma de los retrovirus es único. Consiste en dos moléculas idénticas de RNA monocatenario de orientación positiva (+). En la Figura 10.23*b* se muestra un mapa genético del genoma típico de un retrovirus. Si bien hay diferencias entre los mapas genéticos de los diferentes retrovirus, todos ellos contienen los genes siguientes dispuestos en el mismo orden: *gag*, que codifica proteínas estructurales; *pol*, que codifica la retrotranscriptasa y la integrasa; y *env*, que codifica las proteínas de la envoltura. Algunos retrovirus, como el virus del sarcoma de Rous, contienen un cuarto gen después de *env* que es activo en la transformación celular y el cáncer. Las repeticiones terminales que se muestran en el mapa son esenciales para el proceso de replicación vírica.

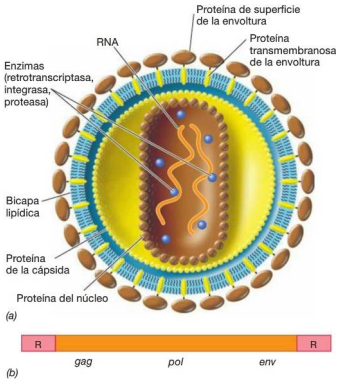


Figura 10.23 Estructura y función de los retrovirus. (*a*) Estructura de un retrovirus. (*b*) Mapa genético del genoma típico de un retrovirus. Cada extremo del RNA genómico contiene repeticiones directas (R).

El proceso global de replicación de un retrovirus se puede resumir en los pasos siguientes (**Figura 10.24**):

1. Entrada en la célula por fusión con la membrana citoplasmática en sitios de receptores específicos.
2. Eliminación de la envoltura del virión en la membrana, pero dejando el genoma y las enzimas en la nucleocápsida del virus.
3. Retrotranscripción de uno de los dos genomas de RNA en un DNA monocatenario que es posteriormente convertido por la transcriptasa inversa en un DNA bicatenario lineal que, después, entra en el núcleo.
4. Integración del DNA retrovírico en el genoma del hospedador.
5. Transcripción del DNA retrovírico con la formación de mRNA víricos y RNA genómico del virus.
6. Ensamblaje y empaquetamiento del RNA genómico en nucleocápsidas en el citoplasma.
7. Gemación de los viriones recubiertos en la membrana citoplasmática y liberación de la célula.

Actividad de la retrotranscriptasa

Un paso muy temprano tras la entrada del genoma de RNA en la célula es la **retrotranscripción**: la conversión del RNA en una copia de DNA utilizando la enzima retrotranscriptasa presente en el virión. El DNA que se forma

www.libros.com

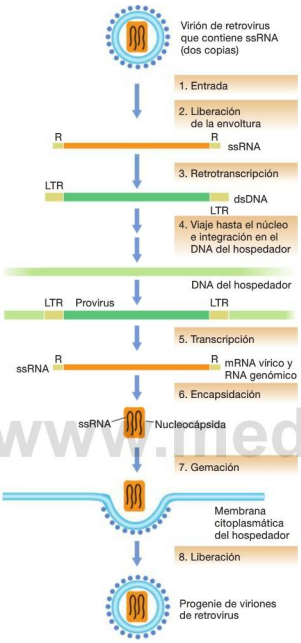


Figura 10.24 **Proceso de replicación de un retrovirus.** R, repeticiones directas; LTR, repeticiones terminales largas. Para más detalle sobre la conversión del RNA al DNA (paso 3), *véase* la Figura 19.25.

es una molécula lineal de doble cadena que se sintetiza en el citoplasma en el interior de una partícula vírica sin envoltura. Los detalles de este proceso se pueden encontrar en la Sección 19.15. Aquí apuntaremos únicamente que la retrotranscriptasa es un tipo de DNA-polimerasa y como todas las DNA-polimerasas debe tener un cebador (Sección 7.5). El cebador para la retrotranscriptasa de los retrovirus es un RNA de transferencia (tRNA) específico codificado por la célula hospedadora. El tipo de tRNA utilizado como cebador depende del virus y es empaquetado en el virión en la célula hospedadora previa.

El resultante del proceso total de retrotranscripción es un producto que tiene largas repeticiones terminales (LTR, Figura 10.24) que son más largas que las repeticiones terminales del propio RNA genómico (Figura 10.23). Esta molécula de dsDNA entra completa en el núcleo junto a la proteína integrasa; una vez allí, el DNA vírico se integra en el DNA del hospedador. Las LTR contienen fuertes promotores de la transcripción y participan en el proceso de integración. La integración del DNA vírico en el genoma del hospedador es análoga a la integración del DNA del fago en un genoma bacteriano para formar el estado lisógeno (Sección 10.10). El DNA vírico puede integrarse en cualquier lugar del DNA celular y, una vez integrado, el elemento, ahora llamado **provirus** es un elemento genético estable y puede permanecer allí indefinidamente.

Si los promotores de las LTR de la derecha son activados, el DNA provírico integrado es transcrito por una RNA-polimerasa de la célula del hospedador. Estos transcritos de RNA pueden empaquetarsse en partículas víricas (como genoma) o bien ser traducidos a proteínas. Algunas proteínas víricas son sintetizadas inicialmente como una gran proteína *gag* primaria, que después es escindida por proteólisis en las proteínas de la cápsida. En ocasiones se continúa la lectura más allá de la región *gag* (debido a la inserción de un aminoácido en el codón de parada o a un desplazamiento de la pauta de lectura por el ribosoma). Esto lleva a la traducción de *pol*, el gen de la retrotranscriptasa, que produce retrotranscriptasas para su inserción en los viriones.

Cuando las proteínas estructurales del virus se han acumulado en cantidad suficiente, se ensamblan las nucleocápsidas. La encapsidación del genoma de RNA conduce a la formación de las nucleocápsidas maduras, que se desplazan hacia la membrana citoplasmática para el ensamblaje final en partículas víricas recubiertas. Cuando las nucleocápsidas geman a través de la membrana son selladas y después liberadas para infectar a células vecinas (Figura 10.24).

10.12 Minirrevisión

Los retrovirus son virus de RNA que se replican a través de un intermediario de DNA. El retrovirus llamado virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es el causante del SIDA. Los viriones de los retrovirus contienen una enzima, la retrotranscriptasa, que copia la información desde su genoma de RNA a DNA. El DNA se integra en el cromosoma del hospedador a la manera de los virus atemperados. El DNA retrovírico puede transcribirse para producir mRNA (y nuevo RNA genómico) o puede permanecer en estado latente.

- ¿Por qué estos virus reciben el nombre de retrovirus?
- ¿En qué se diferencia el ciclo de replicación de un bacteriófago atemperado del de un retrovirus?

IV ENTIDADES SUBVÍRICAS

Hemos definido un virus como un elemento genético que subvierte los procesos celulares normales para su propia replicación y que tiene una forma extracelular infecciosa. Hay algunos agentes infecciosos que se asemejan a los virus pero cuyas propiedades no concuerdan con esta definición y, por lo tanto, no son considerados virus. Los virus defectivos derivan claramente de los virus, pero se han vuelto dependientes de otros virus completos que les suministren algunos productos génicos. Por otra parte, dos de las entidades subvíricas más importantes, los viroides y los priones, no son meros virus incompletos, sino que difieren de ellos en aspectos fundamentales. Ambos ilustran las formas inesperadas en las que los elementos genéticos pueden subvertir a las células hospedadoras. No obstante, los priones destacan entre todos los elementos genéticos que hemos tenido en cuenta en este capítulo porque su agente de transmisión infecciosa carece de ácido nucleico.

10.13 Virus defectivos

Algunos virus son parásitos de otros virus, conocidos como **virus auxiliares**. Algunos de estos llamados **virus defectivos** simplemente dependen de virus intactos del mismo tipo para que les proporcionen las funciones necesarias. Mucho más interesantes son los virus defectivos —llamados *virus satélite*— para los que no existe versión intacta; estos virus defectivos dependen de virus que no están emparentados con ellos para que actúen como auxiliares.

Ejemplos de virus defectivos y virus satélite

Se conocen muchos virus defectivos. Por ejemplo, el bacteriófago P4 de *Escherichia coli* puede replicarse, pero su genoma no codifica ninguna proteína de la cápsida. En cambio, depende del fago relacionado P2 como auxiliar para proporcionarle las proteínas de la cápsida para el ensamblaje de la partícula fágica.

Los virus satélite se encuentran en animales y en plantas. Por ejemplo, el virus adenoasociado (AAV) es un virus satélite de humanos que depende del adenovirus como auxiliar. El virus adenoasociado y el adenovirus pertenecen a dos familias víricas bastante diferentes. Por lo tanto, el AAV no es un mutante defectivo del adenovirus, sino un virus no relacionado con él pero que habita en las mismas células hospedadoras. No obstante, como causa poco o ningún daño en el hospedador, en la actualidad AAV está siendo utilizado como vector de clonación eucariótico en terapia génica (Sección 26.9). En este sistema, AAV puede utilizarse para transportar genes de sustitución a tejidos específicos de los hospedadores sin causar enfermedades.

10.13 Minirrevisión

Los virus defectivos son parásitos de virus completos. Los virus auxiliares proporcionan proteínas que los defectivos no codifican. Algunos virus defectivos dependen de virus auxiliares estrechamente relacionados con ellos pero intactos. Sin embargo, los virus satélite dependen de virus intactos no relacionados que infectan las mismas células hospedadoras para completar su replicación.

- ¿Qué es un virus auxiliar?
- ¿Qué es un virus satélite?

10.14 Viroides

Los **viroides** son moléculas infecciosas de RNA que se diferencian de los virus en que carecen de cubierta proteica. A pesar de ello tienen una forma extracelular razonablemente estable que viaja de una célula hospedadora a otra. Los viroides son moléculas de RNA monocatenario pequeñas y circulares y son los patógenos más pequeños conocidos. Tienen un tamaño de entre 246 y 399 nucleótidos y presentan un grado considerable de homología de secuencia, lo que sugiere que tienen raíces evolutivas comunes. Los viroides causan algunas enfermedades importantes en plantas y pueden tener un gran impacto en la agricultura (**Figura 10.25**). Entre los pocos viroides bien estudiados se incluyen el viroide cadang-cadang del coco (246 nucleótidos), el viroide de la exocor-

Yian Q y Jillian Ding

Figura 10.25 Viroides y enfermedades vegetales. Fotografía de una tomatera sana (izquierda) y una infectada con el viroide del tubérculo ahusado de la patata (PSTV) (derecha). El rango de hospedadores de la mayoría de viroides es bastante restringido; no obstante, PSTV infecta tomates y patatas, y provoca atrofia del crecimiento, una parte superior achatada y la muerte prematura de la planta (derecha).

tis de los cítricos (375 nucleótidos) y el viroide del tubérculo ahusado de la patata (359 nucleótidos). No se conoce ningún viroide que infecte animales o procariotas.

Estructura y función de los viroides

La forma extracelular de vida de un viroide es el RNA desnudo —no hay cápsida proteica de ninguna clase—. Si bien el RNA del viroide es un círculo covalentemente cerrado de cadena sencilla, tiene una estructura secundaria compleja que lo hace parecer una molécula corta de doble cadena con los extremos cerrados (**Figura 10.26**). Aparentemente, esto confiere al viroide la estabilidad suficiente para existir en el exterior de la célula hospedadora. Al carecer de cubierta proteica, el viroide no utiliza un receptor para penetrar en la célula hospedadora. En lugar de esto, el viroide entra en la planta a través de una herida, producida por un insecto o por cualquier tipo de daño mecánico. Una vez dentro, los viroides van de célula en célula a través de los plasmodesmos —finas cadenas de citoplasma que unen las células vegetales (**Figura 10.27**).

Aún más curioso es el hecho de que la molécula de RNA no contiene genes que codifiquen proteínas, por lo que el viroide es casi completamente dependiente de las funciones del hospedador para su replicación. El viroide es replicado en el núcleo de la célula hospedadora o en el cloroplasto por una de las RNA-polimerasas de la planta. El resultado es un RNA multimérico formado por muchas unidades de viroides unidas por los extremos. El viroide aporta una función a su propia replicación —parte del propio viroide posee actividad ribozímica (Sección 8.8). Esta actividad ribozímica es utilizada para el corte del RNA multimérico, que produce viroides individuales.

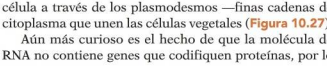


Figura 10.26 Estructura de un viroide. Los viroides consisten en un RNA circular monocatenario que forma una estructura que recuerda a la doble cadena mediante el apareamiento intracatenario de bases.

Figura 10.27 Movimiento de los viroides en el interior de las plantas. Una vez que entran en una célula vegetal, los viroides (en naranja) se replican en el núcleo (aquí en morado) o en el cloroplasto (que no se muestra). Los viroides pueden moverse entre las células de la planta a través de los plasmodesmos (finas cadenas de citoplasma que penetran las paredes y conectan las células vegetales). Además, a mayor escala, los viroides se pueden mover por la planta a través de su sistema vascular.

Enfermedades causadas por los viroides

Las plantas infectadas por viroides pueden carecer de síntomas o desarrollar síntomas que varían entre leves y mortales, en función del viroide (Figura 10.25). Los síntomas más graves están relacionados con el crecimiento, lo que sugiere que los viroides imitan o interfieren de algún modo con los RNA reguladores pequeños (Sección 9.14), cuyos ejemplos son bien conocidos en plantas. Así, los viroides podrían ser ellos mismos RNA reguladores que hubieran evolucionado de contener funciones beneficiosas para la célula a inducir actos destructivos. No se conocen enfermedades animales causadas por viroides, y los mecanismos por los que los viroides causan enfermedades en plantas aún no está del todo claro.

www.medilibros.com

10.14 Minirrevisión

Los viroides son moléculas circulares de RNA monocatenario que no codifican proteínas y son dependientes de las enzimas codificadas por el hospedador excepto en la actividad ribozímica de la propia molécula viroide. Los viroides son los patógenos más pequeños conocidos que contienen ácidos nucleicos.

- Si los viroides son moléculas circulares, ¿por qué se suelen dibujar como varillas compactas?
- ¿En qué parte de la célula hospedadora se replican los viroides?

10.15 Priones

Los **priones** representan el otro extremo de los viroides. Poseen una forma extracelular diferenciada, formada enteramente por proteínas. La partícula priónica no contiene ni DNA ni RNA. Sin embargo, es infecciosa, y se sabe que los priones causan enfermedades en animales, como la tembladera ovina, la encefalopatía espongiforme bovina (EEB o «enfermedad de las vacas locas») en vacas, la caquexia crónica en cérvidos, y el kuru y la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (ECJ) en humanos. No se conocen enfermedades priónicas en plantas, pero se han encontrado priones en levaduras. Colectivamente, las enfermedades priónicas animales se conocen como

encefalopatías espongiformes transmisibles (EET). En 1997, el científico americano Stanley B. Prusiner obtuvo el Premio Nobel de Fisiología y Medicina por su trabajo pionero con estas enfermedades y las proteínas priónicas.

En 1996 quedó claro a partir del seguimiento de la enfermedad en Inglaterra que el prión que causa la EEB en vacas también puede infectar a los humanos, lo que provoca un tipo nuevo de ECJ llamada variante de ECJ (vECJ). Como la transmisión fue a partir de productos bovinos contaminados, la vECJ se convirtió rápidamente en un problema de salud mundial, con un impacto enorme en la industria de los animales de granja (Sección 37.11). La mayoría de estos casos se produjeron en el Reino Unido o en otros países de la Unión Europea (UE) y estuvieron ligados a prácticas inadecuadas de alimentación, en las que se utilizaron suplementos proteicos que contenían despojos bovinos y ovinos (incluyendo tejidos nerviosos) para alimentar a animales que no estaban infectados. Desde 1994 esta práctica está prohibida en todos los países de la UE, y los casos de EEB han descendido drásticamente. Hasta el momento, no se ha descubierto transmisión de ninguna EET a través de otros animales domésticos, como el cerdo, el pollo o el pescado.

Formas de las proteínas priónicas

Si los priones carecen de ácidos nucleicos, ¿cómo se codifican las proteínas que los componen? La célula hospedadora contiene un gen, *Prnp*, que codifica la forma nativa de la proteína priónica, conocida como PrP^{C} (proteína priónica celular), que se encuentra en los animales sanos, principalmente en las neuronas, sobre todo en el cerebro. La forma patógena de la proteína priónica es designada por PrP^{Sc} (proteína priónica de la tembladera, en inglés *prion protein scrapie*), porque la tembladera ovina fue la primera enfermedad priónica que se descubrió. La secuencia de aminoácidos de la forma patógena de la proteína priónica es idéntica a la de PrP^{C} de la misma especie, pero tiene una conformación diferente. Las secuencias de las proteínas priónicas de diferentes especies de mamíferos son muy similares, pero no idénticas. La susceptibilidad a la infección depende de la secuencia de la proteína de un modo que aún no se conoce por completo. Por ejemplo, los priones patológicos de vaca pueden infectar a los humanos, aunque a una frecuencia muy baja. Sin embargo, nunca se ha visto que los priones patológicos de las ovejas infecten a las personas. Los priones sanos están formados en gran medida por segmentos de hélice α, mientras que los priones patógenos tienen menos hélices α y más láminas β. Esto hace que las proteínas priónicas pierdan su función normal, se hagan parcialmente resistentes a las proteasas y se vuelvan insolubles, lo que conduce a su agregación en el interior de las células neuronales (**Figura 10.28**). En este estado, las proteínas priónicas se acumulan y empiezan los síntomas neurológicos.

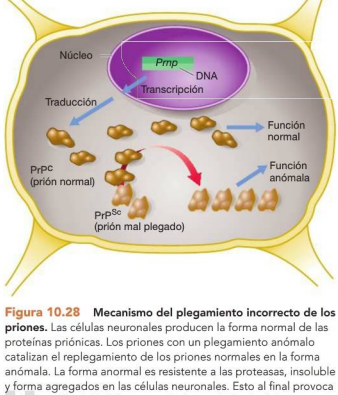


Figura 10.28 Mecanismo del plegamiento incorrecto de los priones. Las células neuronales producen la forma normal de las proteínas priónicas. Los priones con un plegamiento anómalo catalizan el replegamiento de los priones normales en la forma anómala. La forma anormal es resistente a las proteasas, insoluble y forma agregados en las células neuronales. Esto al final provoca la destrucción del tejido neuronal y la aparición de síntomas neurológicos.

www.edilibros.com

Enfermedades priónicas y el ciclo infeccioso de los priones

Cuando un prión patógeno penetra en una célula hospedadora que está expresando una proteína priónica normal, aquél promueve la conversión de la proteína PrP^{C} en PrP^{Sc}. Por lo tanto, el prión canalla no subvierte las enzimas o los genes del hospedador como haría un virus, sino que se «replica» convirtiendo las proteínas priónicas normales que ya existen en la célula hospedadora en formas patógenas. A medida que los priones patógenos se acumulan, forman agregados insolubles en las células del cerebro (Figura 10.28). Esto provoca síntomas de enfermedad que son, invariablemente, neurológicos y en la mayoría de los casos son debidos a la destrucción del cerebro o de tejido nervioso relacionado (Sección 37.11). No está claro si la destrucción de tejido cerebral es debida directamente a la acumulación de agregados priónicos. Las proteínas priónicas normales funcionan en la célula como glicoproteínas citoplasmáticas de membrana, y se ha demostrado que la unión de los priones patógenos a la membrana es necesaria para que empiecen a manifestarse los síntomas de la enfermedad. Las versiones mutantes de las proteínas priónicas que no pueden unirse a la membrana citoplasmática de las células nerviosas todavía pueden agregarse, pero no causan enfermedad.

La enfermedad priónica se produce por tres mecanismos diferentes, aunque todos ellos conducen al mismo

resultado. En la *enfermedad priónica infecciosa*, como se ha descrito más arriba, la forma patógena de la proteína priónica se transmite entre animales o humanos. En la *enfermedad priónica esporádica* se produce un mal plegamiento de una molécula de PrP^{C} al azar en un individuo normal, no infectado. Este cambio se propaga como en la enfermedad priónica infecciosa y la forma patógena de la proteína priónica va acumulándose hasta que aparecen los síntomas. En humanos, esto ocurre en una de cada millón de personas. En la *enfermedad priónica hereditaria*, una mutación en el gen del prión genera una proteína priónica que cambia con más frecuencia a la forma causante de la enfermedad. Se conocen varias mutaciones diferentes cuyos síntomas varían ligeramente.

¿Qué ocurre si penetra una proteína PrP^{Sc} y no encuentra ningún prión sano al que modificar? La respuesta es que no se produce la enfermedad. Esto puede parecer sorprendente, pero es lógico si se observa el mecanismo de replicación del prión. Los ratones que han sido modificados con ambas copias del gen *PrnP* interrumpidas y, por tanto, no pueden producir PrP^{C}, son resistentes a la infección por priones patógenos. Y además, estos ratones viven el tiempo normal y no presentan ninguna anomalía de comportamiento obvia, lo que deja abierta la intrigante pregunta sobre la función que las proteínas priónicas normales ejercen en las células del cerebro.

10.15 Minirrevisión

Los priones están formados por proteínas y no tienen ácidos nucleicos. Existen en dos conformaciones, la forma celular original y la forma patógena. La forma patógena «se replica» a sí misma transformando las proteínas priónicas sanas en la conformación patógena.

- ¿Cuál es la diferencia entre las formas sana y patógena de los priones?
- ¿En qué se diferencia la enfermedad priónica esporádica de la forma transmitida?

Glosario de términos

www.medilibros.com

Bacteriófago: virus que infecta a células procariotas.

Calva: zona de lisis o inhibición celular causada por infección vírica de un césped de células sensibles.

Cápsida: cubierta proteica que rodea al genoma de una partícula vírica.

Capsómero: subunidad de una cápsida.

Célula hospedadora: célula en el interior de la cual se replica un virus.

Encefalopatía espongiforme transmisible (EET): enfermedad degenerativa del cerebro causada por infección priónica.

Icosaedro: figura tridimensional con veinte caras triangulares.

Lisogenia: estado que sigue a la infección vírica en el que el genoma del virus es replicado en forma de provirus junto con el genoma del hospedador.

Lisógeno: bacteria que contiene un provirus.

Nucleocápsida: complejo de ácido nucleico y proteínas de un virus.

Prión: proteína infecciosa cuya forma extracelular no contiene ácido nucleico.

Profago: *véase* provirus.

Proteína tardía: proteína sintetizada más tarde en la infección vírica, tras la replicación del genoma del virus.

Proteína temprana: proteína que se sintetiza muy pronto después de la infección vírica y antes de la replicación del genoma del virus.

Provirus (profago): genoma de un virus atemperado cuando se replica a la vez que el cromosoma del hospedador, y a menudo integrado en él.

Retrotranscripción: proceso de copiar la información que se encuentra en el RNA al DNA mediante la enzima retrotranscriptasa.

Retrovirus: virus cuyo genoma de RNA tiene un intermedio de DNA como parte de su ciclo de replicación.

Transformación: en eucariotas, un proceso por el que una célula normal se convierte en una célula cancerosa.

Vía lítica: serie de etapas tras la infección vírica que conducen a la replicación del virus y a la destrucción (lisis) de la célula hospedadora.

Virión: partícula vírica infecciosa; genoma de ácido nucleico rodeado por una cubierta proteica y, en algunos casos, otras capas de material.

Viroide: RNA monocatenario pequeño y circular que causa algunas enfermedades en plantas.

Virus: elemento genético que contiene RNA o DNA rodeado por una cápsida proteica y se replica sólo en el interior de las células hospedadoras.

Virus atemperado: virus cuyo genoma es capaz de replicarse junto el de su hospedador sin causar la muerte celular, en un estado llamado lisogenia.

Virus auxiliar: virus que proporciona algunos componentes necesarios para un virus defectivo.

Virus de cadena negativa: virus con un genoma monocatenario que tiene el sentido opuesto (es complementario) al mRNA vírico.

Virus de cadena positiva: virus con un genoma monocatenario que tiene la misma complementariedad que el mRNA vírico.

Virus defectivo: virus que depende de otro virus, el virus auxiliar, para proporcionarle algunos de sus componentes.

Virus virulento: virus que lisa o mata la célula hospedadora tras la infección; virus no atemperado.

Preguntas de repaso

1. ¿En qué se diferencian los genomas víricos de los genomas celulares (Sección 10.1)?
2. Defina virus. ¿Cuáles son los rasgos mínimos necesarios para encajar en esta definición (Sección 10.2)?
3. Defina el término «hospedador» en lo que respecta a los virus (Sección 10.3).
4. Describa lo que ocurre en una placa de agar que contiene un césped bacteriano cuando una sola partícula de bacteriófago provoca la formación de una calva (Sección 10.4).
5. En determinadas condiciones es posible obtener cubiertas proteicas sin ácido nucleico (cápsidas) de algunos virus. Bajo el microscopio electrónico, estas cápsidas parecen muy similares a los viriones completos. ¿Qué nos dice esto acerca del papel del ácido nucleico en el proceso de ensamblaje de los virus? ¿Cabría esperar que estos viriones fueran infecciosos? ¿Por qué (Sección 10.5)?
6. ¿Qué diferencia hay entre un operón y un regulón (Sección 9.9)?
7. Podemos dividir el proceso de replicación en cinco etapas. Describa los sucesos asociados a cada una de estas etapas (Secciones 10.6 y 10.7).
8. ¿Por qué el ciclo de vida y el virión de un virus de RNA de cadena positiva son, probablemente, más simples que los de un virus de cadena negativa (Sección 10.8)?
9. En términos de estructura, ¿en qué se parece y en qué se diferencia el genoma del bacteriófago T4 del de *Escherichia coli* (Sección 10.9)?
10. Muchos de los virus que hemos estudiado tienen genes tempranos y genes tardíos. ¿Qué significan estas dos clasificaciones? ¿Qué clases de proteínas tienden a ser codificadas por los genes tempranos? ¿Y cuáles por los genes tardíos? Para el bacteriófago T4, describa cómo se controla la expresión de los genes tardíos (Sección 10.9).
11. Defina los términos siguientes: virulento, lisogenia y profago (Sección 10.10).
12. Una cepa de *Escherichia coli* que carece de la proteína de la membrana externa responsable de la captación de maltosa es resistente a la infección por lambda. Un lambda lisógeno es inmune a la infección por lambda. Describa la diferencia entre resistencia e inmunidad (Sección 10.10).
13. Describa y diferencie los efectos que la infección vírica puede tener en un animal (Sección 10.11).
14. Típicamente, el tRNA se utiliza en el proceso de traducción. No obstante, también realiza una función en la replicación del ácido nucleico de un retrovirus. Explique esta función (Sección 10.12).
15. ¿Qué le proporciona un virus auxiliar a un virus satélite que le permite replicarse (Sección 10.13)?
16. ¿Cuáles son las similitudes y las diferencias entre los virus y los viroides (Sección 10.14)?
17. ¿Cuáles son las similitudes y las diferencias entre los priones y los virus (Sección 10.15)?

www.medilibros.com

Ejercicios prácticos

1. ¿Qué hace que las calvas víricas que aparecen en un césped bacteriano no crezcan más?
2. Los promotores del mRNA que codifican las proteínas tempranas en los virus como el T4 tienen una secuencia diferente de los promotores del mRNA que codifican las proteínas tardías del mismo virus. Explique por qué esto debería ser cierto.
3. Una característica de los bacteriófagos atemperados es que causan calvas túrbidas en lugar de claras en los céspedes bacterianos. ¿A qué cree que podría deberse esto? (Recuerde el proceso por el que se desarrolla una calva bacteriana.)
4. Sugiera posibles razones por las que los viroides infectan sólo plantas y no animales o bacterias.
5. Compare la enzima presente en los viriones de un retrovirus con un bacteriófago de RNA de cadena positiva. ¿En qué se diferencian, si ambos tienen RNA monocatenario de complementariedad positiva en su genoma?
6. Puesto que la infección vírica conduce a la formación de más partículas víricas, explique por qué la «curva de crecimiento» de los virus tiene mucha pendiente en lugar de ser una curva suave (como se observa en la multiplicación bacteriana).

11

Fundamentos de genética bacteriana

I CROMOSOMAS BACTERIANOS Y PLÁSMIDOS 305

11.1 Mapa genético del cromosoma de *Escherichia coli* **305**
11.2 Plásmidos: principios generales **308**
11.3 Tipos de plásmidos y su significado biológico **310**

II MUTACIÓN 312

11.4 Mutaciones y mutantes **312**
11.5 Bases moleculares de la mutación **315**
11.6 Tasas de mutación **317**
11.7 Mutagénesis **318**
11.8 Mutagénesis y carcinogénesis: la prueba de Ames **322**

III INTERCAMBIO GENÉTICO EN PROCARIOTAS 323

11.9 Recombinación genética **324**
11.10 Transformación **325**
11.11 Transducción **328**
11.12 Conjugación: características esenciales **331**
11.13 Formación de las cepas Hfr y movilización cromosómica **333**
11.14 Complementación **336**
11.15 Transferencia génica en arqueas **338**
11.16 DNA móvil: elementos transponibles **339**

www.medilibros.com

Las mutaciones espontáneas son bastante frecuentes en la naturaleza, pero a menudo no las advertimos. Sin embargo, cuando las mutaciones afectan a la síntesis de un pigmento coloreado, se ven muy claramente. Estos hongos mutantes blancos y amarillos derivan de un progenitor verde.

En este capítulo presentamos los principios y técnicas básicos de la genética bacteriana. En primer lugar hablaremos de las estructuras físicas en la que se localizan los genes bacterianos, los cromosomas y los plásmidos. Después estudiaremos cómo pueden surgir las alteraciones en el material genético. Por último, analizaremos cómo se transfieren los genes de un organismo a otro.

I CROMOSOMAS BACTERIANOS Y PLÁSMIDOS

En la actualidad se han secuenciado completamente los genomas de muchas bacterias, lo que ha revelado el número y la disposición de los genes que poseen. La clonación y la secuenciación han revolucionado el estudio de la estructura y la función del genoma en todos los organismos; hablaremos del campo de la genómica en el Capítulo 13. Sin embargo, en los primeros tiempos de la biología molecular, eran necesarios otros análisis genéticos. En concreto, los tres mecanismos de intercambio genético que estudiaremos al final de este capítulo, transformación, transducción y conjugación, se utilizaron para mapear la localización de los genes en un cromosoma bacteriano.

www.medilibros.com

11.1 Mapa genético del cromosoma de *Escherichia coli*

Los genes de *Escherichia coli* se mapearon inicialmente usando la conjugación (Sección 11.12). Sin embargo, esta técnica no permite ordenar los genes que están estrechamente ligados. Por lo tanto, para el mapeo detallado de los genes del cromosoma de *E. coli* se utilizó la técnica de transducción generalizada por el bacteriófago P1 (Sección 11.11). Las técnicas genéticas utilizadas para mapear los cromosomas de otros procariotas estuvieron dictadas por la eficiencia con la que se produce la transferencia genética en cada organismo en particular. Así, por ejemplo, la transformación es muy poco eficiente en *E. coli* pero mucho en las bacterias grampositivas (Sección 11.10); por tanto, demostró ser una herramienta eficaz para mapear los genes de *Bacillus*, una bacteria grampositiva modelo.

El mapa genético de la cepa K-12 de *E. coli* se muestra en la **Figura 11.1**. Las distancias en el mapa se dan en «minutos» de transferencia (a veces llamados centisomas), tomando 100 minutos para el cromosoma completo. El cero se establece arbitrariamente en *thrABC* (el operón treonina), porque los genes de *thrABC* fueron los primeros en los que se observó transferencia por conjugación en *E. coli*. El mapa genético de la Figura 11.1 muestra sólo algunos de los miles de genes del cromosoma de *E. coli* así como la ubicación de algunos sitios de reconocimiento de las enzimas de restricción. El tamaño del cromosoma se da en minutos (las unidades originales, determinadas por estudios de conjugación) y en pares de kilobases.

El cromosoma de *E. coli*, como el de muchos otros procariotas, ha sido completamente secuenciado. La secuenciación de cromosomas bacterianos relativamente pequeños, de 3 ó 4 megabases, se hace hoy en día rutinariamente mediante secuenciación automatizada de clones al azar (en inglés *shotgun*) (Sección 12.6). Debido a la enorme cantidad de datos, la información de los análisis genómicos sólo se puede gestionar con la ayuda de bases de datos computerizadas. Esta situación ha generado un nuevo campo de la biología molecular llamado *bioinformática* (Capítulo 13). Los análisis de las bases de datos utilizando potentes herramientas informáticas de búsqueda de genes ha situado el campo de la bioinformática en una posición central en el estudio de la genómica.

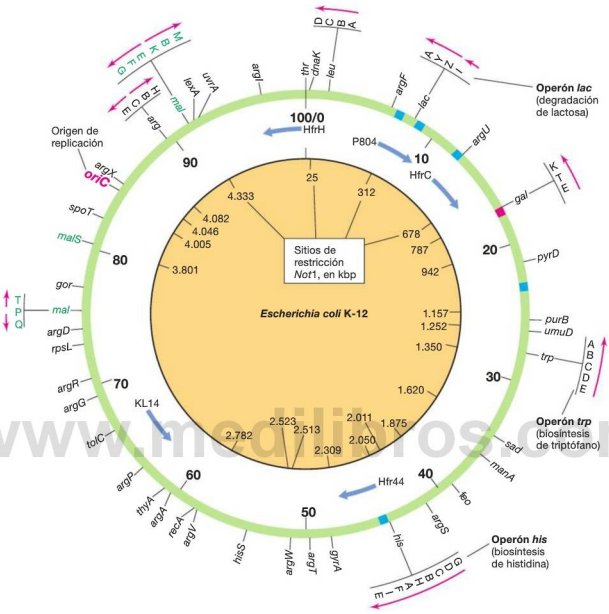
Escherichia coli como procariota modelo

Muchos factores han favorecido el uso de *E. coli* como caballo de batalla en el estudio de la bioquímica, la genética y la fisiología bacteriana. Como se destaca en los Capítulos 10 y 19, incluso los virus de *E. coli* han servido como sistemas modelo de estudio. Aunque el cromosoma de *E. coli* no fue el primero en secuenciarse, este organismo sigue siendo el mejor caracterizado de todos, tanto procariotas como eucariotas. *E. coli* sigue siendo el organismo elegido tanto para investigación como para ingeniería genética (Capítulo 26).

La cepa de *E. coli* cuyo cromosoma se secuenció inicialmente, la cepa MG1655, es un derivado de *E. coli* K-12, la cepa tradicionalmente utilizada en genética. El tipo salvaje de *E. coli* K-12 es lisógeno para el bacteriófago lambda (Sección 10.10) y también contiene el plásmido F (Sección 11.3). Sin embargo, la cepa MG1655 ha sido «curada» de lambda (mediante radiación) y del plásmido F (por tratamiento con acridina, Sección 11.3) antes de empezar la secuenciación. El cromosoma de la cepa MG1655 contiene 4.639.221 bp. El análisis de la secuencia genómica mostró 4.288 posibles pautas de lectura abierta (ORF, Sección 7.13), lo que supone aproximadamente el 88% del genoma. Cerca del 1% del genoma está compuesto por genes que codifican tRNA y rRNA, y un 0,5% son secuencias repetitivas no codificantes. El 10% restante contiene todas las secuencias reguladoras: promotores, operadores, origen y término de replicación del DNA, etc.

Disposición y expresión de los genes en el cromosoma de *Escherichia coli*

Los primeros experimentos de mapeo y los estudios sobre la regulación de los genes que controlan las enzimas de una sola ruta bioquímica en *E. coli* demostraron que, a menudo, estos genes se encuentran agrupados. En el mapa genético de la Figura 11.1 se muestran algunos de estos grupos. Obsérvese, por ejemplo, el grupo de genes *gal* a 18 min, el grupo de genes *trp* a unos 28 min, y el grupo de genes *his* a 44 min. Cada uno de estos grupos



www.medilibros.com

Figura 11.1 **Mapa circular de ligamiento del cromosoma de la cepa K-12 de *Escherichia coli*.** El cromosoma de *E. coli* contiene 4.639.221 pares de bases y 4.288 ORF. En el círculo exterior del mapa se indica la ubicación de algunos genes. También se muestran algunos operones, con el sentido de la transcripción. A lo largo del círculo interior, los números del 0 al 100 se refieren a la posición en el mapa en minutos. Obsérvese que el 0 (tanto en minutos como en pares de kilobases [kbp]) está situado por convenio en el locus *thr*. La replicación tiene lugar bidireccionalmente desde el origen de replicación del DNA, *oriC*, a 84,3 min (Sección 7.7 y Figura 7.16). El círculo interior muestra la ubicación, en pares de kilobases, de los sitios de corte de la enzima de restricción *Not*I. También se muestran los orígenes y los sentidos de transferencia de algunas cepas Hfr (flechas). En azul se muestra la ubicación de cinco copias del elemento transponible IS3. El sitio donde se integra el bacteriófago lambda aparece en rojo. Si el profago lambda estuviera presente, añadiría 48,5 kbp extra al mapa (poco más de 1 min). Los genes del regulón maltosa, que comprende varios operones, se muestran en verde. Aunque la mayoría de los genes maltosa están abreviados como *mal*, obsérvese que la única excepción es *lamB*. Este gen codifica una proteína de la membrana externa implicada en la captación de maltosa, pero también es el receptor del fago lambda. El gen *rpsL* (73 min) codifica una proteína ribosómica. Este gen antes se llamaba *str*, porque las mutaciones en él producen resistencia a la estreptomicina.

constituye un *operón*, que se transcribe como un solo mRNA policistrónico (Secciones 7.12 y 9.3).

Los genes de algunas rutas bioquímicas de *E. coli* no están agrupados. Por ejemplo, los genes implicados en la biosíntesis de arginina (los genes *arg*) están esparcidos por todo el cromosoma como parte del regulón *arg*, una serie de operones controlados como una unidad (Sección 9.3). A causa del temprano descubrimiento de los operones multigénicos y su uso en el estudio de la regulación génica (por ejemplo, el operón *lac*; Secciones 9.3 y 9.9),

puede dar la impresión de que estos operones son la norma en procariotas. Sin embargo, el análisis de la secuencia del cromosoma de *E. coli* ha demostrado que cerca del 70% de las 2.584 unidades transcripcionales predichas o conocidas contienen solamente un gen individual. Y sólo un 6% de los operones tienen cuatro o más genes.

En *E. coli* la transcripción de algunos operones se realiza en el sentido de las agujas del reloj alrededor del cromosoma, y la de otros procede en sentido contrario. Esto significa que algunas secuencias codificantes están en una cadena del cromosoma y las otras en la cadena opuesta. El análisis genómico ha demostrado que existe aproximadamente el mismo número de operones en ambas cadenas. El sentido de la transcripción de algunos operones multigénicos se muestra con flechas en la Figura 11.1. Muchos genes fuertemente expresados en *E. coli* están orientados en el cromosoma de manera que se transcriben en el mismo sentido que la horquilla de replicación del DNA se mueve a través de ellos. Las dos horquillas de replicación empiezan en el origen, *OriC*, situado a unos 84 min en el mapa de la Figura 11.1, y se mueven bidireccionalmente hacia el término, que está situado aproximadamente a 34 min en el mapa. La secuenciación genómica ha confirmado que los siete operones de rRNA de *E. coli* y 53 de sus 86 tRNA se transcriben en el sentido de la replicación. Probablemente, esta disposición para la transcripción de los genes fuertemente expresados permite a la RNA-polimerasa evitar la colisión con la horquilla de replicación, porque ambas estarían moviéndose en el mismo sentido.

Casi 2.000 proteínas o genes que codifican proteínas de *E. coli*, se identificaron por análisis de genética clásica antes de que el cromosoma estuviera completamente secuenciado. A partir de los análisis de secuencia sabemos que nada menos que 4.288 proteínas diferentes se pueden codificar a partir del cromosoma de *E. coli*. De aproximadamente el 38% de estas proteínas se desconoce su función o son simplemente ORF hipotéticas. La proteína «media» de *E. coli* contiene poco más de 300 aminoácidos, pero hay muchas proteínas más pequeñas y muchas más grandes. El gen más grande de *E. coli* codifica una proteína de 2.383 aminoácidos, pero esta proteína aún no ha sido caracterizada. No obstante, a partir de análisis genómicos comparativos se pueden ver similitudes de esta proteína gigante con otras proteínas encontradas en enterobacterias patógenas estrechamente relacionadas con *E. coli*. Por lo tanto, podría tener alguna función en la infección.

Aunque *E. coli* tiene muy pocos genes duplicados, los análisis por ordenador de su genoma muestran que muchos de los genes que codifican proteínas han surgido por duplicación génica durante su historia evolutiva (Sección 11.5). También hay grandes familias génicas en el genoma de *E. coli*, grupos de genes con secuencias relacionadas que codifican productos cuyas funciones también están relacionadas (Sección 13.9). Por ejemplo, hay una familia de 70 genes cuyos productos son todos proteínas transportadoras de membrana. Las familias génicas son habituales, no sólo dentro de una especie, sino a través de amplias líneas taxonómicas. Así pues, la duplicación génica es una poderosa fuerza que afecta a la composición genómica de los procariotas.

Inserciones en el cromosoma de *E. coli* y transferencia génica horizontal

El genoma de *E. coli* contiene otros muchos elementos genéticos que se replican como parte de él. Por ejemplo, existen múltiples copias de varias secuencias de inserción diferentes (elementos IS), incluyendo siete copias de IS2 y cinco copias de IS3 (Sección 11.16). Estos dos elementos IS se encuentran también en el plásmido F, y ambos participan en la formación de las cepas Hfr (Sección 11.13 y Figura 11.22). También hay varios profagos defectivos (tres de los cuales están relacionados con lambda) en el genoma de *E. coli*, y genomas parciales de algunos más. Así, es probable que algunos bacteriófagos lisógenos hayan formado parte de la biología de *E. coli* durante largo tiempo.

Los análisis genómicos han demostrado que *E. coli* obtuvo al menos una parte de su genoma por transferencia génica *horizontal* a partir de otros organismos. La transferencia horizontal se diferencia de la transferencia génica *vertical* en que en ésta última los genes se mueven de la célula madre a la célula hija. De hecho, se ha calculado que cerca del 20% del genoma de *E. coli* se originó a partir de transferencias horizontales. Los genes transferidos horizontalmente se pueden detectar con frecuencia porque tienen porcentajes de GC significativamente diferentes o una distribución de codones (preferencia codónica, Sección 7.13) significativamente diferente de la del organismo hospedador.

La transferencia génica horizontal puede provocar cambios a gran escala en el genoma de un organismo. Por ejemplo, se conocen cepas de *E. coli* que contienen genes virulentos localizados en regiones grandes e inestables del cromosoma llamadas *islas de patogenia* que se pueden adquirir por transferencia horizontal (Sección 13.12 y Figura 13.13). La transferencia horizontal no conduce necesariamente a un aumento del tamaño del genoma. Muchos de los genes adquiridos de este modo no suponen ninguna ventaja selectiva y se pierden por deleción. Esto mantiene el cromosoma de una especie concreta a un tamaño más o menos constante con el tiempo. Por ejemplo, la comparación del tamaño del genoma de varias cepas de *E. coli* han mostrado que todas ellas tienen entre 4,5 y 5,5 Mbp, a pesar de que los genomas procarióticos pueden variar desde por debajo de los 0,5 Mbp hasta los más de 10 Mbp. Así pues, el tamaño del genoma es un rasgo específico de la especie.

Análisis más profundo del genoma de los procariotas

La genética molecular de *E. coli* ha sido explorada intensamente durante décadas, y ahora se ha secuenciado su genoma. ¿Significa esto que los estudios futuros serán ex-

clusivamente bioinformáticos y que los estudios genéticos y bioquímicos tradicionales de *E. coli* han terminado? ¡De ninguna manera! si bien el análisis informático de una secuencia puede aportar mucha información, para entender la *función génica*, especialmente de las secuencias reguladoras, sigue siendo necesario aislar mutantes, mapear sus mutaciones y utilizar los análisis bioquímicos y fisiológicos para determinar sus efectos sobre el organismo. Esto es especialmente cierto para entre el 20% y el 40% (según las especies) de los genes que aparecen en los análisis genómicos (Sección 13.3) como codificadores de proteínas de función desconocida.

Este vasto depósito de proteínas hipotéticas guarda casi con seguridad nuevos secretos bioquímicos que, en su conjunto, expandirán las extensas capacidades metabólicas de los procariotas que ya se conocen. Pero además, como muchos genes procarióticos tienen homólogos entre los organismos eucariotas, incluidos los humanos, entender el funcionamiento de los genes procarióticos tiene consecuencias prácticas para la mejor comprensión de la genética humana. Muchas enfermedades humanas tienen un origen genético. Por ello, cuanto mejor comprendamos lo que hacen las proteínas en las bacterias, mejor entenderemos su función en los humanos. Si la historia sirve de algo, esto nos llevará, entre otras cosas, al desarrollo de nuevos fármacos y otros tratamientos para controlar las enfermedades.

11.1 Minirrevisión

El cromosoma de *Escherichia coli* se ha mapeado utilizando la conjugación, la transducción, la clonación molecular y la secuenciación. *E. coli* ha sido un organismo modelo muy útil, y nos ha proporcionado una cantidad de información considerable, no sólo sobre la estructura génica, sino también sobre la función y la regulación de los genes.

- ¿Qué longitud tiene una proteína bacteriana media?
- ¿Qué longitud aproximada tiene el genoma de *E. coli* en pares de bases? ¿Cuántos genes contiene?

11.2 Plásmidos: principios generales

Además del cromosoma, muchas células procariotas contienen otros elementos genéticos, sobre todo **plásmidos**. Los plásmidos son elementos genéticos que se replican independientemente del cromosoma del hospedador. A diferencia de los virus, los plásmidos no tienen forma extracelular y existen en el interior de las células como DNA libre y circular. Los plásmidos y los cromosomas se pueden diferenciar en que los plásmidos portan sólo genes no esenciales (aunque a menudo muy útiles). Los genes esenciales residen en los cromosomas. Literalmente se conocen miles de plásmidos diferentes. De hecho, sólo de cepas de *Escherichia coli* se han aislado más de 300 plásmidos naturales. En esta sección estudiaremos las propiedades de algunos de ellos.

Naturaleza física y replicación de los plásmidos

Casi todos los plásmidos conocidos están formados por DNA bicatenario. La mayoría de los plásmidos son circulares, pero también se conocen muchos plásmidos lineales. El tamaño de los plásmidos naturales varía desde aproximadamente 1 kbp hasta más de 1 Mbp. El plásmido típico es un DNA bicatenario circular que tiene menos del 5% del tamaño del cromosoma (**Figura 11.2**). La mayoría del DNA plasmídico aislado de las células está superenrollado, que es la forma más compacta que existe de DNA en el interior de la célula (Figura 7.8).

Las enzimas necesarias para replicar los plásmidos son las enzimas celulares normales. Por tanto, los genes que porta el plásmido están implicados principalmente en el control de la iniciación de la replicación y en el reparto de los plásmidos replicados entre las células hijas. También, los diferentes plásmidos están presentes en las células en cantidades diferentes; es lo que se llama *número de copias*. Algunos plásmidos están presentes en la célula en sólo de 1 a 3 copias, mientras otros pueden presentar más de 100 copias. El número de copia está controlado por genes del plásmido y por interacciones entre el hospedador y el plásmido.

www.medilibros.com

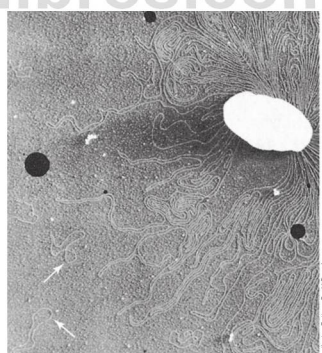


Figura 11.2 El cromosoma bacteriano y algunos plásmidos bacterianos vistos al microscopio electrónico. Los plásmidos (señalados con flechas) son las estructuras circulares, y son mucho más pequeños que el DNA cromosómico principal. La célula (la gran estructura blanca) se rompió con cuidado, de manera que el DNA ha quedado intacto.

La mayoría de los plásmidos de las bacterias gramnegativas se replican de un modo similar al ya descrito para el cromosoma (Sección 7.7). Esto implica la iniciación en un origen de replicación y la replicación bidireccional alrededor del círculo, con formación del intermediario theta (Figura 7.16). No obstante, algunos plásmidos presentan replicación unidireccional, con una sola horquilla de replicación. Debido al pequeño tamaño del DNA del plásmido respecto al del cromosoma, el plásmido se replica muy rápidamente, tal vez en un décimo del tiempo que emplea la célula en su ciclo de división.

La mayoría de los plásmidos de las bacterias grampositivas, y algunos de las bacterias gramnegativas y de las arqueas, se replican mediante un mecanismo del círculo rodante muy similar al utilizado por el fago ϕX174 (Sección 19.2 y Figura 19.4). Este mecanismo procede a través de un intermedio monocatenario. La mayoría de plásmidos se replican utilizando una proteína unida al extremo 5′ de cada cadena que actúa como cebador en la síntesis del DNA (Sección 8.7).

Incompatibilidad y curación de plásmidos

Algunas bacterias pueden contener varios tipos diferentes de plásmidos. Por ejemplo, *Borrelia burgdoferi* (el patógeno de la enfermedad de Lyme, Sección 35.4) contiene 17 plásmidos lineales y circulares diferentes. La capacidad de dos plásmidos diferentes para replicarse en la misma célula está controlada por genes de los plásmidos que regulan la replicación del DNA. Cuando un plásmido se transfiere a una célula que ya porta otro plásmido, es habitual observar que el segundo plásmido se pierde durante la siguiente replicación celular. Cuando esto ocurre, se dice que los dos plásmidos son *incompatibles*. Se han reconocido una serie de grupos incompatibles (Inc). Los plásmidos que pertenecen al mismo grupo Inc se excluyen entre sí para replicarse en la misma célula, pero pueden coexistir con plásmidos de otros grupos. Los plásmidos de un mismo grupo Inc comparten un mecanismo común de regulación de la replicación y, por tanto, están relacionados entre sí. Por tanto, aunque una célula bacteriana puede contener muchas clases de plásmidos, todos son genéticamente distintos.

Algunos plásmidos, llamados *episomas*, pueden integrarse en el cromosoma, y en estas condiciones su replicación pasa a estar bajo el control del cromosoma. La situación es notablemente similar a la de algunos virus cuyos genomas se pueden incorporar en el genoma del hospedador (los profagos, Sección 10.10).

En ocasiones, los plásmidos se pueden eliminar de la célula hospedadora mediante varios tratamientos. Esta eliminación, llamada *curación*, es el resultado de la inhibición de la replicación del plásmido sin la inhibición paralela de la replicación cromosómica. Como resultado de la división celular, el plásmido desaparece por dilución. La curación puede ocurrir de forma espontánea, pero se ve fuertemente ampliada por tratamientos con determinados productos químicos como colorantes de acridina, que se insertan en el DNA, u otros tratamientos que parecen interferir más con la replicación del plásmido que con la del cromosoma.

Transferencia intercelular de plásmidos

¿Cómo hacen los plásmidos para infectar nuevas células hospedadoras? Algunas células procariotas pueden tomar DNA libre del entorno (Sección 11.10). Por tanto, los plásmidos liberados por la muerte y lisis de sus hospedadoras anteriores (sea cual fuere la causa) pueden ser captados por una nueva célula hospedadora. Sin embargo, pocas especies bacterianas poseen esta habilidad, y es improbable que se produzca mucha transferencia de célula a célula de esta manera. El principal mecanismo de transferencia intercelular de plásmidos es la *conjugación*, una función codificada por algunos plásmidos. La conjugación implica el contacto entre las dos células y se explica en la Sección 11.12.

Los plásmidos que dirigen su propia transferencia mediante contacto entre células se llaman plásmidos *conjugativos*. No todos los plásmidos son conjugativos. La transferencia por conjugación está controlada por un grupo de genes del plásmido que forman la llamada región *tra* (de transferencia). La región *tra* contiene genes que codifican proteínas que funcionan en la transferencia y replicación del DNA y otros que se ocupan de la formación del par de apareamiento. La presencia de una región *tra* en un plásmido puede tener otra consecuencia importante si el plásmido acaba integrándose en el cromosoma. En ese caso, el plásmido puede movilizar el DNA cromosómico, que podría, entonces, ser transferido de una célula a otra. El uso de la conjugación para transferir genes del hospedador se explica con más detalle en la Sección 11.13.

Algunos plásmidos conjugativos de *Pseudomonas* tienen un amplio rango de hospedadores. Esto significa que son transferibles a una gran variedad de otras bacterias gramnegativas. Estos plásmidos pueden transferir genes entre organismos relacionados muy lejanamente. Se ha visto que los plásmidos conjugativos se transfieren entre bacterias gramnegativas y grampositivas, entre bacterias y células vegetales y entre bacterias y hongos. Incluso aunque el plásmido no pueda replicarse independientemente en el nuevo hospedador, la propia transferencia del plásmido podría tener importantes consecuencias evolutivas si los genes del plásmido recombinan con el genoma del nuevo hospedador.

11.2 Minirrevisión

Los plásmidos son pequeñas moléculas de DNA circular o lineal que portan genes no esenciales. Aunque una célula puede contener más de un plásmido, éstos no pueden estar estrechamente relacionados genéticamente entre sí. Los plásmidos no tienen forma extracelular, pero se pueden transferir mediante el proceso de conjugación.

- ¿Cómo puede diferenciarse un plásmido grande de un cromosoma pequeño?
- ¿Qué función tienen los genes *tra* del plásmido F?

11.3 Tipos de plásmidos y su significado biológico

Obviamente, todos los plásmidos deben portar genes que aseguren su propia replicación. Como ya hemos visto, algunos plásmidos, además, llevan genes necesarios para la conjugación. Aunque los plásmidos no tienen genes esenciales para el hospedador, pueden llevar algunos que tengan una profunda influencia en el fenotipo de éste.

En algunos casos, los plásmidos codifican propiedades fundamentales para la ecología de la bacteria. Por ejemplo, la capacidad de *Rhizobium* para interaccionar con plantas y formar nódulos radiculares fijadores de nitrógeno requiere determinadas funciones de los plásmidos (Sección 24.15). Otros plásmidos confieren propiedades metabólicas especiales a las células bacterianas, como la capacidad para degradar contaminantes tóxicos. De hecho, los plásmidos parecen ser uno de los mecanismos principales para conferir propiedades especiales a las bacterias y para movilizar estas propiedades por flujo genético horizontal. En la **Tabla 11.1** se resumen algunas de estas propiedades especiales conferidas a los procariotas por los plásmidos.

Plásmidos de resistencia

Entre los grupos de plásmidos más extendidos y mejor estudiados están los plásmidos de resistencia, a menudo llamados simplemente *plásmidos R*, que confieren resistencia a antibióticos y a otros inhibidores del crecimiento. Algunos genes de resistencia a antibióticos pueden ser transportados por un solo plásmido R o, alternativamente, una célula puede ser portadora de varios plásmidos R. En cualquier caso, el resultado es la resistencia múltiple. Los plásmidos R se descubrieron por primera vez en Japón en la década de 1950, en cepas de enterobacterias que habían adquirido resistencia a antibióticos y sulfamidas. Desde entonces, se han encontrado en todo el mundo. La emergencia de resistencia bacteriana a los antibióticos es de especial importancia médica y está relacionada con el creciente uso de antibióticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas (Sección 27.12). Poco después de que se aislaran estas cepas resistentes, se demostró que podían transferir la resistencia a cepas sensibles a través del contacto de célula a célula. La naturaleza infecciosa de los plásmidos R conjugativos permitió su rápida expansión a través de poblaciones celulares. En la actualidad, los plásmidos de resistencia son un problema grave en la medicina clínica.

Tabla 11.1 Ejemplos de fenotipos conferidos por plásmidos en procariotas

Clase fenotípica	*Organismos*[a]
Producción de antibióticos	*Streptomyces*
Conjugación	Amplio rango de bacterias
Funciones metabólicas	
Degradación de octano, alcanfor y naftaleno	*Pseudomonas*
Degradación de herbicidas	*Alcaligenes*
Formación de acetona y butanol	*Clostridium*
Utilización de lactosa, sacarosa, citrato o urea	Enterobacterias
Producción de pigmentos	*Erwinia, Staphylococcus*
Producción de vesículas de gas	Halobacterias
Resistencia	
Resistencia a antibióticos	Amplio rango de bacterias
Resistencia a metales tóxicos	Amplio rango de bacterias
Virulencia	
Producción de tumores en plantas	*Agrobacterium*
Nodulación y fijación simbiótica de nitrógeno	*Rhizobium*
Producción de bacteriocina y resistencia	Amplio rango de bacterias
Invasión de células animales	*Salmonella, Shigella, Yersinia*
Coagulasa, hemolisina, enterotoxina	*Staphylococcus*
Toxinas y cápsula	*Bacillus anthracis*
Enterotoxina, antígeno K	*Escherichia*

[a] Todos los organismos de esta lista son bacterias excepto las halobacterias que son miembros de *Archaea*.

En general, los genes de resistencia codifican proteínas que inactivan el antibiótico o bien protegen la célula por algún otro mecanismo. El plásmido R100, por ejemplo, es un plásmido de 94,3 kbp (**Figura 11.3**) que porta genes que codifican resistencia a las sulfamidas, a la estreptomicina, a la espectinomicina, al ácido fusídico, al cloranfenicol y a la tetraciclina; también contiene varios genes que confieren resistencia al mercurio. El plásmido R100 se puede transferir entre las enterobacterias de los géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* y *Shigella*, pero no se transfiere a las bacterias gramnegativas que no pertenecen al grupo entérico. Se conocen diferentes plásmidos R con genes para resistencia a la mayoría de los antibióticos. Muchos módulos de resistencia a fármacos en los plásmidos R, como los del R100, son también elementos transponibles (Sección 11.16) y esto, combinado con el hecho de que muchos de estos plásmidos son conjugativos, ha hecho de ellos una seria traba a la terapia tradicional con antibióticos.

Plásmidos que codifican toxinas y otras características de la virulencia

En el Capítulo 28 hablaremos de las características de los microorganismos patógenos que les permiten colonizar hospedadores y establecer infecciones. Aquí simplemente vamos a apuntar las dos características principales de la virulencia (la capacidad para causar enfermedades) de los patógenos: 1) la capacidad del patógeno para unirse y colonizar tejidos específicos del hospedador, y 2) la producción de sustancias (toxinas, enzimas y otras moléculas) que provocan daños en el hospedador.

En algunas bacterias patógenas, estas características de virulencia están codificadas por genes plasmídicos. Por ejemplo, las cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* se caracterizan por su capacidad para colonizar el intestino delgado y producir una toxina que causa diarrea.

www.medi

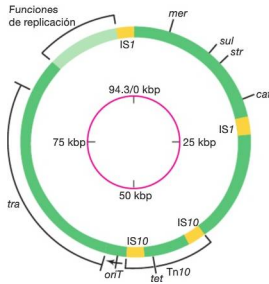


Figura 11.3 Mapa genético del plásmido de resistencia R100. El círculo interior muestra el tamaño del plásmido en pares de kilobases. El círculo exterior presenta la localización de los principales genes de resistencia a antibióticos y otras funciones fundamentales: *cat*, resistencia a cloranfenicol; *oriT* origen de la transferencia conjugativa; *mer*, resistencia al ión mercúrico; *sul*, resistencia a sulfamida; *str*, resistencia a estreptomicina; *tet*, resistencia a tetraciclina; *tra*, funciones de transferencia. La situación de las secuencias de inserción (IS) y el transposón Tn 10 también se muestran. Algunos genes relacionados con la replicación del plásmido se encuentran en la región comprendida entre las 88 y las 92 kbp.

La colonización requiere la presencia de una proteína de la superficie celular llamada *factor antigénico de colonización*, codificada por un plásmido. Esta proteína confiere a las células bacterianas la capacidad para unirse a las células epiteliales del intestino. Se conocen al menos dos toxinas de la *E. coli* enteropatógena que están codificadas por plásmidos: la hemolisina, que lisa los eritrocitos, y la enterotoxina, que induce la secreción extensiva de agua y sales al intestino. Es esta enterotoxina la responsable de la diarrea (Sección 28.11).

Algunos factores de la virulencia están codificados por plásmidos; otros son codificados por elementos genéticos móviles, como los transposones y los bacteriófagos. Algunos factores de virulencia son cromosómicos. También se conocen algunos ejemplos en los que hay múltiples genes de virulencia presentes en diferentes elementos genéticos dentro de la misma célula. Por ejemplo, los genes que codifican los determinantes de la virulencia de las cepas de *E. coli* productoras de shigatoxina (Sección 37.8) están distribuidas entre el cromosoma, un bacteriófago y un plásmido.

Bacteriocinas

Muchas bacterias producen proteínas que inhiben o matan especies estrechamente relacionadas con ellas o incluso cepas diferentes de la misma especie. Estos agentes, llamados *bacteriocinas* para distinguirlos de los antibióticos, tienen un espectro más estrecho de actividad que los antibióticos. Los genes que codifican bacteriocinas y las proteínas necesarias para procesarlas y transportarlas (y para conferir inmunidad al organismo que las produce) están generalmente en un plásmido o en un transposón. Las bacterias se nombran a menudo por la especie del organismo que las produce. Así, *E. coli* produce *colicinas*; *Yersinia pestis* produce *pesticinas*, etc.

Los plásmidos Col de *E. coli* codifican varias colicinas. Los plásmidos Col pueden ser conjugativos o no conjugativos. Las colicinas liberadas por la célula productora se unen a receptores específicos en la superficie de las células susceptibles. Los receptores de las colicinas son proteínas cuya función normal es transportar alguna sustancia, generalmente un factor de crecimiento o un micronutriente, a través de la membrana externa de la célula. Las colicinas matan las células interfiriendo en alguna función fundamental. Por ejemplo, muchas colicinas forman canales en la membrana celular que permiten la salida de iones potasio y de protones, lo que conduce a una pérdida de la capacidad de la célula para generar energía. Otro gran grupo de colicinas son nucleasas y degradan el DNA o el RNA. Por ejemplo, la colicina E2 es una endonucleasa que puede cortar DNA y la colicina E3 es una ribonucleasa que corta una secuencia específica en el rRNA 16S y, por tanto, inactiva los ribosomas.

Las bacteriocinas o agentes similares a las bacteriocinas de las bacterias grampositivas son bastante diferentes de las colicinas, pero a menudo también están codificadas por plásmidos; algunas incluso tienen valor comercial. Por ejemplo, las bacterias del ácido láctico producen la bacteriocina Nisina A, que inhibe con fuerza el crecimiento de una amplia gama de bacterias grampositivas y se utiliza como conservante en la industria alimentaria.

Plásmidos construidos por ingeniería genética

Los plásmidos se han utilizado extensamente en ingeniería genética. De hecho, se han construido incontables plásmidos nuevos en el laboratorio. En ellos se han incorporado genes de una gran variedad de fuentes, lo que permite su transferencia superando la barrera de las especies. Los únicos requisitos para los plásmidos artificiales es que contengan los genes que controlan su propia replicación y se puedan mantener estables en el hospedador elegido. Analizaremos este tema con más detalle en el Capítulo 12.

11.3 Minirrevisión

La información genética que contienen los plásmidos no es esencial para el funcionamiento de las células en todas las condiciones, pero en determinadas circunstancias pueden conferir una ventaja de crecimiento selectivo. Entre los ejemplos se incluyen la resistencia a antibióticos, las enzimas para la

degradación de compuestos orgánicos poco habituales y rutas metabólicas especiales. Los factores de virulencia de muchas bacterias patógenas están codificados por plásmidos.

- ¿En qué se diferencia un plásmido R de un plásmido F? ¿En qué se parecen?
- ¿En qué se diferencian las bacteriocinas de los antibióticos?

II MUTACIÓN

Todos los organismos contienen una secuencia específica de bases nucleotídicas en su genoma, su información genética. Una **mutación** es una modificación heredable en la secuencia de bases del genoma. Las mutaciones pueden llevar a cambios —algunos buenos y otros malos— en un organismo. Las alteraciones genéticas también se pueden producir por recombinación (Sección 11.9), el intercambio físico de DNA entre elementos genéticos. La recombinación crea nuevas combinaciones de genes incluso en ausencia de mutaciones. Mientras que la mutación sólo supone un pequeño cambio genético en la célula, la recombinación genética genera normalmente cambios mucho más grandes. Genes completos, grupos de genes o incluso segmentos más grandes de DNA se pueden transferir entre cromosomas u otros elementos genéticos. Tomadas en conjunto, la mutación y la recombinación son las impulsoras del proceso evolutivo.

A diferencia de la mayoría de eucariotas, los procariotas no se reproducen sexualmente. No obstante, los procariotas poseen mecanismos de transferencia horizontal que permiten la transferencia génica y la recombinación. Para detectar un intercambio genético entre dos procariotas es, pues, necesario utilizar marcadores genéticos cuya transferencia pueda ser detectada. El término «marcador» hace referencia a cualquier gen cuya presencia pueda ser monitorizada durante un experimento genético. Si es posible, se eligen marcadores relativamente fáciles de detectar. En los experimentos de transferencia génica se utilizan cepas alteradas genéticamente en las que las alteraciones son debidas a una o más mutaciones en su DNA. Estas mutaciones pueden implicar cambios en sólo uno o unos pocos pares de bases o pueden consistir incluso en la inserción o deleción de genes enteros. Por lo tanto, antes de analizar el intercambio genético vamos a estudiar el mecanismo molecular de las mutaciones y las propiedades de los microorganismos mutantes.

11.4 Mutaciones y mutantes

Como se ha dicho anteriormente, una mutación es un cambio heredable en la secuencia de bases del ácido nucleico en el genoma de un organismo (o un virus u otro elemento genético). En todas las células, el genoma está formado por DNA de doble cadena (Sección 7.1). En los virus, sin embargo, el genoma puede consistir en DNA o RNA mono o bicatenario. Una cepa de cualquier célula o virus portadores de un cambio en su secuencia nucleotídica se denomina mutante. Por definición, un **mutante** difiere de su cepa progenitora en el **genotipo**, la secuencia nucleotídica del genoma. Pero además, las propiedades observables del mutante —su **fenotipo**— también pueden verse alteradas respecto a la cepa progenitora. Este fenotipo alterado recibe el nombre de *fenotipo mutante*. Es habitual referirse a una cepa aislada de la naturaleza con el término **cepa salvaje**. Los derivados mutantes se pueden obtener directamente de las cepas salvajes o de otras cepas previamente derivadas del tipo salvaje, como por ejemplo otro mutante.

Genotipo frente a fenotipo

Según el tipo de mutación, el fenotipo de una cepa mutante puede diferir o no del de su progenitor. Por convenio, en genética bacteriana el genotipo de un organismo se designa por tres letras en minúscula seguidas por una mayúscula (todo en cursiva) que indican un gen en concreto. Por ejemplo, el gen *hisC* de *Escherichia coli* codifica una proteína llamada HisC que participa en la biosíntesis del aminoácido histidina. Las mutaciones en el gen *hisC* se designarán como *hisC1*, *hisC2*, etc, donde los números se refieren al orden en que se aíslan las cepas mutantes. Cada mutación de *hisC* será diferente, y cada una afectará a la proteína HisC de forma distinta.

El fenotipo de un organismo se designa con una mayúscula seguida por dos minúsculas, con un superíndice con el signo más o el signo menos para indicar la presencia o la ausencia de dicha propiedad. Así, una cepa His^+ de *E. coli* es capaz de sintetizar su propia histidina, mientras que una His^- no lo es. La cepa His^- necesitará un suplemento de histidina para crecer. Volviendo a nuestro ejemplo anterior, cualquier mutación en el gen *hisC* puede producir un fenotipo His^- si elimina la función de la proteína HisC.

Aislamiento de mutantes: rastreo frente a selección

Prácticamente cualquier característica de un organismo puede ser modificada mediante mutación. Sin embargo, algunas mutaciones son seleccionables, y confieren algún tipo de ventaja a los organismos que las poseen, mientras que otras son no seleccionables, incluso aunque pudieran llevar a un cambio muy claro en el fenotipo de un organismo. Una mutación seleccionable supone una clara ventaja para la cepa mutante en determinadas condiciones ambientales, de modo que la progenie de una célula mutante será capaz de superar y sustituir al progenitor. Un buen ejemplo de mutación seleccionable es la resistencia a los fármacos: un mutante resistente a los antibióticos puede crecer en presencia de concentraciones de antibiótico que inhiben o matan a los progenitores (**Fi-**

gura 11.4*a*) y por tanto será seleccionada en esas condiciones. Es relativamente fácil detectar y aislar mutantes seleccionables escogiendo las condiciones ambientales adecuadas. Así, la **selección** es una herramienta genética extremadamente potente, ya que permite el aislamiento de un solo mutante de una población de millones o incluso miles de millones de organismos progenitores.

Un ejemplo de mutación no seleccionable es la pérdida de color de un organismo pigmentado (Figura 11.4*b*). Las células no pigmentadas normalmente no suponen ni una ventaja ni una desventaja sobre las células progenitoras cuando crecen en placas de agar, aunque los organismos pigmentados podrían tener una ventaja selectiva en la naturaleza. Podemos detectar estas mutaciones sólo mediante el examen de gran número de colonias y buscando las «diferentes», un proceso llamado **rastreo** (*screening*).

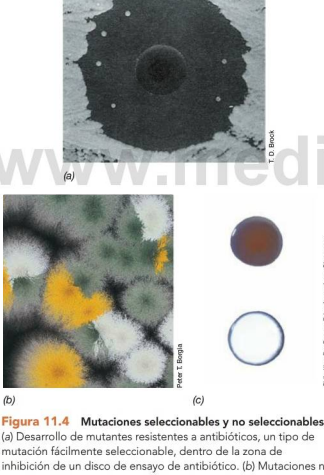


Figura 11.4 **Mutaciones seleccionables y no seleccionables.** (*a*) Desarrollo de mutantes resistentes a antibióticos, un tipo de mutación fácilmente seleccionable, dentro de la zona de inhibición de un disco de ensayo de antibiótico. (*b*) Mutaciones no seleccionables. Mutantes espontáneos pigmentados y no pigmentados del hongo *Aspergillus nidulans*. El tipo salvaje contiene un pigmento verde; los mutantes blancos o incoloros no sintetizan pigmento, mientras que los mutantes amarillos no pueden convertir el pigmento amarillo precursor del color normal (verde). (*c*) Colonias de mutantes de una especie de *Halobacterium*, un miembro de las arqueas. Las colonias de tipo salvaje son blancas. Las colonias marrones anaranjadas son mutantes que carecen de vesículas de gas (Sección 4.11). Las vesículas de gas dispersan la luz y enmascaran el color de la colonia.

Aislamiento de auxótrofos nutricionales y selección por penicilina

Aunque el rastreo es siempre más tedioso que la selección, existen métodos para cribar grandes cantidades de colonias en busca de determinados tipos de mutaciones. Por ejemplo, los mutantes nutricionales defectivos pueden ser detectados mediante la técnica de *réplica en placa* (**Figura 11.5**). Con ayuda de un trozo de terciopelo estéril o de papel de filtro se hace una réplica de las colonias de una placa madre en otra placa con agar pero sin el nutriente. Las colonias progenitoras crecerán con normalidad, y las colonias mutantes, no. Así, la incapacidad de una colonia para crecer en la placa de réplica que contiene el medio mínimo indica que se trata de una colonia mutante (Figura 11.5). La colonia de la placa madre correspondiente a la mancha ausente en la placa de réplica se puede coger, purificar y caracterizar. Un mutante con una necesidad nutricional para el crecimiento se llama **auxótrofo**, y el progenitor del que deriva recibe el nombre de *protótrofo*. (Un protótrofo no tiene por qué ser necesariamente del tipo salvaje. Un auxótrofo puede derivar del tipo salvaje o de un mutante derivado del tipo salvaje.) Por ejemplo, los mutantes de *Escherichia coli* con fenotipo His^- son auxótrofos de histidina. Aunque es de gran utilidad, el método de réplica en placa no deja de ser un rastreo, y puede ser laborioso aislar mutantes mediante esta técnica.

Un método ingenioso ampliamente utilizado para aislar auxótrofos es el método de selección por penicilina. Normalmente, los mutantes que requieren nutrientes específicos están en desventaja respecto de las células progenitoras, de modo que no hay manera directa de aislarlos. Por ejemplo, los mutantes de histidina son raros en un cultivo mutado, y podría llevar mucho tiempo obtenerlos por el método de réplica en placa. Sin embargo, se puede utilizar la selección por penicilina para enriquecer una población de células mutadas en mutantes His^-, después de lo cual, la réplica en placa puede resultar mucho más eficaz. ¿Cómo funciona la selección por penicilina?

La penicilina es un antibiótico que mata sólo las células en crecimiento. Si se añade penicilina a una población de células en un medio que carece del nutriente necesario para el mutante de interés, las células progenitoras morirán, mientras que las células mutantes, que no están creciendo, no se verán afectadas. Así, tras una incubación preliminar en ausencia del nutriente en un medio con penicilina, la población se lava para eliminar la penicilina y se transfiere a placas que contienen el nutriente. Las colonias que aparezcan incluirán algunas células de tipo salvaje que hayan escapado a la acción de la penicilina, pero también habrá algunas del mutante de interés. Por tanto, la selección por penicilina es una clase de selección negativa; la selección no es *para* el mutante, sino *contra* el tipo progenitor. La selección por penicilina se usa a

www.medil

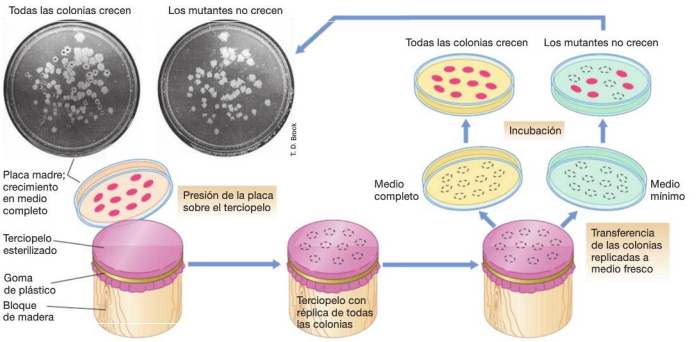


Figura 11.5 **Rastreo de auxótrofos nutricionales.** El método de réplica en placa se puede utilizar para la detección de mutantes nutricionales. La fotografía de la izquierda muestra la placa madre. Las colonias que no aparecen en la placa de réplica están marcadas con una X. La placa de réplica (a la derecha) carece de un nutriente (leucina), presente en la placa madre. Por tanto, las colonias marcadas con una X en la placa madre son auxótrofos de leucina.

www.medilibros.com

menudo como preliminar a la réplica en placa para aumentar las posibilidades de obtener mutantes auxótrofos.

En la **Tabla 11.2** se han reunido ejemplos de clases habituales de mutantes y los medios por los que son detectados. **www.microbiologyplace.com. Tutorial online 11.1: Réplica en placa.**

11.4 Minirrevisión

Una mutación es un cambio heredable en la secuencia del DNA que puede provocar un cambio en el fenotipo. Las mutaciones seleccionables son aquéllas que dan al mutante una ventaja selectiva en determinadas

Tabla 11.2 **Clases de mutantes**

Fenotipo	*Naturaleza del cambio*	*Detección del mutante*
Auxótrofo	Pérdida de enzimas de una ruta biosintética	Incapacidad para crecer en medio que carece del nutriente
Sensible al calor	Alteración de una proteína esencial, que lo convierte en más sensible al calor	Incapacidad para crecer a temperaturas altas (por ejemplo, a 40 °C) que normalmente promueven el crecimiento
Sensible al frío	Alteración de una proteína esencial de manera que se inactiva a bajas temperaturas	Incapacidad para crecer a bajas temperaturas (por ejemplo, 20 °C) que normalmente promueven el crecimiento
Resistente a fármacos	Detoxificación de fármacos, alteración de la diana del fármaco o permeabilidad al fármaco	Crecimiento en medios con fármacos en una concentración normalmente inhibidora
Colonia rugosa	Pérdida o modificación de la capa de lipopolisacáridos	Colonias granulares e irregulares en lugar de lisas y brillantes
No encapsulado	Pérdida o modificación de la cápsula superficial	Colonias pequeñas y rugosas en lugar de colonias más grandes y lisas
Inmóvil	Pérdida de flagelos o flagelos no funcionales	Colonias compactas en lugar de planas y esparcidas
Sin pigmentación	Pérdida de enzimas de una ruta biosintética que lleva a la pérdida de uno o más pigmentos	Presencia de un color diferente o ausencia de color
Fermentación de azúcares	Pérdida de enzimas de la ruta degradativa	Ausencia de cambio de color en el agar con azúcar y un indicador de pH
Resistencia a virus	Pérdida del receptor del virus	Crecimiento en presencia de gran cantidad de virus

condiciones ambientales, y son especialmente útiles en investigación genética. Si la selección no es posible, los mutantes pueden identificarse por rastreo.

- Distinga entre las palabras «mutación» y «mutante».
- Distinga entre las palabras «rastreo» y «selección».

11.5 Bases moleculares de la mutación

Las mutaciones pueden ser espontáneas o inducidas. Las **mutaciones inducidas** son aquéllas que se realizan deliberadamente. Por otra parte, las **mutaciones espontáneas** son las que ocurren sin intervención humana. Pueden ser el resultado de la exposición a la radiación natural (los rayos cósmicos, etc.) que altera la estructura de las bases en el DNA. También, los radicales de oxígeno (Sección 6.18) pueden afectar a la estructura del DNA por modificación química de éste. Por ejemplo, los radicales de oxígeno pueden convertir la guanina en 8-hidroxiguanina, lo que causa mutaciones espontáneas. No obstante, la mayor parte de las mutaciones espontáneas se produce por errores en el apareamiento de las bases durante la replicación del DNA.

Las mutaciones que sólo cambian un par de bases se llaman **mutaciones puntuales**, y son causadas por sustituciones en el DNA o por pérdida o ganancia de un par de bases. Como sucede con todas las mutaciones, el cambio fenotípico provocado por una mutación puntual depende de dónde se produce exactamente la mutación en el gen, qué nucleótido se modifica y qué producto codifica ese gen.

Sustituciones de pares de bases

Si una mutación puntual se produce en la región codificante de un gen que codifica un polipéptido, cualquier cambio en el fenotipo de la célula se debe, casi con seguridad, al cambio en la secuencia aminoacídica del polipéptido. El error en el DNA es transcrito al mRNA, y el mRNA erróneo, a su vez, se traduce para dar un polipéptido. En la **Figura 11.6** se muestran las consecuencias de varias sustituciones de pares de bases.

Para interpretar los resultados de una mutación, debemos recordar que el código genético es degenerado (Sección 7.13 y Tabla 7.4). A causa de esta degeneración, no todas las mutaciones de la secuencia de bases que codifica un polipéptido cambiarán dicho polipéptido. Esto se puede ver en la Figura 11.6, que muestra diversos resultados cuando muta el DNA que codifica un solo codón tirosina en un polipéptido. En primer lugar, un cambio en el RNA de UAC a UA*U* no tendría ningún efecto aparente, porque UAU también es un codón tirosina. Aunque no afecten a la secuencia del polipéptido codificado, estos cambios en el DNA también son mutaciones. Constituyen un tipo de mutación llamada **silenciosa** porque es

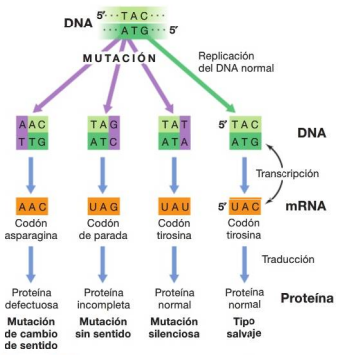


Figura 11.6 Posibles efectos de la sustitución de pares de bases en un gen que codifica una proteína. Hay tres productos diferentes posibles a partir de los cambios en un solo codón en el DNA.

una mutación que no afecta al fenotipo de la célula. Obsérvese que las mutaciones silenciosas en las regiones codificantes casi siempre son en la tercera base del codón (la arginina y la leucina también pueden tener mutaciones silenciosas en la primera posición).

Los cambios en la primera o la segunda base del triplete conducen con más frecuencia a cambios significativos en el polipéptido. Por ejemplo, un cambio en una sola base, de *U*AC a *A*AC (Figura 11.6) provoca un cambio de aminoácido en el polipéptido de tirosina a asparagina en un sitio específico. Esto se denomina **mutación de cambio de sentido**, porque el «sentido informativo» (secuencia precisa de aminoácidos) en el polipéptido resultante ha cambiado. Si el cambio se produce en una ubicación crítica en la cadena polipeptídica, la proteína podría ser inactiva o tener una actividad reducida. No obstante, no todas las mutaciones de cambio de sentido conducen necesariamente a proteínas no funcionales. El resultado depende de dónde se produce la sustitución en la cadena polipeptídica y cómo afecta al plegamiento y a la actividad de la proteína. Por ejemplo, es más probable que las mutaciones en el centro activo de una enzima destruyan su actividad que lo hagan las mutaciones en otras regiones de la proteína.

Otro resultado posible de la sustitución de un par de bases es la formación de un codón sin sentido (de parada), que provoca la terminación prematura de la traducción y, por tanto, la síntesis de un polipéptido incompleto que, casi con toda probabilidad, no será funcional (Figura 11.6). Las mutaciones de este tipo reciben

www.elibros.com

el nombre de **mutaciones sin sentido**, porque el cambio es de un codón para un aminoácido (codón con sentido) a un codón sin sentido (Tabla 7.4). A menos que la mutación sin sentido esté muy cerca del final del gen, el producto incompleto será completamente inactivo.

Los términos «transición» y «transversión» se utilizan para describir el tipo de sustitución de base en una mutación puntual. Las **transiciones** son mutaciones en las que una purina (A o G) es sustituida por otra purina, o una pirimidina (C o G) es sustituida por otra pirimidina. Las **transversiones** son mutaciones puntuales en las que una purina se sustituye con una pirimidina o viceversa.

Mutaciones de cambio de fase y otras inserciones o deleciones

Como el código genético se lee desde un extremo del ácido nucleico en bloques consecutivos de tres bases (es decir, como codones), cualquier deleción o inserción de un solo par de bases provoca un desplazamiento de la pauta de lectura. Estas mutaciones de desplazamiento pueden tener graves consecuencias. Las inserciones o deleciones de una sola base alteran la secuencia primaria del polipéptido codificado, generalmente de una manera significativa (**Figura 11.7**). Estas microinserciones o microdeleciones pueden ser el resultado de errores en la replicación. La inserción o deleción de dos pares de bases también causa cambio de fase; sin embargo, si se trata de tres pares de bases, se añade o se elimina un codón entero. Esto provoca la adición o deleción de un solo aminoácido en la secuencia polipeptídica. Aunque puede resultar perjudicial para la funcionalidad de la proteína, generalmente no es tan malo como el desplazamiento de la pauta, que altera toda la secuencia polipeptídica con la mutación en un solo punto.

Las inserciones y las deleciones también pueden provocar la ganancia o la pérdida de incluso miles de pares de bases. Estos cambios, inevitablemente, conllevan la pérdida completa de funcionalidad del gen. Algunas deleciones son tan grandes que pueden incluir varios genes y, si alguno de los genes delecionados es esencial, la mutación será letal. Estas deleciones no pueden restaurarse mediante mutaciones posteriores; tan sólo mediante recombinación genética. De hecho, un modo de distinguir las deleciones grandes de las mutaciones puntuales es que las últimas son reversibles mediante ulteriores mutaciones, y las primeras no. Las grandes inserciones y deleciones pueden estar causadas por errores durante la recombinación genética. Además, muchas mutaciones por inserción son debidas a la inserción de secuencias de DNA identificables específicas, de entre 700 y 1.400 bp de longitud, llamadas *secuencias de inserción*, un tipo de elemento transponible (Sección 11.16). El efecto de los elementos transponibles en la evolución de los genomas bacterianos se explica con más detalle en la Sección 13.10.

Otros tipos de mutaciones a gran escala son las reordenaciones llevadas a cabo por errores en la recombinación. Entre ellas se encuentran las translocaciones, en las que una gran sección del DNA cromosómico se desplaza a una nueva ubicación (y, en eucariotas, a menudo a un cromosoma diferente), y las inversiones, en las que la orientación de un segmento concreto del DNA cambia respecto al DNA circundante. **www.microbiologyplace.com**. **Tutorial online 11.2: Bases moleculares de las mutaciones.**

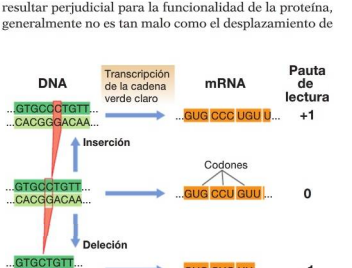


Figura 11.7 Desplazamientos en la pauta de lectura del mRNA causados por inserciones o deleciones. La pauta de lectura del mRNA es establecida por el ribosoma que empieza en el extremo 5′ (hacia la izquierda en la figura) y procede por unidades de tres bases (codones, Sección 7.13). La pauta de lectura normal está indicada como pauta 0, la que tiene una base menos se indica como −1, y la que tiene una base más es la pauta +1. Para determinar los efectos de un desplazamiento en la pauta de lectura, traduzca los codones con ayuda de la Tabla 7.4.

Mutagénesis dirigida y transposones

Las mutaciones que hemos visto hasta el momento se realizan al azar, es decir, no están dirigidas a ningún gen en particular. Sin embargo, la tecnología del DNA recombinante y el uso de DNA sintético hacen posible inducir mutaciones específicas en genes específicos. Los procedimientos para llevar a cabo mutagénesis en secuencias específicas del genoma se llaman *mutagénesis dirigida*, y se explican en el Capítulo 12. También se pueden introducir mutaciones deliberadamente mediante mutagénesis por transposón (Sección 11.16). Si un elemento transponible se inserta en un gen, generalmente el resultado es la pérdida de funcionalidad del gen. Como los elementos transponibles pueden insertarse en varias ubicaciones en el cromosoma, los transposones son ampliamente utilizados para generar mutaciones.

Retromutaciones o reversiones

Las mutaciones puntuales son, normalmente, **reversibles**, mediante un proceso conocido como reversión. Un revertiente es una cepa en la que se restablece el fenotipo original que había cambiado en el mutante. Los revertientes pueden ser de dos tipos: en los revertientes de un mismo sitio, la mutación que restaura la actividad se pro-

duce en el mismo sitio que la mutación original. Si la retromutación no sólo es en el mismo sitio, sino que además restablece la secuencia original, la cepa se denomina *revertiente verdadero*.

En los revertientes de segundo sitio, la mutación se produce en un sitio diferente en el DNA. Las mutaciones de segundo sitio pueden causar restauración de un fenotipo salvaje si funcionan como mutaciones supresoras —mutaciones que compensan el efecto de la mutación original y restablecen el fenotipo original—. Se conocen varios tipos de mutaciones supresoras: 1) una mutación en algún lugar del mismo gen que restaura la función enzimática, como por ejemplo un desplazamiento de la pauta de lectura cerca del primero que restaure la pauta de lectura original; 2) una mutación en otro gen que restablezca la función original del gen mutado; 3) una mutación en otro gen cuyo resultado es la producción de una enzima que sustituya la enzima mutada.

Una subclase interesante de mutaciones supresoras es la constituida por alteraciones en el tRNA. Las mutaciones sin sentido pueden ser suprimidas por modificación de la secuencia del anticodón de una molécula de tRNA, de modo que reconozca un codón de parada. El tRNA así modificado se conoce como tRNA supresor, e introducirá su aminoácido correspondiente en el codón de parada, que ahora puede leer. Las mutaciones de tRNA supresor serán letales a menos que la célula disponga de más de un tRNA para un codón en particular. En ese caso, un tRNA puede ser mutado a un supresor, y el otro realiza la función original. La mayoría de células tienen múltiples tRNA, de manera que las mutaciones supresoras por tRNA son relativamente habituales, al menos en los microorganismos. En ocasiones, el aminoácido insertado por el tRNA supresor es idéntico al aminoácido original, y la proteína es restaurada completamente. En otros casos, se inserta un aminoácido diferente y se puede producir una proteína parcialmente activa.

A diferencia de las mutaciones puntuales, las deleciones a gran escala no revierten. Por el contrario, las inserciones a gran escala pueden revertir como resultado de una deleción posterior que elimine la inserción. Normalmente, las mutaciones por desplazamiento de la pauta de lectura de cualquier magnitud son difíciles de restaurar al tipo salvaje, y los mutantes portadores de dicha mutación son bastante estables genéticamente. Por esta razón, los genéticos los utilizan con frecuencia en los cruzamientos genéticos para evitar la reversión accidental de las cepas mutantes durante el transcurso de un estudio genético.

11.5 Minirrevisión

Las mutaciones, que pueden ser espontáneas o inducidas, surgen por cambios en la secuencia de bases del ácido nucleico del genoma de un organismo. Una mutación puntual, debida al cambio en un solo par de bases, puede llevar al cambio de un solo aminoácido en el polipéptido, o a que no se produzca ningún cambio, según el codón en particular. En una mutación sin sentido, el codón se convierte en un codón de parada y se sintetiza un polipéptido incompleto. Las deleciones e inserciones provocan cambios más drásticos en el DNA, incluyendo las mutaciones por desplazamiento en la pauta de lectura que, a menudo, tienen como resultado la pérdida completa de funcionalidad del gen.

- ¿Qué significa que las mutaciones puntuales pueden revertir espontáneamente?
- ¿Las mutaciones de cambio de sentido se producen en los genes que codifican tRNA? ¿Por qué o por qué no?

11.6 Tasas de mutación

Las tasas a las que se producen los diferentes tipos de mutación varían ampliamente. Algunos tipos de mutación ocurren tan raramente que es casi imposible detectarlos, mientras otros son tan frecuentes que presentan dificultades para los investigadores que tratan de mantener un cultivo stock genéticamente estable. Además, todos los organismos poseen sistemas de reparación del DNA; en consecuencia, la tasa de mutación observada depende no sólo de la frecuencia de alteraciones del DNA, sino también de la eficiencia de la reparación.

Frecuencias de mutaciones espontáneas

Para la mayoría de los microorganismos, los errores en la replicación del DNA se producen a una frecuencia de entre 10^{-6} y 10^{-7} por par de kilobases durante un solo ciclo de replicación. Un gen típico tiene unos 1.000 pares de bases, de modo que la frecuencia de una mutación *en un gen determinado* estará también en el rango de 10^{-6} a 10^{-7} por generación. Por ejemplo, en un cultivo bacteriano con 10^8 células/mL, es probable que haya diferentes mutantes para cada gen en cada mililitro de cultivo. Los organismos superiores con genomas muy grandes tienden a tasas de error en la replicación unas diez veces menores que las de las bacterias típicas, mientras los virus de DNA, especialmente los que tienen genomas muy pequeños, pueden tener tasas de error entre 100 y 1.000 veces más altas que las de los organismos celulares, y los virus de RNA tienen tasas de error aún más altas.

Es mucho más probable que los errores de una sola base durante la replicación del DNA provoquen mutaciones de cambio de sentido que mutaciones sin sentido, porque la mayoría de las sustituciones de una sola base generan codones que codifican otros aminoácidos (Tabla 7.4). El siguiente tipo más frecuente de cambio de codón causado por el cambio de una sola base provoca una mutación silenciosa. Esto es así porque la ma-

yor parte de codones alternativos para un aminoácido determinado difieren entre sí en una sola base en la tercera posición «silenciosa» (Tabla 7.4). Un codón determinado puede transformarse en cualquiera de otros 27 por sustitución de una sola base y, de media, dos de estos cambios serán mutaciones silenciosas, una será una mutación sin sentido y el resto serán mutaciones de cambio de sentido. También hay algunas secuencias de DNA, normalmente áreas con repeticiones cortas, que son puntos calientes para las mutaciones, porque la frecuencia de error de la DNA-polimerasa es relativamente alta allí. La tasa de error en un punto caliente está influida por la secuencia de bases de alrededor.

A menos que una mutación se pueda seleccionar, es difícil detectarla experimentalmente, y gran parte de las técnicas empleadas por los genéticos microbianos implican aumentar la eficiacia de la detección de mutaciones. Como veremos en la próxima sección, es posible aumentar la tasa de mutación de manera significativa mediante tratamientos mutagénicos. Además, la tasa de mutación puede cambiar en determinadas situaciones, como por ejemplo en condiciones de alto estrés.

Mutaciones en los genomas de RNA

Todas las células tienen DNA como material genético, pero algunos virus tienen genomas de RNA (Sección 10.1). Estos genomas también pueden sufrir mutaciones. De hecho, la tasa de mutación en los genomas de RNA es unas 1.000 veces más alta que la de los genomas de DNA. ¿A qué es debido esto?

Algunas RNA-polimerasas tienen actividades de corrección de errores como las de las DNA-polimerasas (Sección 7.8), lo que limita el número total de errores de la actividad polimerasa. No obstante, aunque hay varios mecanismos de reparación para el DNA que pueden corregir los cambios antes de que se fijen en el genoma como mutaciones (Sección 11.7), no existe ningún mecanismo comparable de reparación de RNA. Esto lleva a unas tasas de mutación más altas para los genomas de RNA, que tienen consecuencias trágicas. Por ejemplo, los genomas de RNA de los virus que causan enfermedades pueden mutar muy rápidamente, por lo que presentan una población en constante cambio y evolución. Estos cambios son uno de los muchos obstáculos a los que se enfrenta la medicina humana en su lucha frente al virus del SIDA, el VIH, un virus de RNA con una capacidad notoria para realizar cambios genéticos que afectan a su virulencia (Sección 19.15).

11.6 Minirrevisión

Las diferentes clases de mutaciones se producen a frecuencias diferentes. Para una bacteria típica se encuentran normalmente tasas de mutación de entre 10^{-6} y 10^{-9} por par de kilobases. Aunque las DNA-polimerasas y las RNA-polimerasas cometen errores aproximadamente con la misma frecuencia, los genomas de RNA acumulan mutaciones a tasas mucho más altas que los genomas de DNA.

- ¿Qué tipo de mutación, la de cambio de sentido o la sin sentido, es más habitual? ¿Por qué?
- ¿Por qué los virus de RNA son tan variables genéticamente?

11.7 Mutagénesis

La tasa de mutación espontánea es muy baja, pero hay toda una serie de agentes químicos, físicos y biológicos que pueden incrementarla y que, por tanto, se dice que inducen las mutaciones. Estos agentes reciben el nombre de mutágenos. A continuación hablaremos de algunas de las categorías principales de **mutágenos** y de sus actividades.

Mutágenos químicos

En la **Tabla 11.3** se da una visión general de los principales mutágenos químicos y sus modos de acción. Existen varias clases de mutágenos químicos. Una clase la constituyen los *análogos de bases nucleotídicas*, moléculas que se parecen a las bases purínicas y pirimidínicas del DNA en cuanto a estructura, pero presentan propiedades de apareamiento diferentes (**Figura 11.8**). Si uno de estos análogos de bases se incorpora al DNA en lugar de la base natural, el DNA se puede replicar normalmente la mayoría del tiempo; sin embargo, se producirán errores de replicación con mayor frecuencia en este sitio, a causa del apareamiento incorrecto de las bases. El resultado es la incorporación de una base errónea en la nueva cadena del DNA y, por tanto, la introducción de una mutación. Durante la correspondiente segregación de esta cadena en la división celular, se pondrá de manifiesto la mutación.

Otros mutágenos químicos inducen *modificaciones químicas* en una base u otra, y provocan errores en el apareamiento o cambios relacionados (Tabla 11.3). Por ejemplo, los agentes alquilantes (sustancias químicas que reaccionan con los grupos amino, carboxilo e hidroxilo en las proteínas y los ácidos nucleicos y los sustituyen por grupos alquilo) como la nitrosoguanidina, son poderosos mutágenos y generalmente inducen mutaciones a frecuencias más altas que los análogos de bases.

A diferencia de los análogos de bases, que ejercen su efecto sólo cuando se incorporan durante la replicación del DNA, los agentes alquilantes pueden introducir cambios incluso en DNA que no se está replicando. Tanto los análogos de bases como los agentes alquilantes tienden a inducir sustitución de pares de bases (Sección 11.5).

Otro grupo de mutágenos químicos, las acridinas, son moléculas planas que funcionan como *agentes intercalantes*. Estos mutágenos se insertan entre dos pares de bases de DNA y en el proceso las separan. Durante la replicación, esta conformación anómala puede provocar inser-

Tabla 11.3 Mutágenos químicos y físicos y sus modos de acción

Agente	*Acción*	*Resultado*
Análogos de base		
5-Bromouracilo	Incorporado como T; error ocasional en el apareamiento con GG	AT → GC y en ocasiones GC → AT
2-Aminopurina	Incorporado como A; error en el apareamiento con CC	AT → GC y en ocasiones GC → AT
Sustancias químicas que reaccionan con el DNA		
Ácido nitroso (HNO_2)	Desamina A y C	AT → GC y GC → AT
Hidroxilamina (NH_2OH)	Reacciona con C	GC → AT
Agentes alquilantes		
Monofuncionales (por ejemplo, sulfonato de etilmetano)	Añade un grupo metilo a G; error en el apareamiento con T	GC → AT
Bifuncionales (por ejemplo, mitomicina, mostazas de nitrógeno, nitrosoguanidina)	Entrecruza las cadenas de DNA; cortes por DNasa en la región defectuosa	Mutaciones puntuales y delecciones
Colorantes intercalantes		
Acridinas, bromuro de etidio	Se insertan entre dos pares de bases	Microinserciones y microdeleciones
Radiación		
Ultravioleta	Formación de dímeros de pirimidina	La reparación puede llevar a errores o deleciones
Radiación ionizante (por ejemplo, rayos-X)	Ataque de radicales libres al DNA, con ruptura de la cadena	La reparación puede llevar a errores o deleciones

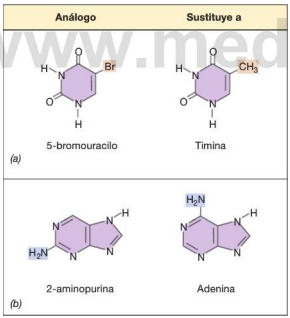


Figura 11.8 Análogos de bases nucleotídicas. Estructura de dos análogos de bases nucleotídicas utilizados habitualmente para inducir mutaciones, y las bases normales a las que sustituyen en los ácidos nucleicos. (*a*) El 5-bromouracilo puede aparearse con guanina y causar sustituciones AT por GC. (*b*) La 2-aminopurina puede aparearse con citosina y causar sustituciones AT por GC.

ciones o deleciones en el DNA con acridina. Así, normalmente las acridinas inducen mutaciones de cambio de fase (Sección 11.5). El bromuro de etidio, que se usa normalmente para detectar el DNA en electroforesis, también es un agente intercalante y, por tanto, un mutágeno.

Radiación

Hay varias formas de radiación que son altamente mutágenas. Podemos dividir la radiación electromagnética mutágena en dos categorías principales, la no ionizante y la ionizante (**Figura 11.9**). Aunque ambas clases de radiación se utilizan en genética microbiana para generar mu-

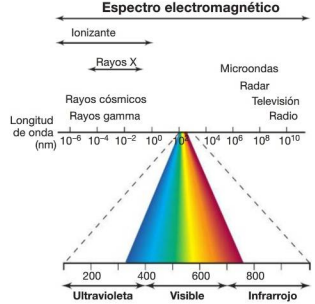


Figura 11.9 Longitudes de onda de la radiación. Obsérvese que la radiación ultravioleta está formada por longitudes de onda sólo un poco más cortas que la luz visible. Para cualquier radiación electromagnética, cuanto más corta es su longitud de onda, mayor es su energía. El DNA absorbe con fuerza a 260 nm.

taciones, la radiación no ionizante como la ultravioleta (UV) está mucho más extendida.

Las bases purínicas y pirimidínicas de los ácidos nucleicos absorben fuertemente la radiación UV, y el máximo de absorción para el DNA y el RNA está en 260 nm (Figura 7.7). La muerte celular por radiación UV es debida, principalmente, a su efecto sobre el DNA. Aunque se conocen varios efectos, uno bien estudiado es la producción de dímeros de pirimidina, en los que dos bases de pirimidina adyacentes (citosina o timina) en la misma cadena de DNA se unen covalentemente entre sí. Esto impide el paso de la DNA-polimerasa o aumenta en gran medida la probabilidad de que la DNA-polimerasa se equivoque al leer la secuencia en este punto.

La fuente de radiación UV de uso más habitual para la mutagénesis es la lámpara, que emite radiación UV en la región de 260 nm. Se usa una dosis de radiación UV que mata aproximadamente entre un 50% y un 90% de la población celular, y después se seleccionan o se rastrean los mutantes de entre los supervivientes. Si se utilizan dosis de radiación mucho más altas, el número de células viables es demasiado bajo. Si se utilizan dosis más bajas, el daño al DNA es insuficiente para que se pueda recuperar la cantidad de mutantes deseada. Cuando se utiliza a la dosis correcta, la radiación UV es una herramienta muy conveniente para aislar mutantes y elimina la necesidad de manejar productos tóxicos.

Radiación ionizante

La radiación ionizante es una forma más potente de radiación que la UV, y comprende los rayos de onda corta como los rayos X, los rayos cósmicos y los rayos gamma (Figura 11.9). Estos rayos provocan la ionización del agua y otras sustancias, y sus efectos mutágenos se derivan indirectamente de esta ionización. Entre las poderosas sustancias químicas que se forman por la radiación ionizante están los radicales libres, el más importante de los cuales es el radical hidroxilo, OH• (Sección 6.18).

Los radicales libres reaccionan y dañan las macromoléculas de la célula, de las cuales la más importante es el DNA. A dosis bajas de radiación ionizante sólo se producen algunos «golpes» en el DNA, pero aumentan a dosis más altas, lo que provoca la muerte de la célula. A diferencia de la radiación UV, la radiación ionizante penetra rápidamente a través del cristal y otros materiales. Por tanto, se utiliza con frecuencia para producir mutaciones en animales y plantas (ya que su poder de penetración hace posible alcanzar las células productoras de gametos de estos organismos). Sin embargo, al ser más peligrosa y estar menos disponible que la radiación UV, la radiación ionizante está menos extendida en la genética microbiana.

Sistemas de reparación del DNA

Recordemos que una mutación es un cambio heredable en el material genético. Por tanto, si el DNA se puede corregir antes de que la célula se divida, no se producirá ninguna mutación. La mayoría de las células tienen toda una serie de procesos de reparación del DNA diferentes para corregir los errores o reparar los daños. La mayoría de estos sistemas de reparación del DNA son prácticamente perfectos. No obstante, algunos son propensos a los errores y, en ocasiones, el propio sistema de reparación introduce una mutación. Los procesos de reparación del DNA pueden agruparse en tres categorías: reversión directa, reparación de daño en una sola cadena y reparación de daño en ambas cadenas.

La reversión directa se aplica a las bases que han sido alteradas químicamente pero cuya identidad es aún reconocible. No es necesario el apareamiento de bases (es decir, no hace falta una cadena molde). Por ejemplo, algunas bases alquiladas son reparadas por eliminación química directa del grupo alquilo. Otro sistema de reparación directa es la fotorreactivación, que corta los dímeros de pirimidina generados por la radiación UV. La enzima fotoliasa absorbe la luz azul y utiliza la energía para dirigir la reacción de corte.

Existen algunos sistemas que reparan el daño en el DNA monocatenario. En estos casos, el DNA dañado se elimina de una sola cadena. Después, se utiliza la cadena opuesta (intacta) como molde para reemplazar los nucleótidos que faltan. En la reparación de la escisión de bases y en la reparación de apareamientos defectuosos, se elimina y se sustituye el fragmento corto de DNA monocatenario en el que se encuentra el daño. El daño en la doble cadena, incluido el entrecruzamiento y los cortes en ambas cadenas, es especialmente peligroso. Estas lesiones son reparadas por mecanismos de recombinación y puede ser necesaria la reparación propensa a errores.

Mutaciones surgidas de la reparación del DNA: el sistema SOS

Algunos tipos de daños en el DNA, especialmente los daños a gran escala producidos por productos químicos altamente mutágenos o grandes dosis de radiación, pueden interferir con la replicación. Si no pueden ser reparados con éxito por los sistemas de reparación libres de errores, entonces la célula debe utilizar un segundo tipo de sistema de reparación, pero uno más propenso a errores. Esto permite que proceda la replicación y que la célula se divida, pero lo hace a costa de introducir mutaciones él mismo. Este mecanismo, llamado *sistema regulador SOS* es activado por algunos tipos de daño del DNA y empieza una serie de procesos de reparación del DNA. No obstante, en el sistema SOS, la reparación del DNA se puede realizar sin necesidad de cadena molde, es decir, sin apareamiento de bases; como es de esperar, esto provoca muchos errores y, por tanto, muchas mutaciones.

El sistema SOS es un **regulón**, es decir, un conjunto de genes que están regulados de forma coordinada aunque se transcriben por separado. El sistema SOS está regulado por dos proteínas, LexA y RecA. LexA es una proteína represora que normalmente impide la expresión del regulón

www.medi

SOS. La proteína RecA, que normalmente actúa en la recombinación genética (Sección 11.9), se activa por la presencia de daño en el DNA (**Figura 11.10**). La forma activada de RecA estimula la autoinactivación de LexA por autocorte. Esto conduce a la desrepresión del sistema SOS y tiene como resultado la expresión coordinada de una serie de proteínas que participan en la reparación del DNA. Como algunos de los mecanismos de reparación del DNA del sistema SOS son inherentemente propensos a error, pueden surgir muchas mutaciones. Una vez que se ha reparado el daño en el DNA, el regulón SOS es reprimido y cesa la mutagénesis.

Cuando la replicación del DNA se estanca a causa de serios daños en el DNA, la célula sustituye la DNA-polimerasa normal por polimerasas de reparación especiales que pueden pasar por encima del DNA dañado —un proceso conocido como síntesis translesión. Incluso aunque no se disponga de molde para permitir la inserción de las bases correctas, es menos peligroso rellenar el hueco que dejar el DNA roto o dañado. En consecuencia, la síntesis translesión genera muchos errores. En *E. coli*, donde el proceso de mutagénesis se ha estudiado con mucho detalle, las dos polimerasas de la reparación propensa a errores son la DNA-polimerasa V, una enzima codificada por los genes *umuCD* (Figura 11.10) y la DNA-polimerasa IV, codificada por *dinB*. Ambas son inducidas como parte de la respuesta SOS.

www.medil

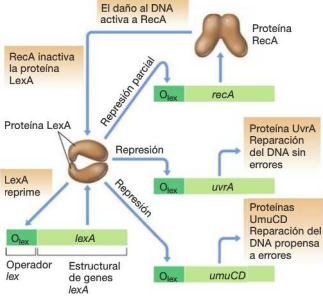


Figura 11.10 **Mecanismo de la respuesta SOS.** El daño en el DNA activa la proteína RecA que, a su vez, activa la actividad proteasa de LexA. Entonces la proteína LexA se corta a sí misma. Normalmente, la proteína LexA reprime la actividad del gen recA y de los genes de reparación del DNA *uvrA* y *umuCD* (las proteínas UmuCD forman parte de la DNA-polimerasa V); sin embargo, la represión no es completa. Se produce un poco de proteína RecA incluso en presencia de la proteína LexA. Con LexA inactivada, estos genes se hacen muy activos.

Cambios en la tasa de mutación

La alta fidelidad (o baja frecuencia de error) en la replicación del DNA es esencial si los organismos tienen que permanecer genéticamente estables; por otra parte, la fidelidad perfecta es contraproducente, porque impediría la evolución. Por tanto, ha evolucionado una tasa de mutación en las células que es muy baja, pero detectable. Esto permite a los organismos equilibrar sus necesidades de estabilidad genética con las de la mejora evolutiva.

El hecho de que organismos tan separados filogenéticamente como los hipertermófilos de *Archaea* y *E. coli* tengan aproximadamente la misma tasa de mutación puede hacernos pensar que la presión evolutiva ha seleccionado organismos con las tasas más bajas de mutación posibles. Sin embargo, no es así. La tasa de mutación en un organismo está sujeta a cambios. Por ejemplo, se han seleccionado en el laboratorio los mutantes de algunos organismos que son hiperprecisos en la replicación y reparación de su DNA. No obstante, en estas cepas, los mecanismos mejorados de corrección de errores y reparación tienen un coste metabólico significativo, de modo que los mutantes hiperprecisos, en realidad, podrían estar en desventaja en su entorno natural. Por otra parte, algunos organismos sí parecen beneficiarse de los sistemas mejorados de reparación del DNA, que les permiten ocupar nichos concretos en la naturaleza. Un buen ejemplo de ello es la bacteria *Deinococcus radiodurans* (Sección 16.17). Este organismo es veinte veces más resistente a la radiación UV y doscientas veces más resistente a la radiación ionizante que *E. coli*. Esta resistencia, dependiente en parte de los sistemas redundantes de reparación del DNA y de un mecanismo para exportar nucleótidos dañados, permite al organismo sobrevivir en entornos en los que otros organismos no pueden, como cerca de fuentes de radiación concentrada o en la superficie de partículas de polvo expuestas a la luz solar intensa.

En contraste con la hiperprecisión, algunos organismos en realidad se benefician de tasas de mutación aumentadas. Los sistemas de reparación de DNA también están codificados genéticamente y, como tales, sujetos a mutación. Por ejemplo, la subunidad proteica de la DNA-polimerasa III implicada en la corrección de errores (Sección 7.8) es codificada por el gen *dnaQ*. Determinadas mutaciones en *dnaQ* generan mutantes que siguen siendo viables pero tienen una tasa incrementada de mutación. Se les conoce como hipermutables o **cepas mutadoras**. Las mutaciones que conducen a un fenotipo mutador se conocen también en otros sistemas de reparación de DNA. Aparentemente, el fenotipo mutador es seleccionado en entornos complejos y cambiantes, porque las cepas de las bacterias con fenotipos mutadores parecen ser más abundantes en estas condiciones. Probablemente, cualquier desventaja que pueda tener una tasa de mutación aumentada en estos entornos es contrarrestada por la capacidad para generar muchas mutaciones útiles. Estas mutaciones, en última instancia, aumentan la adapta-

bilidad evolutiva de la población y hacen que el organismo tenga más éxito en su nicho ecológico.

Como ya hemos apuntado anteriormente, en las cepas de tipo salvaje se puede inducir un fenotipo mutador mediante situaciones de estrés. Por ejemplo, la respuesta SOS induce la reparación propensa a errores, de manera que cuando la respuesta SOS se activa, la tasa de mutación aumenta. En algunos casos es simplemente un subproducto inevitable de la reparación del DNA, pero en otros, la tasa aumentada de mutación puede ser, por sí misma, de valor selectivo para el organismo por razones de supervivencia.

11.7 Minirrevisión

Los mutágenos son agentes químicos, físicos o biológicos que aumentan la tasa de mutación. Los mutágenos pueden alterar el DNA de muchas formas diferentes. No obstante, las alteraciones en el DNA no son mutaciones a menos que sean heredadas. Algunos daños del DNA pueden causar la muerte de la célula si no son reparados, y existen dos sistemas de reparación, uno propenso al error y otro de alta fidelidad.

- ¿Cómo funcionan los mutágenos?
- ¿Por qué un fenotipo mutador debería tener éxito en un entorno en continuo cambio?

11.8 Mutagénesis y carcinogénesis: la prueba de Ames

El test de Ames hace un uso práctico de las mutaciones bacterianas para detectar sustancias químicas potencialmente peligrosas en el medio.

Como en las grandes poblaciones de bacterias se pueden detectar mutantes con sensibilidad muy alta; las bacterias se pueden utilizar para buscar productos químicos con mutagenicidad potencial. Esto es importante porque muchas sustancias mutágenas son también cancerígenas, es decir, capaces de causar cáncer en humanos u otros animales.

La variedad de productos químicos, tanto naturales como artificiales, con los que entran en contacto los seres humanos a través de la agricultura y la exposición en la industria es enorme. Existen pruebas de que algunos cánceres humanos tienen causas ambientales, muy probablemente debido a distintas sustancias, lo que hace de la detección de carcinógenos químicos un asunto muy importante. No es necesariamente cierto que si un compuesto es mutágeno es también cancerígeno. La correlación, sin embargo, es alta, y el saber que un compuesto es mutágeno para las bacterias es una advertencia de posible peligro. El desarrollo de ensayos bacterianos de detección de sustancias carcinógenas fue desarrollado principalmente por Bruce Ames y sus colegas de la Universidad de California en Berkeley, de modo que el ensayo de mutagénesis para carcinógenos se conoce como *prueba de Ames* (**Figura 11.11**).

Protocolo de la prueba de Ames

El método estándar para analizar sustancias químicas como posibles mutágenos es buscar un aumento en la tasa de retromutación (reversión) en las cepas auxótrofas de las bacterias en presencia de un presunto mutágeno. Es importante que la cepa auxótrofa contenga una mutación puntual, porque la tasa de reversión en dicha cepa es cuantificable. Las células de este auxótrofo no crecerán en un medio que carezca del nutriente necesario (por ejemplo, un aminoácido), e incluso se pueden extender grandes poblaciones de células sin formación de colonias visibles. Sin embargo, si los retromutantes (revertientes) están presentes, estas células formarán colonias. Así, si se extienden 10^8 células en la superficie de una sola placa, es posible detectar incluso sólo 10 ó 20 revertientes por las 10 o 20 colonias que forman (Figura 11.11, foto izquierda). Por otra parte, si la tasa de reversión se ha incrementado por la presencia de un mutágeno químico, el número de colonias revertientes será aún mayor. Los auxótrofos de histidina de *Salmonella enterica* y los auxótrofos de triptófano de *E. coli* fueron las herramientas principales del ensayo de Ames.

Dos elementos adicionales han sido introducidos en la prueba de Ames para hacerlo mucho más eficaz. El primero de ellos es el uso de cepas de prueba que utilizan casi exclusivamente rutas de reparación propensas a error para reparar el DNA dañado; por tanto, los mecanismos normales de reparación se han minimizado (Sección 11.7). El segundo elemento importante en el test de Ames es la adición de preparaciones de enzimas hepáti-

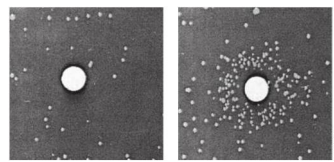


Figura 11.11 El test de Ames para determinar la mutagenia de una sustancia química. Se inocularon dos placas con un cultivo de un mutante de *Salmonella enterica* auxótrofo para la histidina. El medio no contiene histidina, de modo que sólo las células que revierten hacia el tipo salvaje pueden crecer. Aparecen revertientes espontáneos en las dos placas, pero el producto químico del disco de papel de filtro en la placa de la prueba (derecha) ha provocado un aumento en la tasa de mutación, como se observa por el gran número de colonias que lo rodean. No se ven revertientes muy cerca del disco porque la concentración de mutágeno allí es letalmente alta. La placa de la izquierda es el control negativo; el disco de papel de filtro sólo tenía agua.

www.medi

cas para convertir las sustancias analizadas en sus formas mutágenas activas (y potencialmente cancerígenas). Está ampliamente demostrado que muchos carcinógenos no son directamente cancerígenos o mutágenos por sí mismos, sino que sufren modificaciones en el cuerpo humano que los convierten en sustancias activas. Estos cambios tienen lugar principalmente en el hígado, donde unas enzimas llamadas oxigenasas de función mixta, cuya función normal es la desintoxicación, generan formas activadas de los compuestos que son muy reactivos (y, por tanto, mutágenos) con el DNA.

En la prueba de Ames se utiliza en primer lugar una preparación de enzimas de hígado de rata pata activar el compuesto que se va a analizar. El complejo activado se empapa en un disco de papel de filtro situado en el centro de una placa en la que se ha depositado la cepa bacteriana adecuada. Tras toda una noche de incubación, se puede detectar la mutagénesis del compuesto buscando un halo de retromutaciones en la zona alrededor del disco de papel (Figura 11.11). Siempre hay que realizar la prueba con varias concentraciones del compuesto y con los correspondientes controles positivo (mutágenos conocidos) y negativo (sin mutágeno), porque la actividad mutagénica de los compuestos varía y puede resultar letal a concentraciones altas. Una gran variedad de mutágenos ha sido sometida a la prueba de Ames, que se ha convertido en uno de los métodos de criba más útiles para determinar la carcinogénesis potencial de un compuesto.

11.8 Minirrevisión

La prueba de Ames utiliza un sistema de ensayo con bacterias sensibles para detectar mutágenos químicos en el ambiente.

- ¿Por qué la prueba de Ames mide la tasa de retromutación en lugar de la tasa de mutación?
- ¿Qué implicación tiene la detección de mutágenos en la prevención del cáncer?

III INTERCAMBIO GENÉTICO EN PROCARIOTAS

Para los análisis genéticos, el genético microbiano puede cruzar cepas de un organismo que tengan genotipos (y fenotipos) diferentes y buscar recombinantes. En procariotas se conocen tres mecanismos de intercambio genético: 1) transformación, donde el DNA libre procedente de una célula es captado por otra (Sección 11.10); 2) transducción, donde la transferencia de DNA es mediada por un virus (Sección 11.11); y 3) conjugación, donde la transferencia de DNA implica contacto entre células y la presencia de un plásmido conjugativo en la célula donadora (Secciones 11.12 y 11.13). En la **Figura 11.12** se puede ver una comparación de estos procesos.

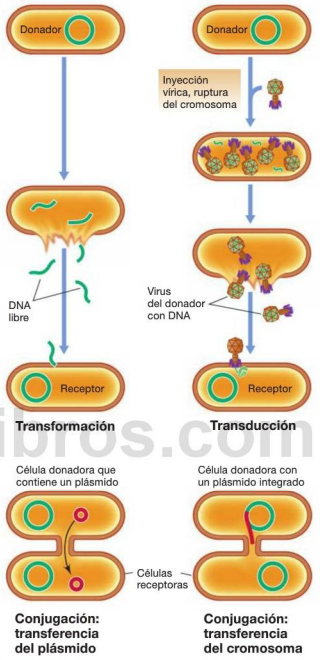


Figura 11.12 Procesos por los que el DNA se transfiere de una célula bacteriana donadora a una receptora. Se muestran únicamente los pasos iniciales. Para más detalles sobre la integración del DNA en el receptor, *véanse* las Figuras 11.13, 11.16, 11.17 y 11.21.

Antes de analizar más detalladamente los mecanismos de transferencia, debemos tener en cuenta el destino del DNA transferido. Si se transfiere por transformación, transducción o conjugación, el DNA introducido tiene tres destinos posibles: puede ser degradado por enzimas de restricción; puede autorreplicarse (pero sólo si posee su propio origen de replicación como un plásmido o el genoma de un fago), o bien puede recombinarse con el cromosoma del hospedador.

www.medilibros.com

11.9 Recombinación genética

La **recombinación** es el intercambio físico de DNA entre elementos genéticos. En esta sección nos centraremos en la recombinación *homóloga*, un proceso por el que se realiza un intercambio genético entre secuencias homólogas de DNA de dos fuentes diferentes. Las secuencias homólogas de DNA son aquéllas que tiene prácticamente la misma secuencia; por tanto, las bases se pueden aparear a lo largo de una gran longitud de las dos moléculas de DNA. Este tipo de recombinación está implicado en el proceso denominado «entrecruzamiento» en la genética clásica.

Mecanismo molecular de la recombinación homóloga

La proteína RecA, previamente mencionada en relación al sistema de reparación SOS propenso a errores (Sección 11.7), es la clave de la recombinación homóloga. RecA es esencial en casi todo el proceso de recombinación homóloga. Se han encontrado proteínas de tipo RecA en todos los procariotas examinados, incluyendo las arqueas, así como en la levadura entre los eucariotas superiores.

En la **Figura 11.13** se muestra el mecanismo molecular de la recombinación homóloga. Una endonucleasa empieza el proceso haciendo una muesca en una cadena de una de las moléculas de DNA. Esta cadena cortada debe ser desplazada de la otra cadena por proteínas con actividad helicasa (Sección 7.6). En algunos mecanismos, existen enzimas especializadas, como la enzima RecBCD de *E. coli*, que tienen actividad endonucleasa y helicasa. A continuación se une la proteína de unión a cadena sencilla (Sección 7.6) al segmento monocatenario resultante. Después, la proteína RecA se une a la región monocatenaria y forma un complejo que facilita el apareamiento con la secuencia complementaria en el segundo dúplex de DNA, desplazando simultáneamente la cadena residente (Figura 11.13). Este proceso se denomina *invasión de cadena* y tiene como resultado el apareamiento de moléculas de DNA en fragmentos largos. El intercambio de cadenas lleva a la formación de intermediarios de recombinación que contienen grandes regiones de **heterodúplex**, donde cada cadena procede de un cromosoma diferente. Estas estructuras se llaman uniones de Holliday (por Robin Holliday, que propuso este modelo en 1964) y pueden migrar a lo largo del DNA; esta migración se ve impulsada por un complejo de varias proteínas. Por último, las moléculas unidas se separan o se «resuelven» por la acción de resolvasas, que cortan y vuelven a unir las segundas cadenas (previamente reparadas). En *E. coli*, las proteínas RecG y RuvC actúan como resolvasas, y su actividad genera dos moléculas de DNA recombinado. Según la orientación de la unión de Holliday durante la resolución, se forman dos tipos de productos, parches y empalmes, que difieren en la conformación de las regiones de heterodúplex que quedan tras la resolución (Figura 11.13).

Efectos de la recombinación homóloga en el genotipo

Para que la recombinación homóloga genere nuevos genotipos, es esencial que las dos secuencias homólogas estén relacionadas, pero sean genéticamente distintas. Éste es, obviamente, el caso de las células eucariotas diploides, que poseen dos juegos de cromosomas de cada progenitor.

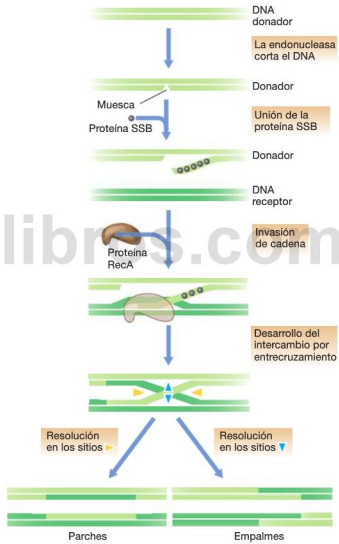


Figura 11.13 Versión simplificada de la recombinación homóloga. Las moléculas de DNA homólogo se aparean e intercambian segmentos de DNA. El mecanismo implica la ruptura y reunión de segmentos apareados. Se muestran sólo dos de las proteínas implicadas, la proteína de unión a cadena sencilla (SSB) y la proteína RecA. El esquema no está a escala: el apareamiento puede ocurrir a lo largo de cientos o miles de bases. La resolución se produce mediante el corte y la re-unión de las moléculas de DNA entrecruzadas. Obsérvese que hay dos resultados posibles, los parches y los empalmes, en función de dónde se cortan las cadenas durante el proceso de resolución.

En procariotas, las moléculas de DNA genéticamente distintas pero homólogas se acercan mediante métodos diferentes, pero el proceso de recombinación genética no es menos importante. La recombinación genética en procariotas se produce tras la transferencia de fragmentos de DNA homólogo de un cromosoma donador a una célula receptora mediante transformación, transducción o conjugación. Sólo después de la transferencia, cuando el fragmento de DNA del hospedador está en la célula receptora, seproduce la recombinación homóloga. En procariotas se transfiere sólo un fragmento del cromosoma; por lo tanto, si la recombinación no se produce, el fragmento del DNA se perderá porque no puede replicarse de manera independiente. Así, en procariotas, la transferencia es sólo el primer paso en la generación de organismos recombinantes.

Detección por recombinación

Para detectar el intercambio físico de segmentos de DNA, las células resultantes de la recombinación deben ser fenotípicamente diferentes de ambos progenitores. Los cruzamientos genéticos, normalmente, dependen de que se utilicen cepas receptoras que carezcan de algún carácter seleccionable que los recombinantes ganarán. Por ejemplo, el receptor puede ser incapaz de crecer en un medio concreto, y se seleccionarán los recombinantes genéticos que sí puedan crecer. En la Sección 11.14 se hablará de varios tipos de marcadores seleccionables, como la resistencia a fármacos y las necesidades nutricionales.

La enorme sensibilidad del proceso de selección permite detectar incluso un número reducido de células recombinantes en una población grande de células no recombinantes (**Figura 11.14**). El único requisito para la detección eficaz de la recombinación es que la tasa de retromutación para la característica seleccionada sea baja, porque los revertientes también formarán colonias. A menudo, este problema se puede solucionar utilizando mutantes dobles —cepas con dos mutaciones diferentes— en los cruces genéticos, porque es muy improbable que se produzcan dos retromutaciones en la misma célula. Otra posibilidad es utilizar mutantes de desplazamiento de la pauta de lectura, porque sus tasas de reversión son, normalmente, extremadamente bajas.

Gran parte de la habilidad del genético bacteriano radica en escoger los mutantes y los medios de cultivo adecuados para obtener una detección eficiente de la recombinación genética. Como la selección es tan fuerte y los cruzamientos se pueden realizar con miles de millones de células individuales, los análisis de recombinación que siguen a la transferencia génica son una importante herramienta para el genético microbiano (Secciones 11.10 a 11.12).

11.9 Minirrevisión

La recombinación homóloga se produce cuando secuencias estrechamente relacionadas de DNA de dos elementos genéticos distintos se combinan para formar un solo elemento. La recombinación es un proceso evolutivo importante, y las células disponen de mecanismos específicos para asegurarse de que tiene lugar.

- ¿Qué proteína que se encuentra en todos los procariotas facilita el apareamiento necesario para la recombinación homóloga?
- En los eucariotas, la recombinación implica a cromosomas enteros, pero esto no es así en procariotas. Explique por qué.

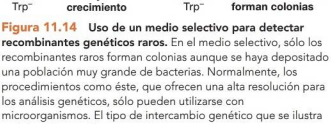


Figura 11.14 Uso de un medio selectivo para detectar recombinantes genéticos raros. En el medio selectivo, sólo los recombinantes raros forman colonias aunque se haya depositado una población muy grande de bacterias. Normalmente, los procedimientos como éste, que ofrecen una alta resolución para los análisis genéticos, sólo pueden utilizarse con microorganismos. El tipo de intercambio genético que se ilustra es la transformación.

11.10 Transformación

La **transformación** es un proceso de transferencia genética por el cual el DNA es incorporado en una célula receptora y lleva a cabo un cambio genético. Algunos procariotas son naturalmente transformables, incluyendo determinadas especies de bacterias grampositivas y gramnegativas y algunas especies de arqueas (Sección 11.15). Como en los procariotas el DNA está presente en la célula en forma de una sola molécula larga, cuando la célula es lisada suavemente, el DNA sale. Debido a su gran longitud (1.700 µm en *Bacillus subtilis*, por ejemplo), los cromosomas bacterianos se rompen con facilidad. Incluso tras una suave extracción, el cromosoma de *B. subtilis*, de 4,2 Mbp, se convierte en fragmentos de unos 10 kbp cada uno. El DNA que corresponde a un gen medio tiene unos 1.000 nucleótidos, de manera que cada uno de los fragmentos de DNA de *B. subtilis* contiene unos 10 genes. Este es un tamaño transformable típico. Normalmente, una célula individual incorpora sólo uno

o unos pocos fragmentos de DNA, de modo que sólo una pequeña proporción de los genes de una célula se pueden transferir a otra mediante un acto de transformación individual.

La transformación en la historia de la biología molecular

Aunque la recombinación genética en eucariotas se conoce desde hace mucho tiempo, el descubrimiento de la recombinación genética en las bacterias es más reciente. Y, sin embargo, el descubrimiento de la transformación fue uno de los eventos fundamentales para la biología, ya que permitió llevar a cabo experimentos en los que se demostró que el DNA es el material genético (**Figura 11.15**). Este descubrimiento se convirtió en la piedra angular de la biología molecular y la genética modernas; veamos en qué consistió.

El científico británico Frederick Griffith obtuvo la primera prueba de la transformación bacteriana a finales de los años veinte. Griffith estaba trabajando con *Streptococcus pneumoniae* (neumococo), una bacteria que debe su capacidad para invadir el cuerpo, en parte a la presencia de una cápsula polisacarídica (Sección 4.9). Se pueden aislar mutantes que carecen de esta cápsula y, por tanto, no pueden causar infecciones. Dichos mutantes se llaman *cepas R*, porque sus colonias en agar se muestran rugosas, en contraste con el aspecto suave de las cepas encapsuladas, o *cepas S*. Un ratón infectado con sólo algunas células de una cepa S sucumbe en un día o dos a una infección masiva por neumococo. Sin embargo, incluso grandes cantidades de células R no causan la muerte cuando son inyectadas. Griffith demostró que si se inyectaban células S muertas por calor junto con células R vivas, el ratón desarrollaba una infección mortal y las bacterias aisladas del animal muerto eran del tipo S (Figura 11.15). Como las células S aisladas en este experimento siempre tenían la cápsula de las células S muertas por calor, Griffith concluyó que las células R se habían transformado en una clase nueva. Este proceso sentó las bases para el descubrimiento del DNA.

Fueron Oswald T. Avery y sus colegas del Instituto Rockefeller en Nueva York quienes dieron la explicación molecular de la transformación de neumococo mediante una serie de estudios llevados a cabo durante las décadas de 1930 y 1940. Avery y sus colaboradores demostraron que la transformación se podía realizar en un tubo de ensayo en lugar de en el ratón, y que un extracto acelular procedente de células muertas por calor podía inducir la transformación. En una serie de meticulosos experimentos bioquímicos, se purificó la fracción activa de extractos acelulares y se vio que era DNA. La actividad transformadora de las preparaciones de DNA purificado fue muy alta, de modo que sólo era necesaria una pequeña cantidad de material. Sucesivamente, otros investigadores demostraron que la transformación en neumococo no sólo se aplica a las características capsulares, sino a otras características genéticas, como la resistencia a antibióticos y la fermentación de los azúcares.

En 1953, James Watson y Francis Crick publicaron su modelo de la estructura del DNA, lo que supuso un marco teórico para explicar cómo podía el DNA servir como material genético. Así pues, tres tipos de estudios, los bacteriológicos de Griffith, los bioquímicos de Avery y los estructurales de Watson y Crick, cimentaron el concepto del DNA como material genético. En los años siguientes, este trabajo desembocó en la creación de la biología molecular y la genética molecular.

La competencia en transformación

Incluso dentro de los géneros transformables, sólo determinadas cepas o especies se pueden transformar. De una célula que es capaz de aceptar DNA y ser transformada se dice que es *competente*, y esta capacidad está determinada genéticamente.

La competencia en las bacterias más transformables naturalmente está regulada, y algunas proteínas especiales tienen una función en la toma y el procesamiento del DNA. Estas proteínas específicas de la competencia son una proteína de unión al DNA asociada a la membrana, una autolisina de la pared celular y varias nucleasas. Una vía de competencia natural en *B. subtilis* —una especie fácil de transformar— está regulada por un sistema de percepción de quórum (un sistema regulador que responde a la densidad celular; Sección 9.6). Las células pro-

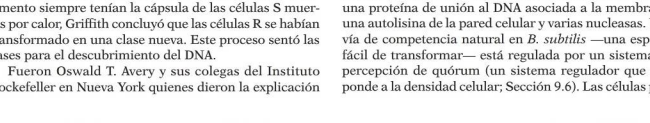


Figura 11.15 Experimentos de Griffith con neumococo. Las células mucosas (S) vivas contienen una cápsula y matan a los ratones porque las células inmunitarias no pueden matar a las bacterias encapsuladas; las células proliferan en el pulmón y provocan una neumonía mortal. Las células rugosas (R) no tienen cápsula y no son patógenas. Pero una combinación de células R vivas y S muertas matan a los ratones, y se pueden aislar células S vivas de los animales. El DNA que contiene los genes para la producción de la cápsula es liberado de las células S muertas y captado por las células R, que se transforman así en células S.

ducen y excretan un pequeño péptido durante el crecimiento, y la acumulación de este péptido en alta concentración induce la competencia en las células. En *Bacillus*, aproximadamente un 20% de las células de un cultivo se vuelven competentes y permanecen así durante varias horas. Sin embargo, en *Streptococcus* el 100% de las células pueden volverse competentes, pero sólo por un breve período durante el ciclo de crecimiento.

La transformación natural de alta eficiencia se conoce sólo en unas pocas bacterias. Por ejemplo, *Acetinobacter, Bacillus, Streptococcus, Haemophilus, Neisseria* y *Thermus* son competentes de forma natural y fácilmente transformables. Por el contrario, muchos procariotas se transforman muy poco o nada en condiciones naturales. *E. coli* y otras muchas bacterias gramnegativas entran dentro de esta categoría. Sin embargo, si las células de *E. coli* se tratan con altas concentraciones de iones calcio y después son enfriadas durante varios minutos, se vuelven adecuadamente competentes. Estas células de *E. coli* aceptan DNA de doble cadena, de modo que la transformación de este organismo por DNA plasmídico es relativamente eficiente. Esto es importante, porque poder introducir DNA en *E. coli* —el caballo de batalla de la ingeniería genética— resulta fundamental para la biotecnología, como veremos en el Capítulo 26.

La *electroporación* es una técnica física que se utiliza para introducir DNA en organismos difíciles de transformar, especialmente aquéllos que tienen paredes celulares gruesas. En la electroporación, las células se mezclan con DNA y después se exponen a breves pulsos eléctricos de alto voltaje. Esto hace permeable la envoltura celular y permite la entrada del DNA. La electroporación es un proceso rápido y funciona para la mayoría de las células, incluyendo a *E. coli*, la mayoría de bacterias, algunos miembros de *Archaea* e incluso la levadura y algunas células vegetales.

Captación de DNA en la transformación

Durante la transformación natural, las bacterias competentes unen el DNA de forma reversible. Sin embargo, muy pronto la unión se hace irreversible. Las células competentes unen mucho más DNA que las no competentes —unas mil veces más—. Como se ha dicho anteriormente, los fragmentos transformantes son mucho más pequeños que el genoma completo, y son ulteriormente degradados durante el proceso de captación. En *S. pneumoniae* cada célula puede unir sólo unas diez moléculas de DNA bicatenario de entre 10 y 15 kbp cada una. No obstante, cuando estos fragmentos se introducen en la célula se convierten en trozos de cadena sencilla de unos 8 kb, y la cadena complementaria correspondiente es degradada. Los fragmentos de DNA de la mezcla compiten entre sí por la captación, de manera que si se añade DNA en exceso que no contenga el marcador genético en observación, se produce un descenso en el número de transformaciones.

En las preparaciones de DNA transformante, normalmente sólo 1 de cada 100-300 fragmentos de DNA contiene el marcador genético objeto de estudio, de manera que, a altas concentraciones de DNA, la competición entre las moléculas de DNA provoca la saturación del sistema, e incluso en las mejores condiciones resulta imposible transformar todas las células de una población para un marcador determinado. La frecuencia máxima de transformación que se ha obtenido hasta ahora es aproximadamente el 20% de la población; no obstante, los valores habituales suelen estar entre el 0,1% y el 1,0%. Pero cuando el tamaño de la población receptora es muy grande, incluso estas bajas frecuencias son fáciles de detectar. La mínima concentración de DNA que da transformantes viables es aproximadamente de 0,01 ng/mL, tan baja que resulta químicamente indetectable.

Curiosamente, para la transformación en *Haemophilus influenzae*, el fragmento de DNA debe tener una secuencia concreta de 11 bp para que se produzca la unión irreversible y la captación. Esta secuencia se encuentra en el genoma de *Haemophilus* en una frecuencia inesperadamente alta. Pruebas como ésta, y el hecho de que algunas bacterias hayan demostrado ser competentes en un entorno natural sugieren que la transformación no es un artefacto de laboratorio, sino que juega un papel importante en la transferencia horizontal en la naturaleza. Al fomentar nuevas combinaciones de genes, las bacterias naturalmente transformables aumentan la diversidad y la adaptabilidad de la comunidad microbiana en conjunto.

Integración del DNA transformante

El DNA transformante se une a la superficie celular mediante una proteína de unión a DNA. A continuación, según el organismo, bien se introduce el fragmento bicatenario completo o bien una nucleasa degrada una cadena, y se introduce la que queda (**Figura 11.16**). Tras la captación, el DNA se une a una proteína específica de competencia que lo protege del ataque de las nucleasas hasta que alcanza el cromosoma, donde la proteína RecA se suelta. El DNA se integra en el genoma del receptor por recombinación (Figuras 11.16 y 11.13). Si se integra DNA monocatenario, se forma un DNA heterodúplex y durante el siguiente ciclo de replicación del cromosoma se genera una molécula de DNA progenitora y una recombinante. Durante la segregación en la división celular, la molécula recombinante está presente en la célula transformada, que ahora está alterada genéticamente respecto de su progenitora. Todo esto sólo se aplica a pequeños fragmentos de DNA lineal. Muchas bacterias transformables naturalmente se transforman muy poco con DNA plasmídico porque el plásmido debe mantenerse de doble cadena y circular para poder replicarse.

Transfección

Las bacterias pueden transformarse con DNA extraído de un virus bacteriano en lugar de otra bacteria. Este proceso se llama *transfección*. Si el DNA procede de un bacteriófago lítico, la transfección lleva a la producción de

www.libros.com

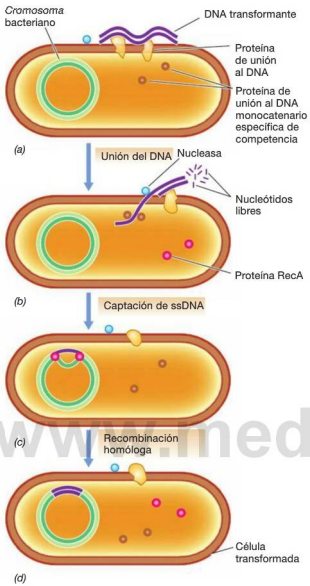


Figura 11.16 **Mecanismo de transformación de una bacteria grampositiva.** (*a*) Unión del DNA bicatenario por una proteína de unión al DNA asociada a membrana. (*b*) Entrada de una de las dos cadenas a la célula y degradación de la otra cadena por una nucleasa. (*c*) La cadena sencilla se une a proteínas específicas y la recombinación con regiones homólogas del cromosoma bacteriano es mediada por la proteína RecA. (*d*) Célula transformada.

virus y se puede medir mediante el ensayo estándar de calvas de fagos (Sección 10.4). La transfección es útil para estudiar los mecanismos de transformación y recombinación porque el pequeño tamaño de los genomas de los fagos permite el aislamiento de una población prácticamente homogénea de moléculas de DNA. Por el contrario, en la transformación convencional, el DNA transformante es un surtido al azar de fragmentos de DNA cromosómico de distintas longitudes, y esto tiende a complicar los experimentos diseñados para estudiar el mecanismo de transformación.

11.10 Minirrevisión

Algunos procariotas presentan competencia, un estado en el que las células son capaces de captar DNA libre procedente de otras bacterias. Para la incorporación del DNA donador en una célula receptora es necesaria la actividad de una proteína de unión a cadena sencilla, la proteína RecA, y otras enzimas. Sólo las células competentes son transformables.

- La célula bacteriana donadora en una transformación probablemente muere. Explique esta afirmación.
- Incluso en las células transformables naturalmente, la competencia es normalmente inducible. ¿Qué significa esto?

11.11 Transducción

En la **transducción**, un virus bacteriano (un bacteriófago) transfiere el DNA de una célula a otra. Los virus pueden transferir los genes del hospedador de dos maneras. En la primera, llamada *transducción generalizada*, el DNA derivado de prácticamente cualquier fragmento del genoma del hospedador es empaquetado en el interior del virión maduro en lugar del genoma vírico. En la segunda, llamada *transducción especializada*, el DNA de una región específica del cromosoma del hospedador se integra directamente en el genoma del virus —normalmente reemplazando alguno de los genes víricos—. Esto sólo ocurre con algunos virus atemperados (Sección 10.10). El bacteriófago transductor, tanto en la transducción generalizada como en la especializada, normalmente no es infeccioso, porque los genes bacterianos han sustituido todos o algunos de los genes víricos necesarios.

En la transducción generalizada, los genes donadores no pueden replicarse independientemente y no forman parte de un genoma vírico, de modo que a menos que los genes donadores se recombinen con el cromosoma bacteriano receptor, se perderán. En la transducción especializada también se puede producir recombinación homóloga. No obstante, como el DNA bacteriano del donador forma parte en realidad del genoma de un fago atemperado, se puede integrar en el cromosoma del hospedador durante la lisogenia (Sección 10.10).

La transducción se produce en toda una serie de bacterias, que incluye los géneros *Desulfovibrio, Escherichia, Pseudomonas, Rhodococcus, Rhodobacter, Salmonella, Staphylococcus* y *Xanthobacter*, así como *Methanothermobacter thermoautotrophicus*, una especie de *Archaea*. No todos los fagos pueden transducir, ni todas las bacterias son transducibles, pero el fenómeno está lo bastante extendido para jugar un papel importante en la transferencia génica en la naturaleza.

Transducción generalizada

En la transducción generalizada, prácticamente cualquier gen del cromosoma donador se puede transferir al receptor. La transducción generalizada se descubrió por vez primera y se ha estudiado extensivamente en la bacteria *Salmonella enterica* con el fago P22, y también se ha estudiado con el fago P1 en *E. coli*. En la **Figura 11.17** se puede ver un ejemplo de cómo se forman las partículas transductoras. Cuando una célula bacteriana es infectada por un fago, se puede iniciar el ciclo lítico. Sin embargo, durante la infección lítica, las enzimas responsables del empaquetamiento del DNA vírico en el bacteriófago, a veces empaquetan DNA del hospedador de forma accidental. El virión resultante recibe el nombre de *partícula transductora*. Como las partículas transductoras no pueden provocar una infección vírica (porque no contienen DNA vírico), se dice que son *defectivas*. Durante la lisis de la célula, estas partículas son liberadas junto con los viriones normales (es decir, los que contienen el genoma del virus). En consecuencia, el lisado contiene una mezcla de viriones normales y partículas transductoras.

Cuando este lisado se utiliza para infectar a una población de células receptoras, la mayoría de dichas células son infectadas por el virus normal. Sin embargo, una pequeña proporción de la población recibe las partículas transductoras, que inyectan el DNA que tienen empaquetado de la bacteria hospedadora previa. Aunque este DNA no puede replicarse, puede sufrir recombinación genética con el DNA del nuevo hospedador. Como sólo una pequeña proporción de las partículas del lisado son defectivas, y cada una de ellas contiene sólo un pequeño fragmento del DNA donador, la probabilidad de que una partícula transductora determinada contenga un gen en concreto es bastante baja. Normalmente, para un marcador determinado sólo tiene éxito la transducción en una célula de cada 10^6-10^8.

Los fagos que forman partículas transductoras pueden ser atemperados o virulentos; los requisitos fundamentales son poseer un mecanismo de empaquetamiento del DNA que acepte el DNA del hospedador, y que dicho empaquetamiento se produzca antes de que el genoma del hospedador sea completamente degradado. La transducción es más probable cuando la relación entre fagos que entran y bacterias receptoras es baja, de modo que las células sean infectadas por una sola partícula de fago; con la infección múltiple, la célula, probablemente, morirá a causa de los viriones normales del lisado.

El fago lambda y la transducción especializada

La transducción generalizada permite la transferencia de cualquier gen de una bacteria a otra, pero a baja frecuencia. Por el contrario, la transducción especializada permite una transferencia extremadamente eficiente, pero es selectiva y transfiere sólo una pequeña región del cromosoma bacteriano. En el primer caso de transducción especializada que se descubrió, el fago lambda atemperado de *E. coli* realizó la transducción de los genes galactosa.

Cuando lambda convierte en lisógena una célula hospedadora, el genoma del fago se integra en el DNA del hospedador en un sitio específico (Sección 10.10). La región en la que lambda se integra en el cromosoma de *E. coli* está próxima al grupo de genes que codifican las enzimas para la utilización de la galactosa (Figura 11.18). Tras la inserción, la replicación del DNA vírico está bajo el control del cromosoma bacteriano. Por inducción, el DNA vírico se separa del DNA del hospedador mediante un proceso que es el inverso a la integración (**Figura 11.18**). Normalmente, el DNA de lambda se corta de manera precisa como una unidad, pero en ocasiones, el corte se hace incorrectamente, y algunos de los genes bacterianos adyacentes a una parte del profago (por ejemplo, el operón galactosa) se cortan junto con el DNA del fago, al tiempo que algunos de los genes de éste se quedan en el cromosoma (Figura 11.18).

Una clase de fago alterado, llamado *lambda dgal* (*λdgal*; *dgal* significa «defectivo en galactosa»), es defectiva porque ha perdido genes y no podrá producir un fago maduro en la siguiente infección. Sin embargo, un virión lambda viable conocido como fago auxiliar puede proporcionar aquellas funciones que faltan en la partícula

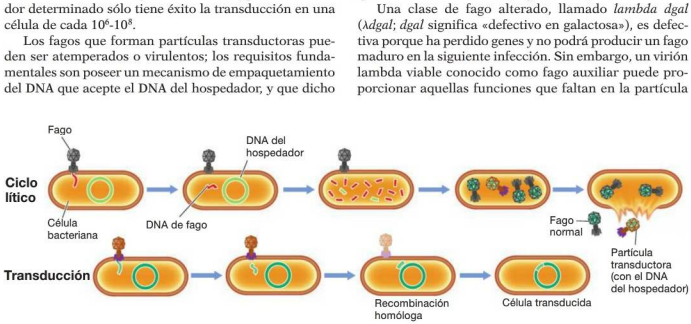


Figura 11.17 **Transducción generalizada.** Obsérvese que los viriones «normales» contienen genes del fago, mientras una partícula transductora contiene genes del hospedador.

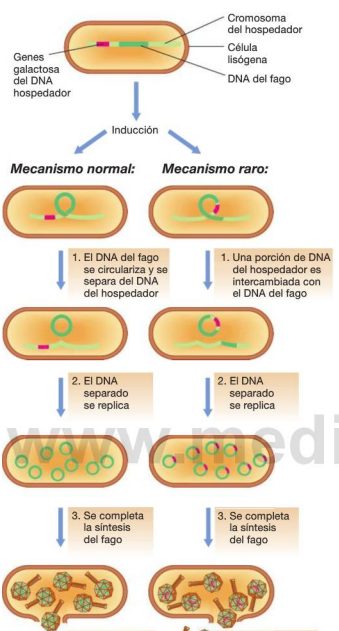


Figura 11.18 **Transducción especializada.** (*a*) Mecanismo lítico normal, y (*b*) producción de partículas transductoras de genes galactosa en una célula de *Escherichia coli* que contiene un profago lambda.

defectiva. Cuando las células son coinfectadas con *λdgal* y el fago auxiliar, el lisado del cultivo contiene algunas partículas *λdgal* mezcladas con un gran número de viriones lambda normales. Cuando un cultivo bacteriano Gal$^-$ se infecta con este lisado y se seleccionan los transductantes Gal$^+$, muchos son dobles lisógenos que llevan a lambda y a *λdgal*. Cuando se induce este doble lisógeno, el lisado contiene gran cantidad de viriones *λdgal* y puede transducir con alta eficiencia, aunque sólo para el grupo restringido de los genes *gal*.

Para que un virión de lambda sea viable, hay un límite en la cantidad de DNA fágico que se puede sustituir con DNA del hospedador. El virión debe retener suficiente DNA del fago para codificar la cubierta proteica y otras proteínas fágicas necesarias para la lisis y la lisogenia. Sin embargo, si se usa un fago auxiliar junto con un fago defectivo en una infección mixta, entonces son necesarios menos genes específicos en el fago defectivo. Sólo la región *att* (unión), el sitio *cos* (extremos cohesivos, para el empaquetamiento), y el origen de replicación del genoma de lambda son absolutamente imprescindibles para la producción de una partícula transductora cuando se usa un fago auxiliar. Borrando el sitio *att* del cromosoma normal y forzando la integración de lambda en otras regiones, se ha conseguido aislar fagos transductores especializados que cubren muchas regiones específicas del genoma de *E. coli*. Además, con técnicas de ingeniería genética se pueden construir fagos transductores de lambda que contengan genes de cualquier organismo (Sección 12.14).

Conversión fágica

La alteración del fenotipo de una célula hospedadora por lisogenia se denomina *conversión fágica*. Cuando un fago atemperado normal (es decir, no defectivo) lisogeniza una célula y se convierte en un profago, la célula resultante es inmune a la infección por otro fago del mismo tipo. Esta inmunidad se puede ver en sí misma como un cambio en el fenotipo, pero hay otros cambios fenotípicos que no están relacionados con la inmunidad a los fagos en las células lisógenas.

Hay dos casos especialmente bien estudiados de conversión fágica. Uno está relacionado con un cambio en la estructura de un polisacárido de la superficie celular de *Salmonella anatum* por lisogenia del bacteriófago ε^{15}. El segundo implica la conversión de cepas que no producen toxinas de *Corynebacterium diphteriae* (la bacteria que causa la difteria) a cepas productoras de toxinas (patógenas) después de la lisogenia del fago (Sección 34.3). En ambos casos, los genes responsables de los cambios están en una parte integral del genoma del fago y, por tanto, se transfieren automáticamente durante la infección del fago y la lisogenia.

Probablemente, la lisogenia aporta un fuerte valor selectivo para la célula hospedadora, ya que confiere resistencia a la infección de virus del mismo tipo. La conversión fágica también puede tener una importancia evolutiva significativa porque tiene como resultado la alteración genética eficiente de las células del hospedador. Muchas bacterias aisladas de la naturaleza son lisógenos naturales. Parece razonable concluir que la lisogenia es común y a menudo puede resultar esencial para la supervivencia de las células hospedadoras en la naturaleza.

11.11 Minirrevisión

La transducción es la transferencia de genes del hospedador de una bacteria a otra mediante un virus bacteriano. En la transducción generalizada, las partículas víricas defectivas incorporan fragmentos al azar de DNA del cromosoma de la célula, pero la eficiencia de la transducción es baja. En la transducción especializada, el DNA de un virus atemperado se corta incorrectamente y toma genes adyacentes del hospedador consigo; la eficiencia de la transducción en estos casos puede llegar a ser muy alta.

- ¿Cuál es la diferencia principal entre la transducción generalizada y la transformación?
- En la transducción especializada, el DNA donador puede replicarse en el interior de la célula receptora sin que se produzca recombinación homóloga, pero esto no es cierto en la transducción generalizada. Explique por qué.

11.12 Conjugación: características esenciales

La **conjugación** bacteriana (apareamiento) es un mecanismo de transferencia genética que implica el contacto entre células. La conjugación es un mecanismo codificado por un plásmido. Los plásmidos conjugativos usan este mecanismo para transferir copias de sí mismos a nuevas células hospedadoras. Por tanto, el proceso de conjugación implica una célula *donadora*, que contiene el plásmido conjugativo, y una célula *receptora*, que no lo contiene. Además, algunos elementos genéticos que no pueden transferirse, en ocasiones pueden movilizarse durante la conjugación. Estos otros elementos genéticos pueden ser otros plásmidos o el propio cromosoma del hospedador. De hecho, la conjugación se descubrió porque el plásmido F de *E. coli* puede movilizar el cromosoma del hospedador (*véase* la Figura 11.24). Los mecanismos de transferencia conjugativa pueden diferir en función del plásmido implicado, pero la mayoría de plásmidos de las bacterias gramnegativas utilizan un mecanismo similar al que usa el plásmido F.

El plásmido F

El plásmido F (la F le viene de «fertilidad») es una molécula de DNA circular de 99.159 bp. En la **Figura 11.19** se muestra su mapa genético. Una región del plásmido contiene genes que regulan la replicación del DNA. También contiene algunos elementos transponibles (Sección 11.16) que permiten al plásmido integrarse en el cromosoma del hospedador. Además, el plásmido F tiene una región larga de DNA, la región *tra*, que contiene genes que codifican las funciones de transferencia. Muchos genes de la región *tra* están implicados en la formación

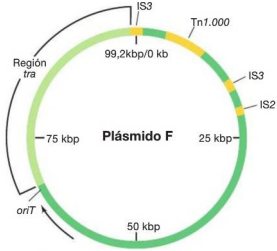


Figura 11.19 Mapa genético del plásmido F (fertilidad) de *Escherichia coli*. Los números en el interior del círculo muestran el tamaño del plásmido en pares de kilobases (el tamaño exacto es 99.159 bp). La región verde oscuro de la parte inferior del mapa contiene genes principalmente responsables de la replicación y la segregación del plásmido F. La región verde claro, la región tra, contiene los genes necesarios para la transferencia conjugativa. El sitio oriT es el origen de transferencia durante la conjugación. La flecha indica la dirección de la transferencia (la región tra se transfiere la última). Las regiones en amarillo son secuencias de inserción, que pueden recombinar con elementos idénticos en el cromosoma bacteriano, lo que lleva a la formación de diferentes cepas Hfr (*véase* la Figura 11.25).

del par de apareamiento, y la mayoría de ellos están relacionados con la síntesis de una estructura superficial, el pelo sexual (Sección 4.9). Sólo las células donadoras producen estos pelos. Los distintos plásmidos conjugativos tienen regiones *tra* ligeramente diferentes, y los pelos pueden variar un poco en su estructura. El plásmido F y los plásmidos relacionados con él codifican los pelos F.

Los pelos permiten el apareamiento específico entre las células donadoras y las receptoras. Se cree que toda la conjugación en las bacterias gramnegativas depende del apareamiento de las células a través de los pelos. El pelo forma un contacto específico con un receptor de la célula receptora y después se retrae desensamblando sus subunidades. Esto atrae entre sí a las dos células (**Figura 11.20**). Después de este proceso, las células donadora y receptora siguen en contacto mediante las proteínas de unión localizadas en la membrana externa de cada célula. Entonces se transfiere el DNA de la célula donadora a la receptora a través de esta conexión conjugativa.

Mecanismo de transferencia del DNA durante la conjugación

La síntesis de DNA es necesaria para la transferencia de DNA por conjugación. Este DNA no se sintetiza por re-

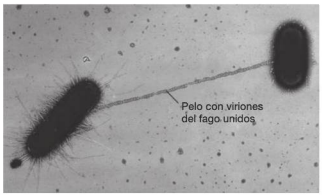
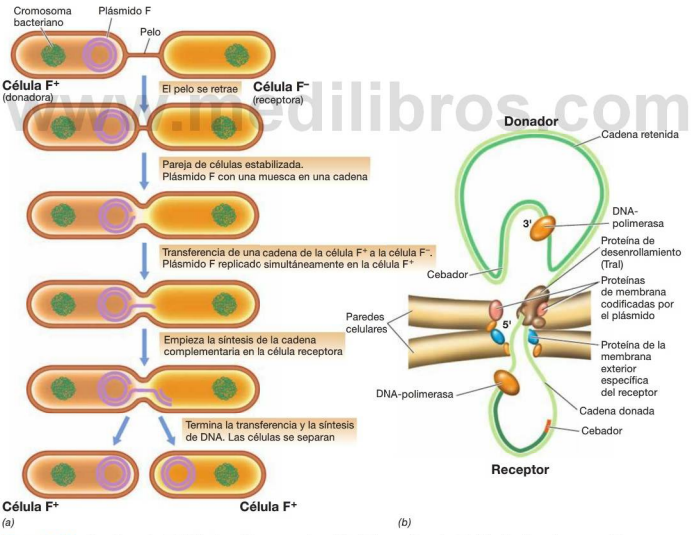


Figura 11.20 **Formación de una pareja de acoplamiento**. El primer contacto directo entre dos bacterias conjugativas se realiza a través de un pelo. Después, las células se acercan para formar una pareja de acoplamiento mediante la retracción del pelo, que se consigue por despolimerización. Algunos fagos pequeños (bacteriófagos F-específicos; Sección 19.1) utilizan el pelo sexual como receptor y se pueden ver aquí unidos al pelo.

plicación semiconservativa normal (Sección 7.6), sino por **replicación de círculo rodante**, un mecanismo que también utilizan algunos virus (Sección 10.10) y que se muestra en la **Figura 11.21**. La transferencia del DNA es desencadenada por el contacto entre las células, en el momento en que una cadena del DNA circular del plásmido es cortada y transferida al receptor. La enzima cortadora necesaria para iniciar el proceso, TraI, está codificada por el operón *tra* del plásmido F. Esta proteína también posee actividad helicasa y, por tanto, también desenrolla la cadena que se va a transferir. A medida que se produce esta transferencia, la síntesis de DNA por el mecanismo del círculo rodante reemplaza la cadena transferida en el donador, mientras se sintetiza una cadena de DNA complementario en el receptor. Así pues, al final del proceso, tanto el donador como el receptor tienen plásmidos completos. Para la transferencia del plásmido F, si una célula donadora que contiene el F, llamada F^+, se acopla con una receptora que carece del



www.medilibros.com

Figura 11.21 **Transferencia del DNA plasmídico por conjugación**. (*a*) La transferencia del plásmido F convierte una célula receptora F^- en una célula F^+. Obsérvese el mecanismo de replicación por círculo rodante (Figura 10.19). (*b*) Detalles de la replicación y proceso de transferencia.

plásmido, llamada F^-, el resultado son dos células F^+ (Figura 11.21).

La transferencia del DNA plasmídico es eficiente y rápida; en condiciones favorables, prácticamente todas las células receptoras que se acoplan con una donadora adquieren el plásmido. La transferencia del plásmido F, que comprende aproximadamente 100 kbp de DNA, tarda unos 5 minutos. Si los genes del plásmido se pueden expresar en la célula receptora, ésta se convierte a su vez en una donadora que puede transferir el plásmido a otras receptoras. De este modo, los plásmidos conjugativos pueden extenderse rápidamente entre las poblaciones bacterianas, comportándose en gran medida como agentes infecciosos. Esto es de una gran importancia ecológica, porque unas pocas células con plásmido se pueden introducir en una población de receptores y convertir a toda la población en células portadoras de plásmido (y, por tanto, donadoras) en un corto espacio de tiempo.

Los plásmidos se pueden perder de una célula por curación. Esto puede ocurrir de manera espontánea en las poblaciones naturales en las que no hay presión selectiva para mantener el plásmido. Por ejemplo, los plásmidos que confieren resistencia a antibióticos se pueden perder sin afectar a la viabilidad de la célula si no hay antibióticos en el entorno celular.

11.12 Minirrevisión

La conjugación es un mecanismo de transferencia de DNA en procariotas que requiere un contacto entre las células. La conjugación es controlada por genes que poseen determinados plásmidos (como el plásmido F) e implica la transferencia del plásmido de una célula donadora a una receptora. La transferencia del DNA del plásmido implica la replicación por el método del círculo rodante.

- En la conjugación, ¿cómo entran en contacto la célula donadora y la célula receptora?
- Explique por qué la replicación del DNA por círculo rodante permite que tanto el donador como el receptor terminen con una copia completa del plásmido transferido por conjugación.

11.13 Formación de cepas Hfr y movilización cromosómica

Los genes cromosómicos se pueden transferir por conjugación. Como ya hemos mencionado, el plásmido F de *Escherichia coli* puede, en determinadas circunstancias, movilizar al cromosoma para la transferencia durante el contacto entre células. El plásmido F es, en realidad, un episoma, un plásmido que puede integrarse en el cromosoma del hospedador y, cuando se integra, se pueden transferir los genes cromosómicos. Después de la recombinación genética entre el donador y el receptor, la transferencia génica horizontal por este mecanismo puede ser muy grande en cuanto al número y las clases diferentes de genes cromosómicos que se transfieren.

Las células que poseen un plásmido F no integrado se llaman F^+. Las que tienen un plásmido F integrado en el cromosoma son **células Hfr** (siglas en inglés de *h*igh *f*requency of *r*ecombination, alta frecuencia de recombinación). Este término se refiere a las altas tasas de recombinación genética entre genes del cromosoma donador y del cromosoma receptor. Tanto las células F^+ como las Hfr son donadoras, pero a diferencia de lo que ocurre entre una célula F^+ y una F^-, la conjugación entre un donador Hfr y un F^- lleva a la transferencia de genes del cromosoma del hospedador, ya que ahora, el cromosoma y el plásmido forman una sola molécula de DNA. En consecuencia, cuando el plásmido F inicia la replicación por círculo rodante, ésta continúa después con el cromosoma. Así, el cromosoma también se replica y se transfiere. Por lo tanto, la integración de un plásmido conjugativo proporciona un mecanismo para movilizar los recursos genéticos de la célula.

En resumen, la presencia del plásmido F provoca tres alteraciones diferentes de las propiedades de una célula: 1) la capacidad de sintetizar el pelo F; 2) la movilización del DNA para su transferencia a otra célula; y 3) la alteración de los receptores superficiales, de manera que la célula deja de actuar como un receptor en la conjugación y es incapaz de aceptar una segunda copia de plásmido F o plásmidos genéticamente relacionados.

Integración de F y movilización cromosómica

El plásmido F y el cromosoma de *E. coli* contienen varias copias de elementos móviles llamados *secuencias de inserción* (IS; Sección 11.16). Las IS proporcionan regiones de homología de secuencia entre el DNA cromosómico y el plásmido F. En consecuencia, la recombinación homóloga entre una IS del plásmido F y una IS correspondiente en el cromosoma conduce a la integración del plásmido F en el cromosoma del hospedador.

En la **Figura 11.22** se muestra la integración de un plásmido F en una IS cromosómica. Una vez integrado, el plásmido deja de controlar su propia replicación, pero el operón *tra* sigue funcionando con normalidad y la cepa sintetiza pelos, de modo que cuando la célula encuentra un receptor, se desencadena la conjugación como si se tratara de una célula F^+, y se inicia la transferencia de DNA en el sitio *oriT* (origen de la transferencia). Sin embargo, como el plásmido forma ahora parte del cromosoma, cuando se ha transferido parte del DNA plasmídico, los genes cromosómicos empiezan a transferirse también (**Figura 11.23**). Como ocurre en la conjugación de sólo el plásmido F (Figura 11.21), la transferencia del DNA cromosómico también implica replicación. Una vez realizada la transferencia, la cepa Hfr sigue siendo Hfr porque retiene una copia del plásmido F integrado. Sin embargo, la receptora no se con-

www.medil

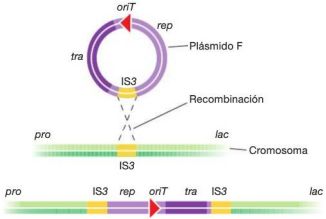


Figura 11.22 Formación de una cepa Hfr. La integración del plásmido F en el cromosoma puede ocurrir en varios sitios específicos donde se encuentran los elementos IS. El ejemplo de la figura es un IS3 situado entre los genes cromosómicos *pro* y *lac*. Se muestran algunos de los genes del plásmido F. La flecha indica el origen de transferencia, *oriT*, con la flecha como extremo conductor. Así, en esta Hfr, *pro* será el primer gen cromosómico en ser transferido, y *lac* estará entre los últimos.

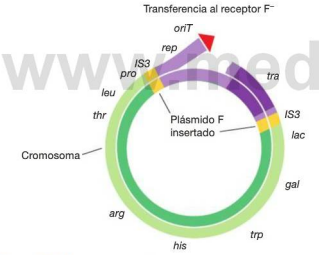


Figura 11.23 Transferencia de genes cromosómicos por una cepa Hfr. El cromosoma Hfr se rompe en el origen de transferencia en el interior del plásmido F integrado. La transferencia de DNA al receptor empieza en este punto. El DNA se replica durante la transferencia como ocurre en el caso del plásmido F libre (Figura 11.21). Esta figura no está a escala; el plásmido F insertado supone, en realidad, menos del 3% del tamaño del cromosoma de *Escherichia coli*.

vierte en Hfr porque sólo se ha transferido parte del plásmido F integrado (**Figura 11.24**).

Como en el cromosoma existen varias secuencias de inserción diferentes, hay varias cepas de Hfr distintas posibles. Una cepa Hfr determinada siempre dona los genes en el mismo orden, empezando desde la misma posición. No obstante, las cepas Hfr que difieren en la posición de integración del plásmido F en el cromosoma transfieren sus genes en órdenes diferentes (**Figura 11.25**). En algu-

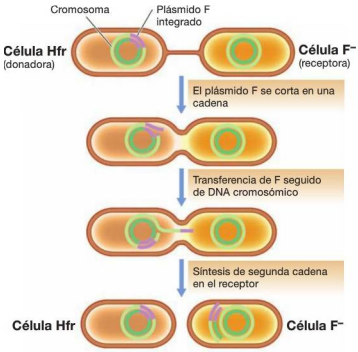


Figura 11.24 Transferencia de DNA cromosómico por conjugación. La transferencia del plásmido F integrado procedente de una cepa Hfr tiene como resultado la cotransferencia del DNA cromosómico porque está unido al plásmido. Las etapas de la transferencia son similares a las que tienen lugar en la Figura 11.21a, sin embargo, el receptor sigue siendo F^- y recibe un fragmento lineal del cromosoma donador unido a parte del plásmido F. Para que el DNA donador sobreviva, debe recombinarse con el cromosoma receptor tras la transferencia (no se muestra).

nas secuencias de inserción, el plásmido F es integrado con el origen apuntando en un sentido, y en otras secuencias lo hace en el sentido contrario. La orientación del plásmido F determina los genes cromosómicos que entrarán primero en el receptor (Figura 11.25). Usando varias cepas Hfr en experimentos de acoplamiento, fue posible determinar la disposición y la orientación de prácticamente todos los genes del cromosoma de *E. coli* mucho antes de que fuera secuenciado.

Como la cadena de DNA siempre se rompe durante la transferencia, sólo parte del cromosoma donador es transferido. Y puesto que un cromosoma parcial no se puede replicar, para que el DNA donador entrante pueda sobrevivir, debe recombinarse con el cromosoma del receptor. Después de la recombinación, la célula receptora puede expresar un nuevo fenotipo debido a la incorporación de genes del donador. Aunque las cepas Hfr transmiten los genes cromosómicos con alta frecuencia, generalmente no convierten las células F^- en F^+ o Hfr, porque raramente se transfiere el plásmido entero. En cambio, un cruce Hfr × F^- genera el Hfr original y una célula F^- que ahora tiene un genotipo nuevo. Al igual que en la transformación y en la transducción, la

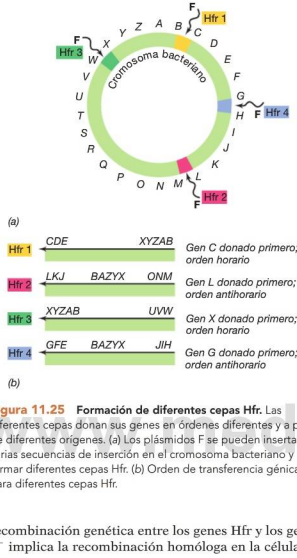


Figura 11.25 **Formación de diferentes cepas Hfr.** Las diferentes cepas donan sus genes en órdenes diferentes y a partir de diferentes orígenes. (*a*) Los plásmidos F se pueden insertar en varias secuencias de inserción en el cromosoma bacteriano y formar diferentes cepas Hfr. (*b*) Orden de transferencia génica para diferentes cepas Hfr.

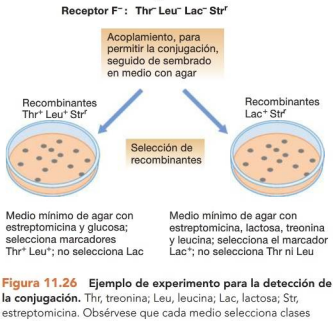


Figura 11.26 **Ejemplo de experimento para la detección de la conjugación.** Thr, treonina; Leu, leucina; Lac, lactosa; Str, estreptomicina. Obsérvese que cada medio selecciona clases específicas de recombinantes. Los controles del experimento se hacen sembrando muestras del donador y del receptor antes de mezclarse. Ninguno de los dos debería ser viable para crecer en los medios selectivos utilizados.

www.elibros.com

recombinación genética entre los genes Hfr y los genes F^- implica la recombinación homóloga en la célula receptora.

Uso de las cepas Hfr en cruzamientos genéticos

Al igual que cualquier sistema de transferencia génica bacteriana, el investigador selecciona recombinantes de la conjugación. No obstante, al contrario que en la transformación y la transducción, tanto la célula donadora como la receptora son viables durante la conjugación. Es, pues, necesario escoger las condiciones de selección en las que los recombinantes de interés puedan crecer, pero no así las cepas progenitoras. Normalmente, se utiliza un receptor que sea resistente a un antibiótico, pero auxótrofo para algún nutriente, y un donador que sea sensible al antibiótico pero protótrofo para el mismo nutriente. De este modo, en el medio mínimo que contenga el antibiótico, después del acoplamiento sólo crecerán las células recombinantes.

Así, por ejemplo, en el experimento que se muestra en la **Figura 11.26**, un donador Hfr que es sensible a la estreptomicina (Str^s) y es de tipo salvaje para la síntesis de los aminoácidos treonina y leucina (Thr^+ y Leu^+) y para la utilización de lactosa (Lac^+) se acopla con una célula receptora que no puede sintetizar estos aminoácidos ni utilizar la lactosa, pero es resistente a la estreptomicina (Str^r). El medio selectivo mínimo contiene estreptomicina para que sólo las células recombinantes puedan sobrevivir. La composición de cada medio selectivo varía en función de las características genotípicas deseadas para el recombinante, como se observa en la Figura 11.26. La frecuencia de transferencia génica se mide contando las colonias crecidas en el medio selectivo.

El orden en que los genes están presentes en el cromosoma donador también se puede determinar siguiendo la cinética de transferencia de marcadores individuales. Por ejemplo, en el proceso llamado *acoplamiento interrumpido*, las células conjugativas se separan por agitación en un mezclador o una batidora. Si se agitan mezclas de células Hfr y F^- a diferentes tiempos después de su mezcla, y se cuentan los recombinantes genéticos, se observa que cuanto más tiempo transcurre entre el acoplamiento y la agitación, mayor es el número de genes de Hfr que se encuentran en el recombinante. Como se puede ver en la **Figura 11.27**, los genes que se encuentran más cerca del origen de transferencia entran en la célula receptora antes y están presentes en mayor porcentaje de los recombinantes que los genes que se transfieren más tarde. Además de demostrar que la transferencia génica del donador al receptor se produce de manera secuencial, esta clase de experimentos proporciona un método para determinar el orden de los genes en el cromosoma bacteriano.

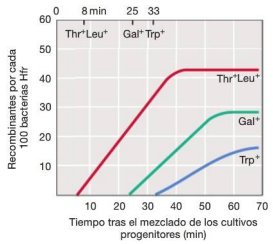


Figura 11.27 Tiempo de entrada de los genes en un cultivo de apareamiento. Se muestra la tasa de aparición de recombinantes que contienen diferentes genes tras el acoplamiento de las bacterias Hfr y F^-. En la parte superior izquierda se muestra la localización de los genes a lo largo del cromosoma Hfr. Los genes más cercanos al origen (0 min) son los primeros en transferirse. El experimento se realizó mezclando las células Hfr y F^- en condiciones en las que la mayoría de células Hfr encuentran receptores. A distintos tiempos se agitan vigorosamente muestras de la mezcla para separar las parejas en acoplamiento y se siembran en medio selectivo en el que sólo los recombinantes pueden formar colonias.

Transferencia de genes cromosómicos al plásmido F

En ocasiones, los plásmidos F integrados se pueden escindir del cromosoma. Durante la escisión se pueden incorporar algunos genes cromosómicos al plásmido F liberado; esto ocurre porque el plásmido F y el cromosoma tienen múltiples secuencias de inserción idénticas cuando se produce la recombinación (Figura 11.23). Los plásmidos F que contienen genes cromosómicos se llaman *plásmidos F′*, y se diferencian de los plásmidos F normales en que contienen genes cromosómicos identificables. Cuando los plásmidos F′ promueven la conjugación, transfieren estos genes cromosómicos a alta frecuencia a los receptores. La transferencia mediada por F′ se parece a la transducción especializada (Sección 11.11) en que un plásmido F′ determinado transfiere sólo un grupo restringido de genes cromosómicos. La transferencia de un F′ conocido a un receptor permite el establecimiento de diploides (dos copias de cada gen) para una región limitada del cromosoma. Estos diploides parciales son importantes para los análisis de complementación, como veremos en la siguiente sección.

Otros sistemas de conjugación

Aunque hemos estudiado la conjugación casi exclusivamente como ocurre en *E. coli*, se han encontrado plásmidos conjugativos en muchas otras bacterias gramnegativas. Los plásmidos conjugativos del grupo de incompatibilidad IncP se pueden mantener prácticamente en todas las bacterias gramnegativas e incluso transferirse entre géneros distintos. También se conocen plásmidos conjugativos en las bacterias grampositivas (por ejemplo, en *Streptococcus* y *Staphylococcus*). En algunas arqueas también se da un proceso de transferencia genética similar a la conjugación bacteriana (Sección 11.15).

11.13 Minirrevisión

El cromosoma de la célula donadora se puede movilizar para la transferencia a una célula receptora. Para ello, es necesario que el plásmido F se integre en el cromosoma para formar el fenotipo Hfr. La transferencia del cromosoma del hospedador rara vez es completa, pero se puede utilizar para mapear el orden de los genes en el cromosoma. Los plásmidos F′ son plásmidos F previamente integrados que, al escindirse, han capturado algunos genes cromosómicos.

- En la conjugación en que participa el plásmido F de *Escherichia coli*, ¿cómo se moviliza el cromosoma del hospedador?
- ¿Por qué un acoplamiento Hfr × F^- no produce dos células Hfr?
- ¿En qué secuencias del cromosoma se puede integrar el plásmido F?

www.medilibros.com

11.14 Complementación

En los tres métodos de transferencia génica bacteriana, sólo un fragmento del cromosoma donador entra en el receptor. Por tanto, a menos que se produzca recombinación con el cromosoma receptor, el DNA del donador se perderá porque no puede replicarse independientemente en la célula receptora. Sin embargo, es posible mantener de manera estable un estado de diploidía parcial para su uso en los análisis de genética bacteriana, como veremos a continuación.

Merodiploides y complementación

Una cepa bacteriana con dos copias de un segmento cromosómico concreto se conoce como diploide parcial o *merodiploide*. En general, una copia está presente en el cromosoma y la otra en otro elemento genético, como un plásmido o un bacteriófago. Como es posible crear un fago transductor especializado o plásmidos específicos usando las técnicas de DNA recombinante (Capítulo 12), es posible introducir cualquier porción del cromosoma bacteriano en un fago o un plásmido.

En consecuencia, si la copia cromosómica de un gen es defectiva a causa de una mutación, es posible proporcionar una copia funcional del gen en un plásmido o en un fago. Por ejemplo, si uno de los genes para la biosín-

tesis de triptófano ha sido inactivado, esto provocará un fenotipo Trp^-. Es decir, la cepa mutante será auxótrofa en triptófano y necesitará el aminoácido para crecer. Sin embargo, si se inserta una copia del gen salvaje en la misma célula mediante un plásmido o un virus, este gen codificará la proteína necesaria y restablecerá el fenotipo salvaje. Este proceso se llama *complementación*, porque el gen salvaje complementa la mutación, en este caso convirtiendo la célula Trp^- en Trp^+.

Análisis de complementación y el cistrón

Cuando dos cepas mutantes se entrecruzan genéticamente (ya sea por conjugación, transducción o transformación), la recombinación homóloga puede dar lugar a recombinantes del tipo salvaje a menos que ambas mutaciones afecten exactamente a los mismos pares de bases. Por ejemplo, si dos mutantes Trp^- diferentes de *Escherichia coli* se cruzan y se obtienen recombinantes Trp^+, es obvio que las mutaciones en las dos cepas no estaban en los mismos pares de bases. No obstante, este tipo de experimento no puede determinar si las dos mutaciones están en genes diferentes que afectan ambos a la síntesis de triptófano o bien están en diferentes regiones del mismo gen. Esto se puede determinar mediante un análisis de complementación.

Para llevar a cabo un análisis de complementación, debe haber dos copias de la región de DNA que se quiere investigar, en dos moléculas diferentes de DNA. Normalmente, una copia está presente en el cromosoma, y la otra se encuentra en una segunda molécula de DNA, típicamente un plásmido. Por ejemplo, si estamos analizando mutantes en la biosíntesis del triptófano, entonces deberán estar presentes dos copias del operón triptófano completo.

Supongamos que queremos saber si dos cepas Trp^- tienen una mutación en el mismo gen. Para ello, debemos procurar que una mutación esté en el cromosoma y la otra en un plásmido. Se dice entonces que esas mutaciones están en *trans* la una respecto a la otra. Si las dos mutaciones están en el *mismo* gen, la célula recombinante tendrá dos copias defectivas del mismo gen y presentará un fenotipo negativo. Por el contrario, si las mutaciones están en genes *diferentes*, el receptor tendrá una copia no mutada de cada gen (una en el cromosoma y la otra en el plásmido) y será capaz de sintetizar triptófano. Las combinaciones posibles se muestran esquemáticamente en la **Figura 11.28**. Si una molécula de DNA lleva ambas mutaciones (es decir, que las mutaciones están en *cis*), una segunda molécula de DNA puede complementarla si es del tipo salvaje para ese gen determinado. Tener las mutaciones en *cis* sirve como control positivo en un experimento de complementación. Este tipo de análisis de complementación se llaman análisis en *cis-trans*.

Un gen definido por el análisis *cis-trans* se denomina **cistrón**, y es equivalente a definir un gen estructural como un segmento de DNA que codifica una sola cadena polipeptídica. Si se producen dos mutaciones en genes

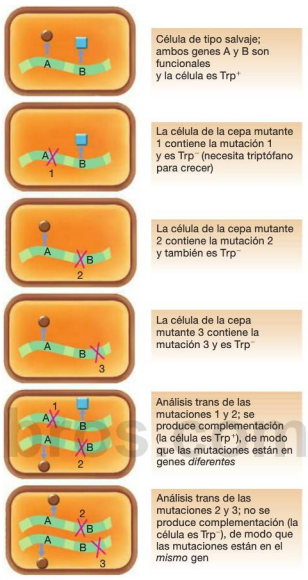


Figura 11.28 **Análisis de complementación**. En este ejemplo, los productos proteicos de ambos genes, A y B, son necesarios para sintetizar el triptófano. Las mutaciones 1, 2 y 3 producen el mismo fenotipo, la necesidad de triptófano (Trp^-). El análisis de complementación indica que las mutaciones 2 y 3 están en el mismo gen, y la mutación 1 está en un gen diferente.

que codifican enzimas diferentes, o incluso subunidades proteicas diferentes de la misma enzima, la complementación de las dos mutaciones es posible, y entonces las mutaciones no están en el mismo cistrón (Figura 11.28). Obsérvese que la complementación no depende de la recobinación; los dos genes en cuestión siguen estando en elementos genéticos diferentes.

Aunque se siguen haciendo análisis de complementación en genética bacteriana, generalmente es más fácil secuenciar el gen en cuestión para identificar la naturaleza y la ubicación de cualquier mutación. Esto es especialmente cierto si la secuencia del tipo salvaje se conoce ya. La palabra «cistrón» se utiliza raramente en la genética

microbiana actual excepto para describir si un mRNA tiene la información genética procedente de un gen (mRNA *monocistrónico*) o de varios (mRNA *policistrónico*) (Sección 7.12).

11.14 Minirrevisión

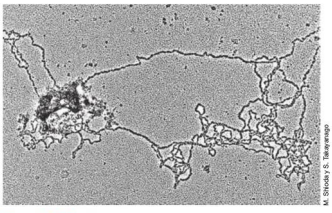
Una copia defectiva de un gen se puede complementar por la presencia de una segunda copia no mutada del gen. La construcción de merodiploides con dos copias de un gen o genes específicos permite la realización de análisis de complementación para determinar si dos mutaciones están en el mismo gen o en genes diferentes. Esto es necesario cuando las mutaciones en diferentes genes de la misma ruta producen el mismo fenotipo. En los análisis de complementación no se produce recombinación.

- ¿Qué es un merodiploide?
- Los análisis de complementación se denominan también análisis cis-trans. Explique por qué.

11.15 Transferencia génica en arqueas

Aunque las arqueas tienen un solo cromosoma circular como la mayoría de las bacterias (**Figura 11.29**) y se han secuenciado completamente los genomas de varios miembros de las arqueas, el desarrollo de la transferencia génica sigue estando muy por detrás del de las bacterias. Entre los problemas prácticos se incluye la necesidad de cultivar muchas arqueas en condiciones extremas. Así, las temperaturas necesarias para cultivar algunos hipertermófilos fundirían el agar, y son necesarios materiales alternativos para formar medios sólidos y obtener colonias.

Otro problema es que la mayoría de antibióticos no afectan a las arqueas. Así, por ejemplo, las penicilinas no les afectan porque sus paredes celulares carecen de peptidoglicano. La elección de marcadores seleccionables para los cruzamientos genéticos está, pues, limitada. No obstante, la novobiocina (un inhibidor de la DNA-girasa) y la meviolina (un inhibidor de la biosíntesis de isoprenoides) se utilizan para inhibir a los halófilos, y la puromicina y la neomicina (ambos inhibidores de la síntesis proteica) inhiben a los metanógenos.



M. Shioda y S. Takayanagi

Figura 11.29 Un cromosoma de arquea visto al microscopio electrónico. El cromosoma circular es del hipertermófilo *Sulfolobus*, un miembro de *Archaea*.

Sistemas genéticos de las arqueas

Ninguna especie de *Archaea* se ha convertido en organismo modelo para la genética de las arqueas, aunque probablemente se haya hecho más trabajo genético en la selección de especies de halófilos extremos (*Halobacterium, Haloferax*, Sección 17.3) que en cualquier otra arquea. En cambio, los mecanismos individuales para la transferencia génica se han extendido por toda una gama de arqueas. Se conocen ejemplos de transformación, transducción vírica y conjugación. Además, se han aislado varios plásmidos en arqueas y algunos se han utilizado para construir vectores de clonación, lo que ha permitido el análisis genético mediante la clonación y la secuenciación en lugar de los cruzamientos genéticos tradicionales. La mutagénesis por transposones está muy desarrollada en algunas especies de metanógenos, incluyendo *Methanococcus* y *Methanosarcina*, y también se han desarrollado otras herramientas como vectores lanzadera y otros métodos *in vitro* de análisis genético para el estudio de la bioquímica tan inusual de los metanógenos (Sección 17.4).

La transformación funciona razonablemente bien en algunas arqueas. Los procedimientos de transformación varían en los detalles de organismo a organismo. Uno de ellos implica la eliminación de iones metálicos divalentes, que a su vez provoca el desensamblaje de la capa de glicoproteínas de la pared celular que rodea muchas células de las arqueas y, por tanto, permite el acceso del DNA. No obstante, las arqueas con paredes celulares rígidas han resultado difíciles de transformar, aunque la electroporación funciona a veces. Una excepción la encontramos en la especie *Methanosarcina*, formada por organismos con una pared celular gruesa, para los que se han desarrollado sistemas de transformación de alta eficiencia que utilizan preparaciones lipídicas (liposomas) cargadas con DNA para descargarlo en el interior de la célula.

Si bien hay multitud de virus que infectan a las arqueas, la transducción vírica es extremadamente rara. Sólo en un virus, que infecta al termófilo metanógeno *Methanobacterium thermoautotrophicum*, se ha demostrado la transducción eficiente de genes de su hospedador. Lamentablemente, el pequeño tamaño de la explosión (unos seis fagos liberados por célula) hace poco práctico este sistema para la transferencia génica.

Se han detectado dos tipos de conjugación en arqueas. Algunas cepas de *Sulfolobus solfataricus* (Sección 17.10) contienen plásmidos que promueven la conjugación en-

tre dos células de un modo similar al que se ha visto en bacterias. En este proceso, el apareamiento entre células se produce antes de la transferencia del plásmido, y la transferencia del DNA es unidireccional. Sin embargo, la mayoría de los genes que codifican estas funciones parecen tener pocas semejanzas con los de las bacterias gramnegativas. La excepción es un gen similar a *traG* del plásmido F, cuyo producto proteico está implicado en la estabilización de las parejas de acoplamiento. Así, parece probable que el mecanismo real de conjugación en arqueas sea bastante diferente al de las bacterias.

Por otra parte, algunas halobacterias desarrollan una nueva forma de conjugación en la que no están implicados plásmidos de fertilidad, y la transferencia de DNA es bidireccional. Se forman puentes citoplasmáticos entre las células acopladas que parecen usarse para la transferencia del DNA. No se ha desarrollado ningún tipo de conjugación hasta el punto de poder utilizarla para la transferencia génica rutinaria ni para el análisis genético. No obstante, es probable que estos recursos genéticos sean útiles para desarrollar sistemas genéticos sencillos en estos organismos.

11.15 Minirrevisión

Las arqueas están muy por detrás de las bacterias en cuanto al desarrollo de sistemas de transferencia génica. Muchos antibióticos son ineficaces frente a las arqueas, lo que hace difícil la selección de recombinantes. Además, las condiciones de crecimiento poco habituales necesarias para muchas arqueas hacen difícil la experimentación genética. Sin embargo, los sistemas de transferencia genética de las bacterias —transformación, transducción y conjugación— también se han encontrado entre las arqueas.

- ¿Por qué normalmente es más difícil seleccionar recombinantes en arqueas que en bacterias?
- ¿Por qué las penicilinas no matan a las arqueas?

11.16 DNA móvil: elementos transponibles

Como ya hemos visto, las moléculas de DNA pueden moverse de una célula a otra, pero para un genético, el término «DNA móvil» tiene un significado especializado. El DNA móvil se refiere a segmentos discretos de DNA que se mueven como unidades de una ubicación a otra *dentro de* otras moléculas de DNA. Si bien el DNA de algunos virus se puede insertar y escindirse del genoma de la célula hospedadora, la mayoría de DNA móvil consiste en **elementos transponibles**, porciones de DNA que pueden moverse de un sitio a otro. Sin embargo, los elementos transponibles se encuentran siempre insertos en otra molécula de DNA como un plásmido, un cromosoma o un genoma vírico. Los elementos transponibles no poseen su propio origen de replicación. En cambio, se replican cuando lo hace la molécula de DNA hospedador en la que están insertos.

Los elementos transponibles se mueven por un proceso, llamado *transposición*, que es importante tanto en la evolución como en el análisis genético. La frecuencia de transposición es extremadamente variable, y va desde 1 entre 1.000 a 1 entre 10.000.000 por elemento transponible por generación de células, según el elemento transponible y el organismo. La transposición fue observada por vez primera por Barbara McClintock en el maíz en la década de 1940, antes incluso de que se descubriera la doble hélice del DNA. McClintock recibió más tarde el Premio Nobel por este descubrimiento. Los detalles moleculares de la transposición se determinaron utilizando bacterias, gracias a la realización de potentes análisis genéticos en estos organismos. Los elementos transponibles están muy extendidos en la naturaleza, y se pueden encontrar en los tres dominios de la vida, así como en muchos virus y plásmidos.

Transposones y secuencias de inserción

Los dos tipos principales de elementos transponibles en bacterias son las *secuencias de inserción* y los *transposones*. Estos elementos tienen dos importantes rasgos en común: contienen genes que codifican la transposasa, la enzima necesaria para la transposición, y tienen cortas repeticiones invertidas en los extremos, que también son necesarias para la transposición. Obsérvese que los extremos de los elementos transponibles no son libres, sino continuos con la molécula de DNA del hospedador en la que se ha insertado el elemento transponible. La **Figura 11.30** muestra el mapa genético del elemento de inserción IS2 y del transposón Tn5.

Las **secuencias de inserción (IS)** son los elementos transponibles más sencillos que se conocen. Son segmentos cortos de DNA, de unos 1.000 nucleótidos de longitud, que contienen repeticiones invertidas de entre 10 y 50 bp. Cada IS diferente tiene un número específico de pares de bases en sus repeticiones terminales. El único gen que poseen es el de la transposasa. Se han caracterizado varios cientos de elementos IS diferentes, y se encuentran en cromosomas y plásmidos de bacterias y arqueas, así como en algunos bacteriófagos. Las cepas individuales de las mismas especies bacterianas varían en la cantidad y la ubicación de los elementos IS que contienen. Por ejemplo, una cepa de *Escherichia coli* tiene cinco copias de IS2 y cinco de IS3. Muchos plásmidos, como el plásmido F, también contienen secuencias de inserción. De hecho, la integración del plásmido F en el cromosoma de *E. coli* es debida a la recombinación homóloga entre secuencias de inserción idénticas entre el plásmido F y el cromosoma (Sección 11.13).

Los **transposones** son más grandes que las secuencias de inserción, pero tienen los mismos componentes esenciales: repeticiones invertidas en ambos extremos y

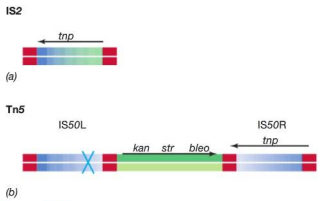


Figura 11.30 **Mapas de los elementos transponibles IS2 y Tn5**. En rojo se muestran las repeticiones invertidas. Las flechas encima de los mapas indican el sentido de la transcripción de algunos genes de los elementos. El gen que codifica la transposasa es *tnp*. (*a*) IS2 es una secuencia de inserción de 1.327 bp con repeticiones invertidas de 41 bp en sus extremos. (*b*) Tn5 es un transposón compuesto de 5,7 kbp que contiene las secuencias de inserción IS50L e IS50R en los extremos izquierdo y derecho, respectivamente. IS50L no puede realizar la transposición independientemente porque hay una mutación sin sentido, marcada por una cruz azul, en su gen transposasa. Aparte de esto, los dos elementos IS50 son prácticamente idénticos. Los genes *kan*, *str* y *bleo* confieren resistencia a los antibióticos kanamicina (y neomicina), estreptomicina y bleomicina. Tn5 se usa normalmente para generar mutantes en *Escherichia coli* y otras bacterias gramnegativas.

un gen que codifica la transposasa. La transposasa reconoce las repeticiones invertidas y mueve el segmento de DNA flanqueado por ellas de un sitio a otro. En consecuencia, cualquier DNA que se encuentra entre las dos repeticiones invertidas se mueve y forma, a todos los efectos, parte del transposón. Los genes incluidos en los transposones varían mucho. Algunos de ellos, como los genes de resistencia a antibióticos, confieren importantes propiedades al organismo que alberga el transposón. Como la resistencia a antibióticos es importante y fácil de detectar, los transposones más ampliamente investigados tienen genes de resistencia a antibióticos como marcadores seleccionables. Los ejemplos incluyen el transposón Tn5, que contiene resistencia a kanamicina (Figura 11.30) y Tn10, con resistencia a tetraciclina.

Como cualquier gen que se encuentra entre las repeticiones invertidas se convierte en parte de un transposón, es posible conseguir transposones híbridos que muestran comportamientos complejos. Por ejemplo, los transposones conjugativos contienen genes *tra* y pueden moverse entre especies bacterianas por conjugación, así como transponerse de un sitio a otro dentro del genoma de una misma bacteria. Aún más complejo es el bacteriófago Mu, que es a la vez un virus y un transposón (Sección 19.4). En este caso, se trata de un genoma vírico completo contenido dentro de un transposón. Otros elementos genéticos compuestos consisten en un segmento de DNA entre dos secuencias de inserción idénticas. Toda la estructura se puede mover como una unidad que se conoce como *transposón compuesto*. El comportamiento de los transposones compuestos indica que probablemente surgen transposones nuevos de manera periódica en las células que contienen secuencias de inserción situadas cerca una de la otra.

Mecanismos de transposición

Tanto las repeticiones invertidas que se encuentran en los extremos de los elementos transponibles como la transposasa son esenciales para la transposición. La transposasa reconoce, corta y liga el DNA durante la transposición. Cuando un elemento transponible se inserta en el DNA diana, una corta secuencia en el sitio de integración de dicho DNA diana se duplica durante el proceso de inserción (**Figura 11.31**). La duplicación surge porque la transposasa realiza cortes en una sola cadena del DNA. Después se une el elemento transponible a los extremos de cadena sencilla que se han generado. Por último, las enzimas del hospedador reparan las porciones de cadena sencilla, lo que tiene como resultado la duplicación.

Se conocen dos mecanismos de transposición: la *conservativa* y la *replicativa* (**Figura 11.32**). En la transposición conservativa, como es el caso del transposón Tn5, el transposón es escindido de una ubicación y reinsertado en otra. Por tanto, el número de copias de un transposón conservativo sigue siendo uno. Por otra parte, durante la transposición replicativa, se produce una nueva copia, que se inserta en la segunda ubicación. Así, tras la transposición replicativa, una copia permanece en su sitio original y hay una segunda copia en la nueva ubicación.

La transposición es un tipo de recombinación llamada recombinación *específica de sitio*, porque unas secuencias específicas de DNA (las repeticiones invertidas y la secuencia diana) son reconocidas por una proteína (la transposasa). Esto contrasta con la recombinación *homóloga* (Sección 11.9), en la que secuencias homólogas de DNA se reconocen entre sí por apareamiento de sus bases.

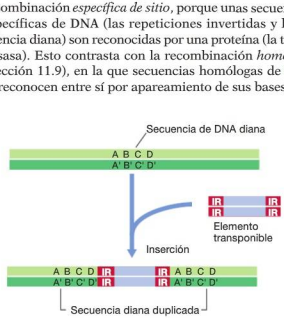


Figura 11.31 **Transposición**. La inserción de un elemento transponible genera una duplicación de la secuencia diana. Obsérvese la presencia de repeticiones invertidas (IR) en los extremos del elemento transponible.

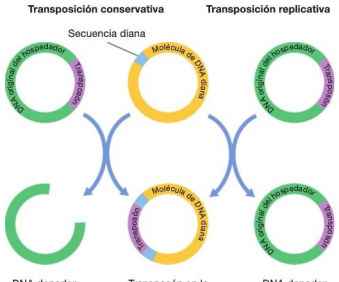


Figura 11.32 **Dos mecanismos de transposición.** El DNA donador (que contiene el transposón) se muestra en verde claro, y el DNA receptor que contiene la secuencia diana se muestra en amarillo. Tanto en la transposición conservativa como en la replicativa, la transposasa inserta el transposón (lila) en el sitio diana (azul) del DNA receptor. Durante este proceso, la secuencia diana se duplica. En la transposición conservativa, el DNA donador se queda con un corte en la doble cadena en la ubicación previa del transposón. Por el contrario, tras la transposición replicativa, tanto el DNA donador como el receptor contienen una copia del transposón.

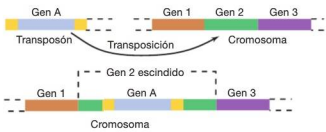


Figura 11.33 **Mutagénesis por transposón.** El transposón se desplaza al medio del gen 2. Así, el gen 2 queda escindido por el transposón y es inactivado. El gen A del transposón se expresa en ambas ubicaciones

Mutagénesis con transposones

Cuando un transposón se inserta en el interior de un gen, este gen en concreto sufre una mutación (**Figura 11.33**). Las mutaciones debidas a la inserción de un transposón se producen de forma natural. No obstante, el uso de transposones para generar mutaciones es un modo conveniente de crear mutantes bacterianos en el laboratorio. Normalmente se utilizan transposones que contienen genes de resistencia a antibióticos. El transposón se introduce en la célula diana mediante un fago o un plásmido que no pueda replicarse en ese hospedador en concreto. En consecuencia, las colonias resistentes a antibióticos serán debidas principalmente a la inserción de un transposón en el genoma bacteriano.

Como los genomas bacterianos contienen relativamente poco DNA no codificante, la mayoría de inserciones de transposones se producirán en genes que codifican proteínas. Si se insertan en un gen que codifique una proteína esencial, la mutación puede ser mortal en determinadas condiciones de crecimiento y resultar adecuada para la selección genética. Por ejemplo, si las inserciones de transposones se seleccionan en un medio rico en el que todos los auxótrofos pueden crecer, a continuación se pueden rastrear en medio mínimo suplementado con varios nutrientes para determinar si un nutriente determinado es necesario. Después se pueden realizar análisis adicionales para identificar el gen que el transposón ha escindido. Las mutaciones auxótrofas debidas a inserción de transposones son muy útiles en la genética bacteriana. Normalmente, los recombinantes auxótrofos no pueden ser aislados por selección positiva. Sin embargo, la presencia de un transposón con un marcador de resistencia a antibióticos permite dicha selección positiva.

Dos transposones ampliamente utilizados para la mutagénesis de *E. coli* y bacterias relacionadas son Tn*5* (Figura 11.30), que confiere resistencia a neomicina y kanamicina, y Tn*10*, que confiere resistencia a la tetraciclina. Muchas bacterias, algunas arqueas y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* han sido mutadas utilizando el método de mutagénesis por transposón. Más recientemente, los transposones se han utilizado incluso para aislar mutaciones en animales, incluyendo ratones.

11.16 Minirrevisión

Los transposones y las secuencias de inserción son elementos genéticos que pueden moverse de una ubicación en una molécula de DNA hospedador a otra por transposición, un tipo de recombinación específica de sitio. La transposición puede ser replicativa o conservativa. A menudo los transposones contienen genes que codifican resistencia a antibióticos y pueden usarse como mutágenos biológicos.

- ¿Qué características tienen en común las secuencias de inserción y los transposones?
- ¿Cuál es la importancia de las repeticiones invertidas terminales de los transposones?

www.medilibros.com

Glosario de términos

Auxótrofo: organismo que ha desarrollado una necesidad nutricional, a menudo como resultado de una mutación.

Célula Hfr: célula con el plásmido F integrado en el cromosoma.

Cepa de tipo salvaje: cepa bacteriana aislada de la naturaleza.

Cepa mutadora: cepa mutante cuya tasa de mutación ha aumentado.

Cistrón: gen definido por el análisis *cis-trans;* segmento de DNA (o RNA) que codifica una sola cadena polipeptídica.

Conjugación: transferencia de genes de una célula procariota a otra mediante un mecanismo que implica el contacto entre las células.

Elemento transponible: elemento genético con capacidad para moverse (transponerse) de un sitio a otro en las moléculas del DNA hospedador.

Fenotipo: características observables de un organismo.

Genotipo: estructura genética completa de un organismo; descripción completa de la información genética de una célula.

Heterodúplex: doble hélice de DNA compuesta por cadenas sencillas de dos moléculas de DNA diferentes.

Mutación de cambio de sentido: mutación en la que se altera un solo codón, de modo que un aminoácido de la proteína es sustituido por un aminoácido diferente.

Mutación espontánea: mutación que ocurre «naturalmente», sin ayuda de sustancias ni radiación mutágenas.

Mutación inducida: mutación causada por agentes externos como sustancias mutágenas o radiación.

Mutación puntual: mutación en un solo par de bases.

Mutación silenciosa: cambio en la secuencia del DNA que no tiene ningún efecto en el fenotipo.

Mutación sin sentido: mutación en la que el codón de un aminoácido se ha cambiado por un codón de parada.

Mutación: cambio heredable en la secuencia de bases del genoma de un organismo.

Mutágeno: agente que causa mutación.

Mutante: Organismo cuyo genoma contiene una mutación.

Plásmido: elemento genético extracromosómico que no tiene forma extracelular.

Rastreo (*screening*): proceso que permite la identificación de organismos por fenotipo o genotipo, pero no inhibe ni estimula el crecimiento de fenotipos o genotipos concretos.

Recombinación: proceso por el cual las moléculas de DNA de dos fuentes diferentes intercambian secciones o se juntan en una sola molécula de DNA.

Regulón: conjunto de genes u operones que se transcriben por separado pero están sujetos a un control coordinado por la misma proteína reguladora.

Replicación por círculo rodante: mecanismo de replicación del DNA circular de doble cadena que empieza cortando y desenrollando una cadena y utiliza la otra (todavía circular) como molde para la síntesis de DNA.

Reversión: alteración del DNA que revierte los efectos de una mutación anterior.

Secuencia de inserción (IS): el tipo más simple de elemento transponible, que contiene sólo genes implicados en la transposición.

Selección: proceso por el que se sitúan organismos en condiciones en las que el crecimiento de los que presentan un fenotipo o genotipo concreto serán favorecidos o inhibidos.

Transducción: transferencia de genes de la célula hospedadora de una célula a otra mediante un virus.

Transformación: transferencia de genes bacterianos que implica DNA libre (pero *véanse* usos alternativos en el Capítulo 10).

Transición: mutación en la que una base pirimidínica es sustituida por otra base pirimidínica o una purina es sustituida por otra purina.

Transposón: clase de elemento transponible que contiene genes además de los implicados en la transposición.

Transversión: mutación en la que una base pirimidínica es sustituida por una purina o viceversa.

www.nombre-de-la-web.com

Preguntas de repaso

1. ¿Cuál es el tamaño del cromosoma de *Escherichia coli*? ¿Cuántas proteínas codifica? ¿Cuánto DNA no codificante está presente en el cromosoma de *E. coli* (Sección 11.1)?
2. ¿Cómo se replican los plásmidos y en qué se diferencia de la replicación cromosómica (Sección 11.2)?
3. ¿Qué son los factores R y qué implicaciones médicas tienen (Sección 11.3)?
4. Escriba una definición de una sola frase para el término «genotipo». Haga lo mismo con el término «fenotipo». ¿Cambia automáticamente el fenotipo de un organismo cuando se produce un cambio en el genotipo? ¿Por qué? ¿Puede cambiar el fenotipo sin que se produzca un cambio en el genotipo? En ambos casos, dé ejemplos que apoyen su respuesta (Sección 11.4).
5. Explique por qué una cepa de *E. coli* que es His^- es auxótrofa y una Lac^- no lo es. (*Pista*: Piense en qué hace *E. coli* con la histidina y con la lactosa) (Sección 11.4).
6. ¿Qué son las mutaciones silenciosas? A partir de su conocimiento del código genético, ¿por qué cree que la

mayoría de mutaciones silenciosas afectan a la tercera posición de un codón (Sección 11.5)?

7. Las microinserciones que se producen en los promotores no son mutaciones de desplazamiento en la pauta de lectura. Defina los términos microinserción, desplazamiento en la pauta de lectura, mutación y promotor (Sección 7.10). Explique cómo puede ser cierta esta afirmación (Sección 11.5).
8. Explique cómo es posible corregir una mutación de desfase en el principio de un gen con otra mutación por desfase hacia el final del mismo gen (Sección 11.5).
9. ¿Cuál es la tasa de mutación media en una célula? ¿Puede cambiar esta tasa (Sección 11.6)?
10. Dé un ejemplo de un mutágeno biológico, uno químico y uno físico y describa el mecanismo por el que cada uno causa la mutación (Sección 11.7).
11. ¿Cómo puede la prueba de Ames, un ensayo que utiliza bacterias, tener relevancia para el cáncer humano (Sección 11.8)?
12. ¿En qué se diferencia la recombinación homóloga de la recombinación específica de sitio (Sección 11.9)?
13. ¿Por qué es difícil, en un solo experimento usando la transformación o la transducción, transferir una gran cantidad de genes a una célula (Secciones 11.10 y 11.11)?
14. Explique por qué en la transducción generalizada siempre se habla de una partícula transductora, pero en la transducción especializada se habla de un virus transductor (Sección 11.11).
15. ¿Qué es un pelo sexual y qué tipo de células, F^- o F^+ producen esta estructura (Sección 11.12)?
16. ¿Qué tiene que hacer una célula F^+ antes de poder transferir genes cromosómicos (Sección 11.13)?
17. ¿Qué significa complementar una mutación «en *trans*» (Sección 11.14)?
18. Explique por qué es difícil llevar a cabo selecciones genéticas cuando se estudian las arqueas. Dé ejemplos de algunos agentes selectivos que funcionan bien con arqueas (Sección 11.15).
19. ¿Cuáles son las diferencias principales entre las secuencias de inserción y los transposones (Sección 11.16)?
20. Los transposones más útiles para aislar una variedad de mutantes bacterianos son los transposones que contienen genes de resistencia a antibióticos. ¿Por qué son tan útiles estos transposones para esto (Sección 11.16)?

www.medilibros.com

Ejercicios prácticos

1. Un mutante constitutivo es una cepa que sintetiza continuamente una proteína que es inducible en el tipo salvaje. Describa dos modos por los que un cambio en una molécula de DNA podría conducir a la emergencia de un mutante constitutivo. ¿Cómo podrían estos dos tipos de mutantes constitutivos distinguirse genéticamente?
2. En el Capítulo 7 vimos que era fundamental para el ribosoma desplazarse con gran precisión para mantener la pauta de lectura correcta. Sin embargo, en ocasiones los ribosomas cometen errores de desfase. Compare el impacto en la célula de un ribosoma que periódicamente comete un error de desfase en el mRNA de un gen en concreto con el impacto de una mutación por desfase en el mismo gen.
3. Aunque se conoce un gran número de sustancias químicas mutágenas, no se sabe de ninguna que induzca mutaciones en un solo gen (mutagénesis específica de gen). Con sus conocimientos sobre mutagénesis, explique por qué es improbable que se encuentre una sustancia mutágena específica de gen. ¿Cómo se lleva a cabo entonces la mutagénesis específica de sitio?
4. Los elementos transponibles causan mutaciones cuando se insertan en un gen, porque escinden la continuidad de éste. Los intrones también escinden la continuidad de un gen, y sin embargo dicho gen sigue siendo funcional. Explique por qué la presencia de un intrón en un gen no lo inactiva y sin embargo la inserción de un elemento transponible sí lo hace.

12

Ingeniería genética

I HERRAMIENTAS Y TÉCNICAS DE INGENIERÍA GENÉTICA 345

12.1 Enzimas de restricción y modificación **345**

12.2 Hibridación de ácidos nucleicos y transferencia Southern **347**

12.3 Fundamentos de la clonación molecular **348**

12.4 Los plásmidos como vectores de clonación **349**

II SECUENCIACIÓN, SÍNTESIS Y AMPLIFICACIÓN DEL DNA 352

12.5 Secuenciación del DNA **352**

12.6 Secuenciación y registro de genomas completos **354**

12.7 Síntesis de DNA **356**

12.8 Amplificación de DNA: reacción en cadena de la polimerasa **356**

III MANIPULACIÓN DE GENES BACTERIANOS 360

12.9 Métodos moleculares de mutagénesis **360**

12.10 Fusiones génicas y genes testigo **362**

IV TÉCNICAS AVANZADAS DE CLONACIÓN 364

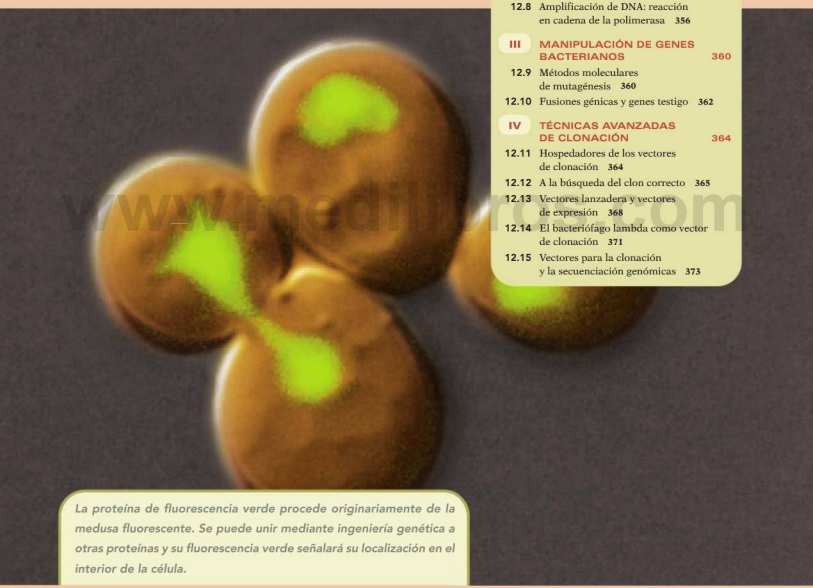
12.11 Hospedadores de los vectores de clonación **364**

12.12 A la búsqueda del clon correcto **365**

12.13 Vectores lanzadera y vectores de expresión **368**

12.14 El bacteriófago lambda como vector de clonación **371**

12.15 Vectores para la clonación y la secuenciación genómicas **373**



La proteína de fluorescencia verde procede originariamente de la medusa fluorescente. Se puede unir mediante ingeniería genética a otras proteínas y su fluorescencia verde señalará su localización en el interior de la célula.

www.medilibros.com

En este capítulo estudiaremos las técnicas utilizadas en la ingeniería genética, en concreto las que se usan para clonar genes, modificar genes y expresarlos eficientemente en organismos hospedadores. Los mecanismos de intercambio genético que se explican en el capítulo 11 (transformación, transducción y conjugación) nos permiten mover genes entre bacterias. Sin embargo, limitar la genética a los experimentos *in vivo* (en bacterias vivas) implica muchas restricciones que se pueden superar manipulando el DNA in *vitro* (en un tubo de ensayo).

I HERRAMIENTAS Y TÉCNICAS DE INGENIERÍA GENÉTICA

La **ingeniería genética** se refiere al uso de técnicas *in vitro* para modificar el material genético en el laboratorio. Este material genético modificado puede reinsertarse después en el organismo original o en algún otro organismo de interés. Las técnicas básicas de ingeniería genética incluyen la capacidad para cortar el DNA de interés en fragmentos específicos y purificar dichos fragmentos para su manipulación posterior. Empezaremos este capítulo hablando de las herramientas básicas de ingeniería genética, que comprenden las enzimas de restricción, la separación de ácidos nucleicos por electroforesis, la hibridación de ácidos nucleicos, las sondas de ácido nucleico, la clonación molecular y los vectores de clonación.

12.1 Enzimas de restricción y modificación

Todas las células contienen enzimas capaces de modificar químicamente el DNA de una u otra forma. Una de las clases principales de estas enzimas es la formada por las endonucleasas de restricción, o **enzimas de restricción**. Las enzimas de restricción reconocen y cortan secuencias de bases específicas en el DNA. Aunque están muy extendidas entre los procariotas (tanto en bacterias como en arqueas), son muy raras en eucariotas. *In vivo*, las enzimas de restricción protegen a los procariotas del DNA hostil extraño, como los genomas víricos. No obstante, las enzimas de restricción también son necesarias para la manipulación *in vitro* del DNA, y su descubrimiento dio lugar al nacimiento de la ingeniería genética.

Mecanismo de acción de las enzimas de restricción

Las endonucleasas de restricción se dividen en tres grandes grupos. Las de tipo I y III se unen al DNA en sus secuencias de reconocimiento pero cortan al DNA a una distancia considerable de éstas. Por otra parte, las enzimas de restricción de tipo II cortan al DNA en el interior de las secuencias de reconocimiento, lo que hace que este grupo de enzimas sea mucho más útil para la manipulación específica del DNA. En la **Figura 12.1** se muestra la secuencia de 6 pares de bases que reconoce y corta la enzima de restricción de *Escherichia coli* llamada *EcoRI* (el acrónimo viene de *Escherichia coli*, cepa RY13, enzima de restricción I). Los sitios de corte están indicados por flechas y el eje de simetría por una línea discontinua. Obsérvese que las dos cadenas de la secuencia de reconocimiento tienen la misma secuencia si se leen en sentidos opuestos (o si ambas se leen en sentido 5′ → 3′). Estas secuencias de repeticiones invertidas se llaman *palíndromos* (el término palíndromo deriva del griego y significa «carrera en círculo»).

La mayoría de enzimas de restricción son proteínas homodiméricas; es decir, están compuestas por dos subunidades polipeptídicas idénticas, y cada subunidad reconoce y corta el DNA en una de las dos cadenas. Por tanto, el resultado es un corte en la doble cadena. Muchas enzimas de restricción de tipo II hacen cortes escalonados, que dejan cadenas sencillas cortas con unos extremos sobresalientes, que se conocen como extremos cohesivos o «extremos pegajosos», en los dos fragmentos (Figura 12.1). Como se explica a continuación, estos fragmentos con extremos definidos tienen muchos usos, sobre todo en clonación molecular. Otras enzimas de restricción realizan los cortes en ambas cadenas del DNA directamente uno enfrente del otro, generando extremos romos.

La mayoría de secuencias de DNA reconocidas por las enzimas de restricción de tipo II son repeticiones invertidas cortas de entre 4 y 8 bp. Tomemos la enzima *Eco*RI, que reconoce una secuencia específica de 6 bp (Figura 12.1). Cualquier secuencia específica de 6 bp debería aparecer en una cadena de DNA aproximadamente una vez

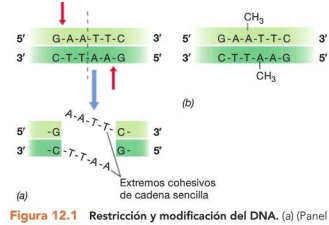


Figura 12.1 Restricción y modificación del DNA. (*a*) (Panel superior) Secuencia de DNA reconocida por la endonucleasa de restricción EcoRI. Las flechas rojas indican los enlaces que corta la enzima. La línea de rayas indica el eje de simetría de la secuencia. (Panel inferior) Aspecto del DNA cortado por la enzima de restricción EcoRI. Obsérvense los extremos cohesivos de cadena sencilla. (*b*) La misma secuencia tras ser modificada por la metilasa-EcoRI. Se muestran los grupos metilo añadidos por la enzima, que protegen el sitio de restricción del corte por EcoRI.

cada 4.096 nucleótidos (4 bases tomadas de 6 en 6 hacen 4^6), suponiendo que el DNA tiene una secuencia «al azar». Por tanto, debería haber varios sitios de corte de *Eco*RI en una molécula larga de DNA, incluyendo el cromosoma de *E. coli* (véase más adelante). Las secuencias de reconocimiento y los sitios de corte de varias enzimas de restricción se dan en la **Tabla 12.1.** Se conocen varios miles de enzimas de restricción con varios cientos de especificidades diferentes; algunas generan extremos cohesivos con un 5′ sobresaliente y otras con un 3′ sobresaliente, mientras que otras generan extremos romos. Las enzimas de restricción son herramientas tan importantes en la investigación actual en genética molecular que están ampliamente disponibles comercialmente.

Modificación: protección frente a la restricción

La función principal de las enzimas de restricción en los procariotas es, probablemente, proteger a la célula de la invasión de DNA extraño, por ejemplo DNA vírico. Si un DNA extraño entra en la célula, las enzimas de restricción de ésta lo destruirán. Sin embargo, una célula debe proteger su propio DNA de la destrucción inadvertida por sus propias enzimas de restricción. Esta protección se obtiene gracias a las **enzimas de modificación**, que modifican químicamente nucleótidos específicos en las secuencias de reconocimiento de la restricción, en el DNA de la propia célula. Las secuencias modificadas ya no pueden ser cortadas por las propias enzimas de restricción. Cada enzima de restricción está asociada a la correspondiente enzima de modificación, con la que comparte la secuencia de reconocimiento. Normalmente, la modificación consiste en la metilación de bases específicas dentro de la secuencia de reconocimiento, de modo que la endonucleasa de restricción deje de unirse a ella. Por ejemplo, la secuencia reconocida por la enzima de restricción *Eco*RI (Figura 12.1*a*) se puede modificar por metilación de las dos adeninas más interiores (Figura 12.1*b*). La enzima que lleva a cabo esta modificación es la *Eco*RI metilasa. Sólo con que una de las dos cadenas esté metilada, la secuencia deja de ser sustrato para la enzima de restricción *Eco*RI.

Tabla 12.1 Secuencias de reconocimiento de algunas endonucleasas de restricción

Organismo	*Nombre de la enzima*[a]	*Secuencia de reconocimiento*[b]
Bacillus globigii	*Bgl*II	A↓GATCT
Bacillus subtilis	*Bsu*RI	GG↓ĈCR
Brevibacterium albidum	*Bal*I	TGG↓ĈCA
Escherichia coli	*Eco*RI	G↓AÂTTC[c]
Haemophilus haemolyticus	*Hha*I	GĈG↓C
Haemophilus influenzae	*Hind*II	GTPy↓PuA
Haemophilus influenzae	*Hind*III	A↓AGCTT
Klebsiella pneumoniae	*Kpn*I	GGTAC↓C
Nocardia otitidiscaviarum	*Not*I	GC↓GGĈCGC
Proteus vulgaris	*Pvu*I	CGAT↓CG
Serratia marcescens	*Sma*I	CCC↓GGG
Thermus aquaticus	*Taq*I	T↓CGÂ

[a] Nomenclatura: La primera letra de la abreviatura de tres letras de una endonucleasa de restricción designa el género del que se origina la enzima; las siguientes dos letras, la especie. El número romano indica el orden de descubrimiento de la enzima en ese organismo concreto, y cualquier otra letra adicional son designaciones de la cepa.

[b] Las flechas indican los sitios de ataque enzimático. Los asteriscos indican el sitio de metilación (modificación) G, guanina; C, citosina; A, adenina; T, timina; Pu, cualquier purina; Py, cualquier pirimidina. Sólo se muestra la secuencia 5′ → 3′.

[c] *Véase* la Figura 12.1*a*.

Electroforesis en gel: separación de las moléculas de DNA

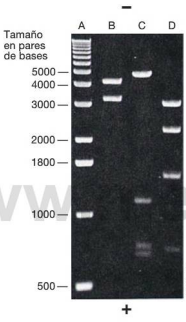
Como las secuencias de bases reconocidas por muchas enzimas de restricción tienen de cuatro a seis nucleótidos (Tabla 12.1), las enzimas cortan las moléculas de DNA en segmentos que varían en longitud entre varios cientos y varios miles de pares de bases. Una vez cortado el DNA, los fragmentos generados pueden separarse entre sí por **electroforesis en gel** y analizarse.

La electroforesis es una técnica que separa las moléculas cargadas que migran en un campo eléctrico. La velocidad de migración está determinada por la carga de la molécula y por su tamaño y su forma. En la electroforesis en gel (**Figura 12.2*a***) las moléculas se separan en un gel poroso y no en una solución. Los geles hechos con *agarosa*, un polisacárido, se utilizan para separar fragmentos de DNA. Cuando se aplica una corriente eléctrica, los ácido nucleicos se mueven por el gel hacia el electrodo positivo a causa de sus grupos fosfato cargados negativamente. La presencia de la malla que forma el gel dificulta el progreso del DNA, y las moléculas pequeñas o compactas migran más rápidamente que las grandes. Trascurrido cierto tiempo, el gel se puede teñir con un compuesto que se una al DNA, como el *bromuro de etidio* (Sección 11.7), y el DNA emitirá fluorescencia de color naranja bajo la luz ultravioleta (Figura 12.2*b*). Los fragmentos de DNA se pueden purificar del gel y utilizarse con objetivos variados.

Análisis de restricción del DNA

En la Figura 12.2*b* se muestra un gel de agarosa típico. La carrera A contiene una muestra patrón de DNA que consiste en fragmentos de DNA de tamaños conocidos. Las otras carreras contienen DNA purificado (en este caso, un plásmido) cortado por una o más enzimas de restricción. Como una enzima de restricción determinada siempre corta en el mismo sitio, el patrón de bandas de las moléculas de DNA con la misma secuencia siempre será el mismo. Por tanto, el tamaño de los fragmentos se puede determinar por comparación con el patrón. Este método se puede utilizar para generar un **mapa de restricción** del DNA. La combinación de la digestión con enzimas de restricción de una sola molécula

(a)



(b)

Figura 12.2 Electroforesis de DNA en gel de agarosa. (*a*) Las muestras de DNA se cargan en pocillos en un gel de agarosa sumergido. (*b*) Fotografía del gel de agarosa teñido. El DNA se ha cargado en pocillos en la parte superior del gel (polo negativo), y el polo positivo del campo eléctrico está en la parte inferior. La muestra patrón en la carrera A tiene fragmentos de tamaño conocido. Utilizando estos patrones se puede determinar el tamaño de los fragmentos en las otras carreras. Las bandas se tiñen menos intensamente en la parte inferior del gel porque los fragmentos son más pequeños, y por tanto hay menos DNA que teñir.

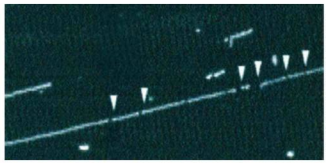


Figura 12.3 Mapeo óptico de fragmentos de restricción. Micrografía digital de fluorescencia de un fragmento del cromosoma de *Escherichia coli* digerido con la enzima de restricción XhoI (aislada de *Xantomonas holica*). Las flechas indican los sitios de corte de la enzima de restricción. Aunque la cadena de DNA es demasiado pequeña para verse por microscopio óptico, la fluorescencia del DNA es visible. La longitud del DNA que se muestra es de unos 260 kbp.

de DNA y la microscopía de fluorescencia permite elaborar un mapa de restricción directamente a partir del patrón de cortes a lo largo del DNA (**Figura 12.3**). A esto se le llama *mapeo óptico* y se ha utilizado para crear mapas de restricción de los cromosomas de *E. coli* y otros organismos como *Deinococcus radiodurans*.

Los análisis de restricción tienen muchos usos en biología molecular. Son útiles en la clonación molecular, donde proporcionan una guía sobre las enzimas de restricción y los sitios de corte que utilizar. Los análisis de restricción también se utilizan para estudios sobre la clasificación de los microorganismos. Por ejemplo, el patrón de bandas generado a partir de los análisis de restricción de una serie de organismos puede aportar una indicación sobre sus relaciones genéticas. Las digestiones de restricción múltiples, usando diferentes enzimas, bien una detrás de otra o en combinación, pueden generar patrones que permitan determinar las relaciones entre las diferentes moléculas de DNA.

12.1 Minirrevisión

Las enzimas de restricción reconocen cortas secuencias específicas en el DNA y hacen cortes en él. Los productos de la digestión con enzimas de restricción se pueden separar por electroforesis en gel.

- ¿Por qué son útiles las enzimas de restricción para el biólogo molecular?
- ¿Cuál es la base de la separación de moléculas por electroforesis?

12.2 Hibridación de ácidos nucleicos y transferencia Southern

Cuando el DNA se desnaturaliza (es decir, que las dos cadenas se separan), las cadenas sencillas pueden formar moléculas de doble cadena con otras moléculas de DNA (o RNA) de cadena sencilla, para formar moléculas híbridas con secuencias de bases complementarias (o casi complementarias) (Sección 7.2). Esto recibe el nombre de *hibridación de los ácidos nucleicos*, o **hibridación**, y es ampliamente utilizado para detectar, caracterizar e iden-

tificar segmentos de DNA. Los segmentos de ácidos nucleicos de cadena sencilla cuya identidad ya se conoce y que se utilizan en la hibridación se llaman **sondas de ácidos nucleicos** o, simplemente, sondas. Para favorecer la detección, las sondas pueden ser radiactivas o marcarse con sustancias químicas coloreadas o que generen productos fluorescentes.

La hibridación puede resultar muy útil para encontrar secuencias relacionadas en cromosomas diferentes u otros elementos genéticos, o para encontrar la ubicación de un gen específico. En la transferencia Southern, llamada así en honor de su inventor, E. M. Southern, se hibridan sondas de secuencia conocida con fragmentos de DNA que se han separado por electroforesis en gel. El procedimiento de hibridación cuando el DNA está en el gel y la sonda es DNA o RNA se llama **transferencia Southern**. Por otra parte, cuando en el gel hay RNA y la sonda es DNA o RNA, el procedimiento se llama **transferencia Northern**.

En una transferencia Southern, los fragmentos de DNA del gel son desnaturalizados para generar cadenas sencillas, que son transferidas a una membrana sintética. A continuación, la membrana es expuesta a una sonda marcada. Si la sonda es complementaria a alguno de los fragmentos, se forman los híbridos, y la sonda se une a la membrana en las ubicaciones de los fragmentos complementarios. La hibridación se puede detectar monitorizando la marca que se ha unido a la membrana. En la **Figura 12.4** se muestra cómo se puede utilizar una transferencia Southern para identificar fragmentos de DNA que contienen secuencias que hibridan con la sonda.

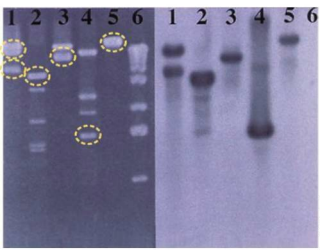


Figura 12.4 **Transferencia Southern.** (Panel izquierdo) Moléculas de DNA purificado de varios plásmidos se trataron con enzimas de restricción y se sometieron a electroforesis en gel de agarosa. (Panel derecho) Transferencia Southern del gel de DNA que se muestra a la izquierda. Tras la transferencia, el DNA del gel se hibridó con una sonda radioactiva. Las posiciones de las bandas se visualizaron por autorradiografía de rayos X. Obsérvese que sólo algunos de los fragmentos de DNA (rodeados en amarillo) tienen secuencias complementarias a la sonda marcada. La carrera 6 contiene el DNA utilizado como marcador de tamaños, y ninguna de las bandas hibridó con la sonda.

12.2 Minirrevisión

Las secuencias complementarias de ácidos nucleicos se pueden detectar por hibridación. Se hibridan sondas, formadas por DNA o RNA de cadena sencilla marcadas con radioactividad o un pigmento fluorescente, con secuencias de DNA o RNA.

- ¿Qué es una transferencia Southern y qué información nos da?
- ¿Cuál es la diferencia entre una transferencia Southern y una Northern?

12.3 Fundamentos de la clonación molecular

En la **clonación molecular** se aísla y se replica un fragmento de DNA. La estrategia básica de la clonación molecular es aislar el gen de interés (u otro segmento de DNA) de su ubicación original y llevarlo a un elemento genético sencillo, como un plásmido o un virus, que recibe el nombre de **vector** (**Figura 12.5**). Cuando el vector se replica, el DNA clonado que contiene se replica también.

La clonación molecular, por tanto, incluye la localización del gen de interés, mediante la obtención y purificación de una copia del gen, y su inserción en un vector conveniente. Una vez clonado con éxito, el gen de interés puede ser manipulado de varios modos e incluso ser devuelto a una célula viva. Este método proporciona las bases para gran parte de la ingeniería genética, y ha facilitado en gran medida el análisis detallado de los genomas.

El objetivo de la clonación génica es aislar copias de genes específicos en forma pura. Analicemos la naturaleza del problema. Para un organismo genéticamente «simple» como *Escherichia coli*, un gen medio es codificado por 1-2 kbp de DNA de un genoma de cerca de 4.600 kbp. Así, un gen de *E. coli* ocupa menos del 0,05% del DNA total de la célula. En el DNA humano, el problema es aún más complicado, porque las regiones codificantes de los genes medios no son mucho más grandes que en *E. coli*, pero los genes están escindidos en fragmentos y el genoma es casi 1.000 veces más grande. ¿Cómo se puede obtener un gen concreto? Afortunadamente, nuestro conocimiento de la química del DNA y de la enzimología nos permite cortar, unir y replicar moléculas de DNA *in vitro*. En consecuencia, las enzimas de restricción, la DNA-ligasa, la reacción en cadena de la polimerasa, y el DNA sintético son herramientas importantes en la clonación molecular.

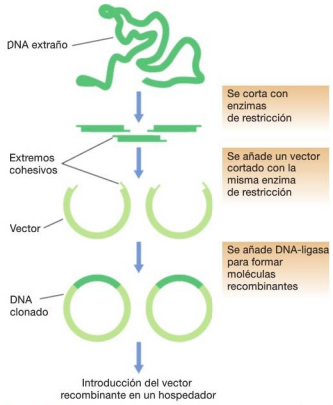


Figura 12.5 Etapas principales de la clonación génica. El vector puede ser un plásmido o un genoma vírico. Cortando el DNA extraño y el vector de DNA con la misma enzima de restricción, se generarán extremos cohesivos complementarios que permitirán la inserción del DNA extraño en el vector.

Etapas de la clonación génica: resumen

1. **Aislamiento y fragmentación del DNA de origen.** El DNA de origen puede ser el DNA genómico total de un organismo de interés, DNA sintetizado a partir de un molde de RNA por la transcriptasa inversa (Sección 19.15), un gen o genes amplificados por la reacción en cadena de la polimerasa (Sección 12.8) o incluso DNA sintetizado completamente *in vitro* en el laboratorio (Sección 12.7). Si el DNA original es genómico, primero se corta con enzimas de restricción (Sección 12.1) para obtener una mezcla de fragmentos de tamaño manejable (Figura 12.5).
2. **Inserción del fragmento de DNA en un vector de clonación.** Los vectores de clonación son elementos genéticos pequeños que se replican independientemente y que se pueden utilizar para replicar genes. La mayoría de vectores proceden de plásmidos o virus. Los vectores de clonación están diseñados para permitir la inserción *in vitro* de DNA extraño en un sitio de restricción que corta al vector sin afectar a su replicación (Figura 12.5). Si el DNA original y el vector se cortan con una enzima de restricción que produce extremos cohesivos, la unión de las dos moléculas está muy favorecida por el apareamiento de dichos extremos cohesivos (Figura 12.5). Los extremos romos generados por algunas enzimas de restricción se pueden unir por ligación directa o usando ligadores (en inglés *linkers*) o adaptadores sintéticos de DNA. En cualquier caso, las cadenas se unen por la DNA-ligasa, una enzima que une covalentemente ambas cadenas del vector y el DNA insertado.
3. **Introducción del DNA clonado en un organismo hospedador.** Las moléculas de DNA recombinante sintetizadas en el tubo de ensayo se introducen en los organismos hospedadores adecuados donde se pueden replicar. La transformación (Sección 11.10) se usa a menudo para introducir el DNA recombinante en las células. En la práctica, a menudo esto produce una mezcla de montajes recombinantes. Algunas células contienen el gen de interés clonado, mientras otras células contienen otros genes clonados del mismo DNA original. Esta mezcla se conoce con el nombre de **biblioteca (génica) de DNA**, porque se pueden purificar muchos clones diferentes a partir de la mezcla, cada uno de ellos con segmentos de DNA diferentes clonados del organismo original. La elaboración de una biblioteca génica por clonación de fragmentos al azar de un genoma se llama **clonación al azar** y tiene un amplio uso en los análisis genómicos.

12.3 Minirrevisión

El aislamiento de un gen o una región específicos de un cromosoma mediante clonación molecular se realiza usando un plásmido o un virus como vector de clonación. Las enzimas de restricción y la ligasa se utilizan *in vitro* para producir una molécula de DNA quimera compuesta por DNA de dos o más fuentes. Una vez introducido en el hospedador adecuado, el DNA clonado puede producirse en gran cantidad bajo el control del vector de clonación.

- ¿Cuál es el propósito de la clonación molecular?
- ¿Cuáles son las funciones de un vector de clonación, las enzimas de restricción y la DNA-ligasa en la clonación molecular?

12.4 Los plásmidos como vectores de clonación

Los plásmidos se replican independientemente del cromosoma del hospedador. Además de contener los genes necesarios para su propia replicación, la mayoría de plásmidos son vectores naturales porque a menudo contienen otros genes que confieren importantes propiedades a sus hospedadores. Los plásmidos tienen propiedades que los hacen muy útiles como vectores de clonación. Entre ellas: 1) su pequeño tamaño, que permite que su DNA sea aislado y manipulado con facilidad; 2) tienen un origen

de replicación independiente, de manera que la replicación del plásmido en la célula procede de forma independiente del control directo del cromosoma; 3) tienen un gran número de copias, de manera que están presentes en la célula en varias copias, lo que genera gran cantidad de DNA y alto nivel de expresión de los genes clonados: y 4) cuentan con la presencia de marcadores seleccionables como genes de resistencia a antibióticos, lo que hace la detección y la selección de los clones surgidos de los plásmidos más fácil.

Si bien en la naturaleza los plásmidos conjugativos son transferidos mediante el contacto entre células, la mayoría de plásmidos vectores de clonación han sido modificados genéticamente para eliminar la transferencia conjugativa. De este modo se impide la entrada indeseada del vector en otros organismos. No obstante, en el laboratorio la transferencia del vector se puede facilitar por transformación mediada por productos químicos o por electroporación (Sección 11.10). En función del sistema plásmido-hospedador, la replicación del plásmido puede estar sometida a un estrecho control celular, en cuyo caso sólo se sintetizan unas pocas copias, o a un control celular relajado, en cuyo caso se obtendrá un gran número de copias. La obtención de muchas copias suele ser importante en la clonación génica y, mediante una selección adecuada del sistema plásmido-hospedador y la manipulación de la síntesis celular de macromoléculas, se puede conseguir varios miles de copias del plásmido por células.

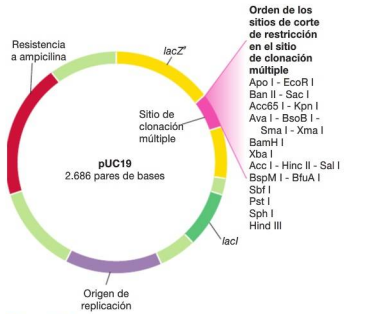


Figura 12.6 Vector de clonación plasmídico pUC19. Entre sus características esenciales se incluye el marcador de resistencia a ampicilina y el sitio de clonación múltiple con múltiples sitios de corte de las enzimas de restricción. La inserción del DNA clonado en el sitio de clonación múltiple inactiva el gen *lacZ'* que codifica la β-galactosidasa y permite la fácil identificación de los transformantes mediante rastreo con un análisis colorimétrico (*véase* la Figura 12.7).

www.edicionesmedicas.com

Un ejemplo de vector de clonación: el plásmido pUC19

Los primeros vectores de clonación plasmídicos utilizados eran plásmidos naturales aislados. En concreto, se utilizaron los plásmidos ColE de *Escherichia coli* que codifican la colicina E porque son relativamente pequeños y están presentes de forma natural en múltiples copias, lo que hace mas fácil el aislamiento del DNA. No obstante, fueron reemplazados rápidamente por plásmidos que eran ellos mismos el resultado de manipulaciones *in vitro*. Un vector de clonación plasmídico ampliamente utilizado es pUC19 (**Figura 12.6**). Se obtuvo en varias etapas del plásmido ColE1 mediante la eliminación de los genes de colicina y la inserción de los genes de resistencia a ampicilina y de un sistema de rastreo colorimétrico (véase más adelante). En el gen *lacZ*, el gen de que codifica la enzima de degradación de, β-galactosidasa (Sección 9.3) se insertó un segmento de DNA artificial con sitios de corte para muchas enzimas de restricción, llamado *sitio de clonación múltiple o poliligador* (en inglés *polylinker*). La presencia de este corto poliligador no inactiva a *lacZ*. Los sitios de corte de las enzimas de restricción presentes en el poliligador están ausentes del resto del vector. Por tanto, el tratamiento con cualquiera de estas enzimas abre el vector en una única ubicación, pero no corta el vector en fragmentos. El plásmido pUC19 tiene una serie de características que lo hace adecuado como vehículo de clonación:

1. Es relativamente pequeño, sólo 2.686 bp.
2. Se mantiene estable en su hospedador (*E. coli*) en un número de copias relativamente alto, unas 50 por célula.
3. Puede ser amplificado hasta un número muy alto (entre 1.000 y 3.000 copias por célula, un 40% del DNA celular) inhibiendo la síntesis proteica con el antibiótico cloranfenicol.
4. Es fácil de aislar en su forma superenrollada mediante técnicas rutinarias.
5. Se pueden insertar cantidades moderadas de DNA, aunque insertos de más de 10 kbp provocan inestabilidad en el plásmido.
6. Se conoce la secuencia completa de bases del plásmido, lo que permite la identificación de todos los sitios de corte de las enzimas de restricción.
7. El sitio de clonación múltiple contiene sitios de corte para una docena de enzimas de restricción, como *Eco*RI, *Sal*I, *Bam*HI, *Pst*I y *Hind*III. En un vector de clonación es crucial que exista un solo sitio de corte para cada enzima de restricción, para que el tratamiento con dicha enzima linealice el vector pero no lo corte en fragmentos. La existencia de sitios de corte individuales para múltiples enzimas de restricción aumenta la versatilidad del vector.
8. Posee un gen que confiere resistencia a ampicilina a su hospedador. Esto permite la rápida selección de

hospedadores que contienen el plásmido, porque adquieren resistencia al antibiótico.

9. Se puede insertar fácilmente en células mediante transformación.
10. La inserción de DNA extraño en el sitio de clonación múltiple se puede detectar mediante un ensayo colorimétrico a causa de *lacZ*.

Clonación génica en vectores plasmídicos

El uso de vectores plasmídicos en la clonación génica se muestra en la **Figura 12.7**. Se ha escogido una enzima de restricción adecuada con un sitio de corte en el sitio de clonación múltiple. Tanto el vector como el DNA extraño que se va a clonar son cortados por esta enzima. El vector es linealizado y los segmentos del DNA extraño se insertan en el sitio de corte abierto y son ligados en esa posición por la DNA-ligasa. Esto escinde el gen *lacZ*, un fenómeno llamado *inactivación insercional* que puede utilizarse para detectar la presencia de DNA extraño en el vector. Cuando el reactivo incoloro Xgal se añade al medio, la β-galactosidasa lo corta y genera un producto azul. Así, la célula que contiene el vector *sin* DNA clonado forma colonias azules, mientras las células con el vector *con* un inserto de DNA clonado no sintetizan β-galactosidasa y, por tanto, son blancas. Así, tras la ligación del DNA, los plásmidos resultantes son transformados en células de *E. coli*. Las colonias se seleccionan en un medio que contiene ampicilina, para seleccionar la presencia del plásmido, y Xgal, para ensayar la actividad β-galactosidasa. Las colonias *azules* contendrán el plásmido sin ningún DNA extraño (es decir, el plásmido simplemente circularizado sin ningún DNA extraño), mientras que las colonias que sean *blancas* contendrán el plásmido con DNA extraño insertado y se seleccionarán para análisis posteriores (*véase* la Figura 12.24 para un ejemplo del sistema de selección colorimétrico).

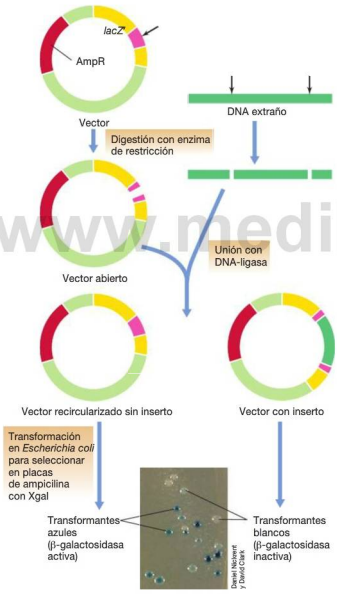


Figura 12.7 Clonación en el vector plasmídico pUC19. El vector de clonación se abre por corte en el sitio de clonación múltiple con una enzima de restricción adecuada. La inserción del DNA inactiva la β-galactosidasa y permite el rastreo colorimétrico por la presencia del inserto. La foto inferior muestra las colonias de *Escherichia coli* en una placa con Xgal. La enzima β-gal actosidasa puede cortar el Xgal, normalmente incoloro, para formar un producto azul.

Muchos vectores posteriores incluyen características similares a las del pUC19. En ocasiones, la inactivación insercional se puede detectar por selección, en lugar de por rastreo. Por ejemplo, en algunos vectores, el gen insertado en el sitio de clonación múltiple produce normalmente una proteína letal para la célula hospedadora. Por lo tanto, sólo las células que contengan el plásmido en el que el gen se ha inactivado pueden crecer.

La clonación con vectores plasmídicos es versátil y se utiliza ampliamente en ingeniería genética, especialmente cuando el fragmento que se desea clonar es relativamente pequeño. También, se utilizan los plásmidos como vectores de clonación si se desea la expresión del gen clonado, ya que los genes reguladores se pueden manipular en el plásmido para obtener la expresión de los genes clonados en condiciones específicas (Sección 12.13).

12.4 Minirrevisión

Los plásmidos son vectores de clonación útiles porque son fáciles de aislar y purificar, y a menudo se pueden multiplicar en gran número de copias en las células bacterianas. Los genes de resistencia a antibióticos en los plásmidos se utilizan para seleccionar las células bacterianas que los contienen, y se usan sistemas colorimétricos para identificar colonias que contienen el DNA clonado.

- Explique por qué en clonación es necesario utilizar una enzima de restricción que corte el vector en un solo sitio.
- ¿Qué es la inactivación insercional?
- ¿Qué es un sitio de clonación múltiple?

www.medil

II SECUENCIACIÓN, SÍNTESIS Y AMPLIFICACIÓN DEL DNA

Las enzimas de restricción y los análisis de hibridación son útiles, pero la caracterización completa de un segmento de DNA requiere que se conozca la secuencia nucleotídica completa. Una vez está disponible algo de información sobre la secuencia, se pueden sintetizar artificialmente los segmentos de DNA, que pueden utilizarse como cebadores o sondas en análisis posteriores, o bien para obtener versiones alteradas de partes de genes o regiones reguladoras. Al manejar segmentos de DNA, tanto para secuenciación como para construcción, a menudo es necesario replicar el DNA para obtener una cantidad suficiente para la experimentación. Esto se consigue mediante la reacción en cadena de la polimerasa.

12.5 Secuenciación del DNA

El término **secuenciación** se refiere a la determinación del orden preciso de los nucleótidos en una molécula de DNA (o de RNA). Para la secuenciación, se sintetizan fragmentos cortos de DNA con secuencias definidas, llamados *oligonucleótidos* (normalmente de 10 a 20 nucleótidos). Estas secuencias de DNA se utilizan como **cebadores**. Los cebadores son secuencias cortas de DNA o RNA que se utilizan para iniciar la síntesis de cadenas nuevas de ácido nucleico. Durante la replicación *in vivo* del DNA, se utilizan cebadores de RNA (Sección 7.5), pero en biotecnología, tanto en la síntesis de DNA como en la reacción en cadena de la polimerasa (Sección 12.8), se usan cebadores de DNA, porque son mucho más estables que los de RNA. La secuenciación de los ácidos nucleicos es una herramienta esencial para la biología molecular. Describiremos a continuación las bases del proceso de secuenciación.

Secuenciación del DNA: el método didesoxi de Sanger

En la actualidad, la mayor parte de la de secuenciación del DNA se realiza por el método didesoxi inventado por el científico británico Fred Sanger, que obtuvo el Premio Nobel por esta importante técnica. Este método genera fragmentos de DNA de diferentes longitudes que terminan en cada una de las cuatro bases, y que están marcados con radioactividad o con un pigmento fluorescente. A continuación, estos fragmentos son separados por electroforesis en gel de modo que las moléculas que difieren en sólo un nucleótido de longitud se resuelven claramente. Para este procedimiento son necesarias cuatro reacciones separadas (y cuatro carreras independientes en el gel) para la determinación de cada secuencia, una para cada fragmento terminado en cada una de las cuatro bases del DNA: adenina, guanina, citosina y timina. Las posiciones de los fragmentos se localizan por autorradiografía (el oscurecimiento de una película fotográfica por exposición a la radiación) o fluorescencia, y las secuencias se pueden leer en el mismo gel.

En el método de Sanger, la secuencia es determinada en realidad haciendo una *copia* del DNA de cadena sencilla usando la enzima DNA-polimerasa. Como ya hemos visto, esta enzima utiliza trifosfatos de desoxirribonucleósidos como sustratos, y los añade a un cebador. En cada una de las mezclas de incubación hay pequeñas cantidades de un *análogo didesoxi* de los trifosfatos de desoxirribonucleósidos (**Figura 12.8**). Como el azúcar didesoxi carece del 3′-hidroxilo, al insertarse, la elongación de la cadena no puede continuar. Así pues, el análogo didesoxi funciona como un agente específico de terminación de la cadena. Se obtienen fragmentos oligonucleotídicos de longitud variable en función de las condiciones de incubación. Después se lleva a cabo la electroforesis de estos fragmentos, y se determinan las posiciones de las bandas mediante la exposición a película de rayos X o por fluorescencia. Mediante la alineación de las cuatro carreras de didesoxinucleótidos y la localización de la posición vertical de cada fragmento respecto de su vecino, se puede leer la secuencia de la copia del DNA directamente desde el gel (**Figura 12.9**).

El método de Sanger se puede utilizar también para secuenciar RNA. Para ello, en primer lugar se sintetiza

ilibros.com

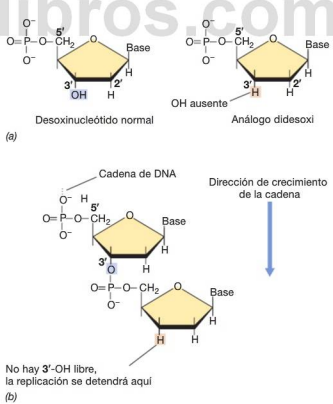


Figura 12.8 Didesoxinucleótidos y secuenciación de Sanger. (*a*) Un desoxinucleótido normal tiene un grupo hidroxilo en el carbono 3′, mientras un didesoxinucleótido no lo tiene. (*b*) La elongación de la cadena termina cuando se incorpora un didesoxinucleótido. Compárese esta figura con la Figura 7.11.

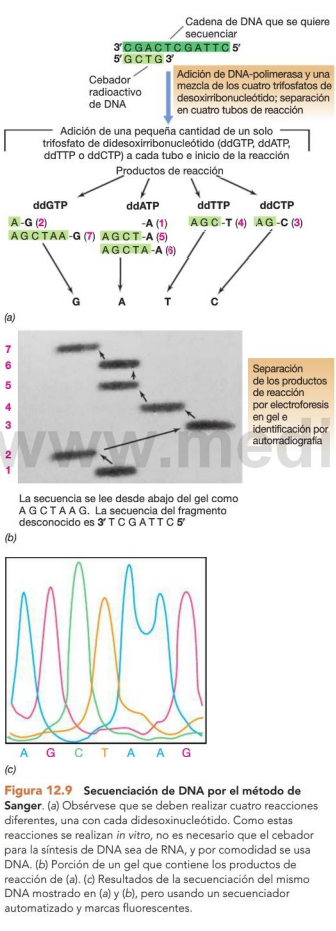


Figura 12.9 **Secuenciación de DNA por el método de Sanger**. (*a*) Obsérvese que se deben realizar cuatro reacciones diferentes, una con cada didesoxinucleótido. Como estas reacciones se realizan *in vitro*, no es necesario que el cebador para la síntesis de DNA sea de RNA, y por comodidad se usa DNA. (*b*) Porción de un gel que contiene los productos de reacción de (*a*). (*c*) Resultados de la secuenciación del mismo DNA mostrado en (*a*) y (*b*), pero usando un secuenciador automatizado y marcas fluorescentes.

una copia de cadena sencilla del DNA (utilizando RNA como cebador) con la enzima retrotranscriptasa (Sección 10.12). El DNA de cadena sencilla es secuenciado a continuación por el método didesoxi de Sanger como se ha descrito antes, y a partir de las reglas de apareamiento de bases se deduce la secuencia del RNA de la secuencia del DNA.

Secuenciación automatizada

Las demandas de los proyectos de secuenciación a gran escala han llevado al desarrollo de sistemas de secuenciación automatizada del DNA. Con estos sistemas, las reacciones de secuenciación siguen basándose en el método didesoxi, pero se utilizan cebadores (o nucleótidos) marcados con pigmentos fluorescentes en lugar de radioactividad. Los productos se separan por electroforesis automatizada y las bandas se detectan por espectroscopia de fluorescencia. Cada una de las cuatro reacciones utiliza una marca fluorescente de un color diferente, y las carreras se escanean mediante un láser de detección de fluorescencia. De este modo, las cuatro reacciones se pueden correr en una misma carrera. Los resultados son analizados por ordenador y se genera una secuencia, en la que cada una de las cuatro bases se distingue por un color (Figura 12.9*c*).

Pirosecuenciación 454

Los recientes avances técnicos han revolucionado la secuenciación del DNA. En concreto, el sistema desarrollado por la compañía 454 Life Sciences tiene el potencial para generar datos de secuencias cien veces más rápido que los métodos previos. El sistema 454 depende de dos importantes avances, la *gestión paralela a gran escala de líquido* y la *pirosecuenciación* en lugar de la secuenciación por el método didesoxi.

En el sistema 454, la muestra de DNA se corta en segmentos de cadena sencilla de unas 100 bases cada uno, y cada fragmento se inmoviliza en una esfera microscópica. El DNA se amplifica por la reacción en cadena de la polimerasa (Sección 12.8), de modo que cada esfera contiene varias copias idénticas de la cadena de DNA. A continuación las esferas se colocan en una placa de fibra óptica de cerca de un millón de pocillos, cada uno de los cuales contiene sólo una esfera, y los cuatro nucleótidos se hacen fluir secuencialmente por la placa con un orden preestablecido; después las reacciones de secuenciación se producen de forma simultánea por toda la placa.

Al igual que en el método de Sanger, el principio de la secuenciación 454 implica la síntesis de una cadena complementaria por la DNA-polimerasa. Sin embargo, en lugar de la terminación de la cadena que fundamenta el método didesoxi (Figura 12.9), en el método 454, cada vez que se incorpora un nucleótido a la cadena complementaria, se libera una molécula de pirofosfato, que aporta la energía necesaria para la liberación de luz por la enzima luciferasa (Sección 9.6), también incorporada al sistema. Así, cada pulso de luz indica que la secuencia que se está

www.medilibros.com

analizando ha incorporado una base complementaria a la presente en el sitio de inserción. Mediante las reglas de apareamiento de bases, se revela también la identidad del nucleótido en la muestra de DNA en este sitio.

Aunque la secuenciación 454 es sorprendentemente rápida porque el DNA de todos los pocillos se analiza al mismo tiempo (de ahí el calificativo «paralelo a gran escala», sólo puede gestionar fragmentos relativamente cortos de DNA. Sin embargo, utilizando análisis computacionales de secuencias solapadas (Sección 12.6) de diferentes pocillos, se pueden disponer genomas completos por el sistema 454. De hecho, se ha estimado que la secuenciación 454 será capaz un día de secuenciar el genoma humano completo en pocos días, y a costes que harían el procedimiento útil para el diagnóstico médico y los análisis genéticos relacionados.

12.5 Minirrevisión

La secuenciación del DNA se puede llevar a cabo usando el método de terminación de cadena de Sanger, que utiliza didesoxinucleótidos para bloquear la elongación de las cadenas de DNA en crecimiento. El uso de marcaje radioactivo ha ido dejando paso cada vez más a la secuenciación automatizada basada en el marcaje fluorescente. Los avances tecnológicos, como el sistema 454, han incrementado muchísimo la velocidad de secuenciación del DNA.

- ¿Cómo bloquean la elongación de la cadena los didesoxinucleótidos?
- ¿Por qué son necesarios los cebadores para la secuenciación del DNA?

12.6 Secuenciación y registro de genomas completos

El análisis de un genoma empieza con la formación de una biblioteca genómica —la clonación molecular de todos los fragmentos de DNA del genoma generados por cortes de las enzimas de restricción (Sección 12.3)—. Una vez hecho esto, empieza la verdadera secuenciación.

Secuenciación al azar

Prácticamente todos los proyectos de secuenciación actuales utilizan la secuenciación al azar. Esta técnica se ha hecho posible por la existencia de secuenciación de alto rendimiento, la robótica y las potentes capacidades de los ordenadores. La secuenciación al azar se ha utilizado en cromosomas procarióticos y eucarióticos, incluida la versión con fondos privados del proyecto genoma humano.

En el método de secuenciación al azar del genoma completo, se clona todo el genoma de manera aleatoria, y los clones resultantes se secuencian. Es decir, que los clones se secuencian sin conocerse el orden ni la orientación de los fragmentos de DNA. A continuación se analizan las secuencias por ordenador en busca de secuencias solapadas. Los solapamientos permiten al ordenador ensamblar los fragmentos secuenciados en el orden correcto.

Gran parte de la secuenciación en el método al azar es redundante. Para asegurarse de que se obtiene la secuencia del genoma completo, es necesario secuenciar un grandísimo número de clones, muchos de los cuales serán idénticos o prácticamente idénticos. Normalmente, habrá entre 7 y 10 secuencias replicadas por cada parte del genoma. Esta cobertura entre septuplicada y decuplicada reduce los errores en la secuencia porque la redundancia en la secuenciación permite seleccionar un nucleótido consenso en cualquier punto de la secuencia en el que pueda existir ambigüedad.

Para que la secuenciación al azar sea eficaz, el mecanismo de clonación debe ser eficiente (se necesita una gran cantidad de clones) y, en la medida de lo posible, los segmentos de DNA clonado deberían generarse al azar. Los sitios de restricción no son al azar, pero si se corta el DNA genómico con una enzima que reconozca una secuencia corta común, se puede obtener una digestión cercana al azar. Para obtener fragmentos más aleatorios, se puede cortar el DNA mecánicamente con un nebulizador, que es un dispositivo con una pequeña abertura, similar a una boquilla, que reduce la solución de DNA a un spray; en el proceso, el DNA se corta. A continuación se pueden purificar los fragmentos de DNA por tamaño usando electroforesis en gel (Sección 12.1) y después clonarse en un vector y transformarse en un hospedador.

Ensamblaje del genoma

Una vez completada la secuenciación al azar, deben ordenarse todos los fragmentos, un proceso denominado *ensamblaje*. Esto coloca los fragmentos en el orden correcto, eliminando los solapamientos, y genera un genoma adecuado para su registro, el proceso de identificación de los genes y otras regiones funcionales.

En ocasiones, la secuenciación al azar y el ensamblaje no generan una secuencia completa del genoma, y quedan huecos. En estas situaciones, se pueden utilizar clones individuales para rellenar los huecos. Un método para ello es llevar a cabo las reacciones en cadena de la polimerasa (Sección 12.8) usando cebadores específicos complementarios de las secuencias conocidas que flanquean un hueco determinado. Obsérvese que estos clones adicionales están dirigidos, no son aleatorios como en el método al azar. Sin embargo, es probable que las secuencias de estos clones contengan suficientes secuencias solapantes para cerrar el hueco.

Algunos proyectos relacionados con el genoma tienen el objetivo de obtener un *genoma cerrado*, lo que significa que toda la secuencia del genoma está determinada. Otros proyectos se detienen en la *fase de borrador*, y prescinden de la secuenciación de los pequeños huecos. Puesto que la secuenciación al azar y el ensamblaje son procedimientos altamente automatizados, pero el cierre

www.medi

de huecos no lo es, la obtención de un genoma cerrado es mucho más cara y lenta que la generación de una secuencia borrador del genoma.

Registro del genoma

Una vez completados la secuenciación y el ensamblaje, el siguiente paso en el análisis genómico es el *registro* o *anotación*, la conversión de los datos iniciales de la secuencia en una lista de los genes presentes en el genoma. La gran mayoría de genes de cualquier organismo codifican proteínas, y en la mayoría de genomas microbianos, la mayor parte del genoma consiste en secuencias codificantes. Como los genomas de los eucariotas microbianos contienen menos intrones (Sección 8.5) que los genomas animales y vegetales, y los procariotas no tienen prácticamente ninguno, los genomas microbianos consisten esencialmente en cientos de miles de pautas de lectura abierta (ORF de *Open Reading Frame)* (Sección 7.13) separadas por cortas regiones reguladoras y terminadores transcripcionales.

¿Cómo encuentra el ordenador una ORF?

Una *ORF funcional* es una secuencia que codifica una proteína en la célula. Así, el modo más sencillo de localizar genes que codifican proteínas o genes potenciales que codifican proteínas, es realizar una búsqueda computerizada a través de la secuencia del genoma en busca de ORF.

En la célula, los ribosomas establecen una pauta de lectura iniciando la traducción en un codón de inicio, normalmente AUG. Después, el ribosoma continúa hasta que encuentra un codón de parada dentro de la pauta (Sección 7.13). Por lo tanto, el primer paso para encontrar una ORF es buscar estas señales en la secuencia.

Sin embargo, la identificación de posibles ORF funcionales es más complicada que la simple búsqueda de codones de inicio y de parada dentro de la misma pauta de lectura, porque éstos aparecerán al azar con una frecuencia razonable. Por tanto, hay que buscar otras pistas. Una señal de que una ORF es funcional es su tamaño. La mayoría de proteínas celulares contiene 100 o más aminoácidos, de modo que la mayoría de ORF funcionales serán más largas de 100 codones (300 nucleótidos). No obstante, la programación del ordenador para ignorar ORF más cortas de 100 codones nos hará perder algunos genes cortos pero auténticos. De modo que hay que considerar otros factores como la **preferencia codónica** (**uso codónico**). Existe más de un codón para la mayoría de los 20 aminoácidos (Tabla 7.4), y algunos codones se utilizan con más frecuencia que otros. La preferencia codónica difiere entre los organismos. Si el uso codónico en una ORF determinada es considerablemente distinto del uso codónico consensuado, la ORF puede no ser funcional, o bien ser funcional pero obtenida mediante transferencia génica horizontal (Sección 13.11). Además, los ribosomas procarióticos inician la traducción, no en el primer codón de inicio posible, sino en uno inmediatamente posterior a una secuencia de Shine-Dalgarno (unión del ribosoma) en el mRNA (Sección 7.15). Por lo tanto, la búsqueda en la secuencia de DNA de un genoma procariótico para encontrar secuencias de Shine-Dalgarno potenciales puede resultar útil para establecer tanto si una secuencia ORF es funcional como qué codón de inicio se usa realmente.

Aunque cualquier gen determinado se transcribe siempre desde una sola cadena, en todos excepto los plásmidos más pequeños o los genomas víricos, se transcriben ambas cadenas en alguna parte del genoma. Así, es necesaria la inspección computerizada de ambas cadenas. Además, algunos genes codifican tRNA y rRNA que no son reconocidos por programas que buscan únicamente ORF. No obstante, los genes de tRNA y rRNA se pueden localizar fácilmente porque las secuencias de estos RNA están altamente conservadas (Sección 14.9).

Localización de genes putativos: comparaciones genómicas

Una ORF será también probablemente funcional si su secuencia es similar a las secuencias de las ORF de los genomas de otros organismos (independientemente de que codifiquen proteínas conocidas) o si parte de la ORF contiene una secuencia conocida que codifica un dominio proteico funcional. Ello es debido a que las proteínas con funciones similares tienden a ser homólogas, es decir, que están relacionadas en sentido evolutivo y típicamente comparten rasgos estructurales y de secuencia. Las búsquedas de estas similitudes de secuencia se realizan en bases de datos como GenBank. Esta base de datos contiene más de 100.000 millones de pares de bases de información, y permite las búsquedas en línea en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html. La herramienta de búsqueda de datos más utilizada es BLAST (del inglés *Basic Local Alignment Search Tool,* dispositivo de búsqueda de alineación local básica), que tiene diversas variantes en función de si se buscan ácidos nucleicos o secuencias proteicas. Por ejemplo, el dispositivo BLASTn busca en bases de datos de ácidos nucleicos usando una consulta para ácidos nucleicos, mientras BLASTp busca en las bases de datos de proteínas usando una consulta para proteínas.

Sería casi imposible ensamblar incluso un genoma muy pequeño y localizar genes y otras importantes secuencias funcionales del DNA sin la disponibilidad de sofisticadas herramientas informáticas para manejar las enormes bases de datos. Utilizar la informática para llevar a cabo análisis de este tipo se llama trabajar *in silico*, un término análogo a los términos *in vivo* e *in vitro* (*in silico* se refiere a los chips de silicio de los procesadores presentes en el ordenador).

12.6 Minirrevisión

Las técnicas al azar utilizan la clonación y la secuenciación aleatorias de fragmentos del genoma relativamente pequeños seguidos de ensamblaje computerizado del genoma usando los solapamientos como una guía para

la obtención de la secuencia final. Una vez terminada la secuenciación principal, los ordenadores buscan ORF y genes que codifican homólogos proteicos como parte del proceso de registro.

- ¿Por qué se dice que la secuenciación al azar da una secuencia muy precisa del genoma?
- ¿Qué se hace durante el ensamblaje del genoma?
- ¿Qué es una pauta abierta de lectura (ORF)?
- ¿Cómo puede la homología de proteínas ayudar en el proceso de registro?

12.7 Síntesis de DNA

Para muchos procedimientos moleculares se necesita DNA de secuencia definida. Así, hay sistemas disponibles para sintetizar DNA, completamente automatizados, que permiten sintetizar de manera rutinaria un oligonucleótido de 30 a 35 bases, y nucleótidos de unas 100 bases si es necesario. Para la síntesis de polinucleótidos más largos, se pueden unir enzimáticamente fragmentos oligonucleotídicos individuales mediante la enzima DNA-ligasa (Sección 12.1).

Síntesis de oligonucleótidos

El DNA se sintetiza *in vitro* mediante un método en fase sólida en el que el primer nucleótido de la cadena es sujeto a un soporte insoluble (como esferas de cristal poroso de unos 50 μm de tamaño). El procedimiento completo se muestra en la **Figura 12.10**. Para la adición de cada nucleótido son necesarios varios pasos, y la reacción química es complicada. Una vez realizada cada adición, la mezcla de reacción se limpia del soporte sólido y se repite la serie de reacciones para la adición del nucleótido siguiente. Una vez el nucleótido tiene la longitud deseada, se corta del soporte en fase sólida mediante un reactivo específico y se purifica para eliminar subproductos y contaminantes.

Las moléculas de DNA sintético son utilizadas profusamente con varios propósitos. Además de su uso como cebadores para la secuenciación del DNA, se utilizan como cebadores para la reacción en cadena de la polimerasa (Sección 12.8). También se utilizan como sondas para detectar, mediante hibridación de ácidos nucleicos, secuencias específicas de DNA o RNA en transferencias Southern o Northern, respectivamente (Sección 12.2). El DNA sintético también se utiliza en la mutagénesis dirigida para crear mutaciones de interés en ubicaciones específicas dentro de un gen (Sección 12.9).

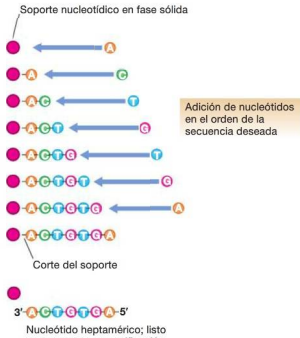


Figura 12.10 Método de fase sólida para sintetizar DNA. La síntesis química se lleva a cabo añadiendo un nucleótido por vez a la cadena en crecimiento. Obsérvese que la síntesis artificial procede de 3′ a 5′ (el sentido opuesto al de la replicación natural del DNA).

www.medilibros.com

12.7 Minirrevisión

Mediante métodos automatizados se puede sintetizar químicamente DNA de longitudes moderadas. El DNA sintético se utiliza como cebador y como sonda para diversas técnicas, así como en la creación de segmentos génicos artificiales.

- ¿Qué técnicas utilizan cebadores y sondas de DNA?
- ¿Por qué se usa un soporte sólido durante la síntesis química del DNA?

12.8 Amplificación del DNA: reacción en cadena de la polimerasa

Las copias de secuencias específicas de DNA son necesarias para muchas técnicas moleculares, y la **reacción en cadena de la polimerasa (PCR)** es el método por el que se sintetizan dichas copias *in vitro*. La reacción en cadena de la polimerasa puede copiar segmentos de DNA hasta mil millones de veces en un tubo de ensayo, un proceso llamado *amplificación*, que genera grandes cantidades de genes específicos u otros segmentos de DNA para toda una serie de aplicaciones en biología molecular. La PCR utiliza una DNA-polimerasa, que copia moléculas de DNA de manera natural (Sección 7.6). En realidad, la PCR no copia moléculas enteras de DNA, sino que amplifica fragmentos de hasta algunos miles de pares de bases (la *diana*) de una molécula de DNA más grande (el

molde). La PCR fue inventada por Kary Mullis, que recibió el Premio Nobel por su invento.

Las etapas de la amplificación del DNA por PCR se pueden resumir como sigue:

1. Se sintetizan dos oligonucleótidos cebadores flanqueando el DNA diana (**Figura 12.11a**) en un sintetizador de oligonucleótidos (Sección 12.7) y se añaden en exceso a un DNA molde desnaturalizado por calor.

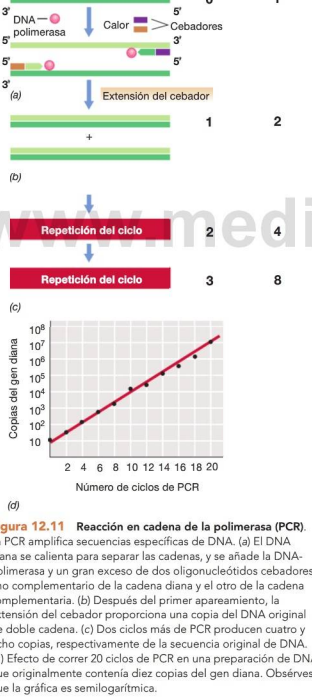


Figura 12.11 Reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR amplifica secuencias específicas de DNA. (*a*) El DNA diana se calienta para separar las cadenas, y se añade la DNA-polimerasa y un gran exceso de dos oligonucleótidos cebadores, uno complementario de la cadena diana y el otro de la cadena complementaria. (*b*) Después del primer apareamiento, la extensión del cebador proporciona una copia del DNA original de doble cadena. (*c*) Dos ciclos más de PCR producen cuatro y ocho copias, respectivamente de la secuencia original de DNA. (*d*) Efecto de correr 20 ciclos de PCR en una preparación de DNA que originalmente contenía diez copias del gen diana. Obsérvese que la gráfica es semilogarítmica.

2. A medida que se enfría la mezcla, los cebadores en exceso respecto al molde de DNA aseguran que la mayoría de cadenas de molde se aparean con un cebador y no entre sí (Figura 12.11*a*).
3. A continuación, la DNA-polimerasa extiende los cebadores usando el DNA original como molde (Figura 12.11*b*).
4. Tras un período de incubación adecuado, la mezcla se calienta de nuevo para separar las cadenas. Después, la mezcla se enfría para permitir la hibridación de los cebadores con las regiones complementarias del DNA recién sintetizado, y se repite todo el proceso (Figura 12.11*c*).

La potencia de la PCR radica en que los productos de una extensión del cebador actúan como moldes para el ciclo siguiente, de modo que cada ciclo duplica la cantidad de DNA diana original. En la práctica se realizan entre 20 y 30 ciclos, lo que produce un incremento en la secuencia diana de entre 10^6 y 10^9 veces (Figura 12.11*d*) Como la técnica consiste en varios pasos altamente repetitivos, las máquinas de PCR, llamadas *termocicladores*, pueden funcionar automáticamente en ciclos de calentamiento y de enfriamiento. Como cada ciclo necesita sólo unos 5 minutos, el método automatizado permite grandes amplificaciones en unas pocas horas.

www.medilibros.com

PCR a altas temperaturas

La técnica original del PCR utilizaba la DNA-polimerasa de *Escherichia coli* Pol III, pero debido a las altas temperaturas necesarias para desnaturalizar las copias de doble cadena de DNA que se sintetizaban, la enzima también se desnaturalizaba y tenía que ser sustituida tras cada ciclo. Este problema se solucionó utilizando una DNA-polimerasa termoestable aislada de la bacteria termófila de aguas termales *Thermus aquaticus*, un organismo aislado por Thomas Brock, un microbiólogo americano. La DNA-polimerasa de *T. aquaticus*, llamada *DNA-polimerasa Taq*, es estable a 95 °C y, por tanto, no se ve afectada por el paso de desnaturalización utilizado en la PCR. El uso de la DNA-polimerasa *Taq* también aumentó la especificidad de la PCR, porque el DNA se copia a 72 °C en lugar de a 37 °C. A una temperatura tan alta, es rara la hibridación no específica de cebadores a DNA no diana, lo que hace el producto de la PCR con *Taq* más homogéneo que el obtenido con la enzima de *E. coli*. Por otra parte, el paso de hibridación con el cebador se suele realizar a temperatura baja, lo que puede permitir cierta unión no específica.

La DNA-polimerasa de *Pyrococcus furiosus*, un hipertermófilo con una temperatura de crecimiento óptima de 100 °C (Sección 17.11) se llama *polimerasa Pfu* y es aún más termoestable que la polimerasa *Taq*. Además, a diferencia de la polimerasa *Taq*, la polimerasa *Pfu* tiene actividad de corrección de errores (Sección 7.8), lo que hace de ella una enzima especialmente buena cuando resulta crucial una alta precisión. Así, la tasa de error de la polimerasa *Taq* en condiciones estándar es de $8{,}0 \times 10^{-6}$ (por

Información adicional

Identificación genética (huellas dactilares de DNA)

Puesto que cada individuo (excepto los gemelos idénticos) tiene una secuencia de DNA genómico única, las muestras de DNA se pueden utilizar para la identificación. El uso de la tecnología del DNA para diferenciar entre organismos muy estrechamente relacionados, incluida la identificación de personas, recibe el nombre de **identificación genética**.

La identificación genética se ha visto muy facilitada por el hecho de que los organismos superiores contienen muchas secuencias de DNA repetitivo, algunas de las cuales varían en cuanto a número y disposición en diferentes individuos. Algunas repeticiones existen como familias de secuencias relacionadas esparcidas por el genoma. Una clase de secuencias repetitivas muy útiles contiene aquéllas que tienen secuencias idénticas pero con cantidad variable de repeticiones en un solo sitio de un cromosoma concreto. Estas secuencias se llaman repeticiones en tándem de número variable (VNTR), y se han identificado varias de ellas.

El uso de VNTR en la identificación genética se ilustra en la Figura 1a. En ella se muestran dos alelos diferentes

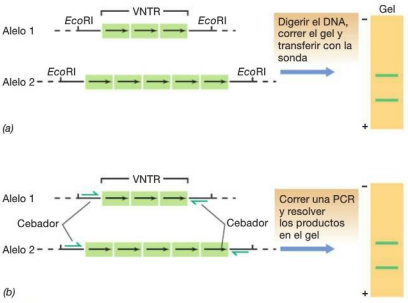


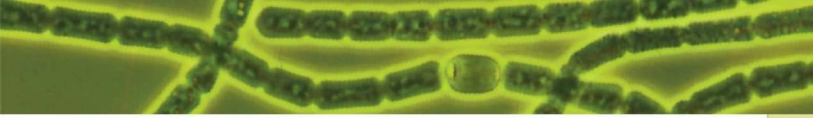
Figura 1 **Identificación genética**. (a) Dos alelos diferentes de una región de un cromosoma. Los alelos se diferencian únicamente en el número de repeticiones de la VNTR. El DNA de las células que contienen estos cromosomas se pueden cortar con la enzima de restricción EcoRI (que no corta dentro de la VNTR) y los fragmentos separarse en un gel de agarosa (los fragmentos más pequeños migrarán más lejos en el gel que los fragmentos grandes). Estos fragmentos que contienen la VNTR son identificados a continuación por transferencia Southern e hibridación con una sonda específica para la VNTR. En la figura se muestra sólo el resultado de individuos cuyos dos cromosomas tienen alelos diferentes en este sitio. Si un individuo tuviera el mismo alelo en ambos cromosomas, sólo se observaría una banda. (b) Los mismos alelos, pero utilizando cebadores específicos para amplificar los segmentos VNTR por PCR. Los productos de la PCR se pueden cargar directamente en el gel sin digestión de restricción.

base duplicada), mientras la de la polimerasa *Pfu* es de sólo $1{,}3 \times 10^{-6}$. Para satisfacer la demanda de DNA-polimerasas termoestables en el mercado de la PCR y la secuenciación del DNA, los genes de estas enzimas se han clonado en *E. coli* y se han sintetizado con fines comerciales en grandes cantidades. **www.microbiologyplace.com Tutorial online 12.1: Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).**

Aplicaciones y sensibilidad de la PCR

La PCR es una herramienta muy potente. Es fácil de utilizar, extremadamente sensible y altamente eficiente. Durante cada ciclo de amplificación, la cantidad de producto se duplica, lo que provoca un incremento exponencial del DNA (Figura 12.11). Esto significa no sólo que se puede producir una gran cantidad de DNA amplificado en sólo unas horas, sino también que sólo son necesarias unas pocas moléculas de DNA en la muestra para empezar la reacción. La reacción es tan específica que, con cebadores de unos 15 nucleótidos y altas temperaturas de apareamiento, casi no se produce «cebado erróneo» y, por tanto, el producto de la PCR es prácticamente homogéneo.

La PCR es extremadamente valiosa para obtener DNA para la clonación de genes o con fines de secuenciación, porque el gen o los genes de interés se pueden amplificar fácilmente. La PCR se utiliza también rutinariamente en estudios comparativos o filogenéticos para amplificar genes de diversas procedencias. En estos casos, los cebadores se sintetizan para regiones del gen cuya secuencia está



(formas alternativas del mismo gen) de un cromosoma eucariótico que difieren solamente en el número de copias de la secuencia repetida. Como la secuencia de la VNTR es conocida, se escogen enzimas de restricción cuyos sitios de corte no estén presentes en ella para digerir el DNA. Así, la digestión deja la VNTR intacta. Cuando se digiere DNA de dos cromosomas con un número diferente de repeticiones en un locus particular, los fragmentos difieren en tamaño. Éstos son separados por electroforesis en gel y los que contienen la VNTR son detectados por transferencia Southern (Sección 12.2) mediante una sonda construida con la secuencia VNTR clonada. Aunque haya muchos alelos en una población (y no sólo dos como en el ejemplo), las diferencias en un solo sitio resultan insuficientes para identificar de forma inequívoca a un individuo; probablemente muchos individuos de una población tendrán el mismo patrón en cualquier sitio dado. Sin embargo, es posible analizar el DNA digerido en busca de varios marcadores VNTR diferentes de manera simultánea. Con estos métodos, la probabilidad de identificar a un individuo concreto comparando dos muestras de DNA diferentes se vuelve extremadamente alta.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) puede simplificar el proceso de identificación. La PCR se utiliza para amplificar segmentos de DNA que contengan VNTR (Figura 1b). Si bien la PCR no es necesaria para la identificación genética *per se*, resulta esencial cuando la cantidad de muestra es muy pequeña —como la que se obtiene de las células de un pelo—. Para usar la PCR es necesario conocer las secuencias que flanquean la VNTR, de forma que podamos sintetizar cebadores específicos. Con los suficientes ciclos de amplificación, es posible detectar las bandas generadas por PCR simplemente tiñendo los genes en lugar de utilizar una sonda de hibridación; las bandas corren hacia regiones diferentes del gel en función de su tamaño (número de repeticiones). Como la PCR amplifica sólo el DNA entre los cebadores, no es necesario cortarlo con enzimas de restricción antes de correrlo en un gel.

Algunas VNTR tienen entre 100 y 200 variantes, lo que las hace muy útiles para los análisis, ya que analizando las suficientes VNTR se puede encontrar un patrón único para cada individuo. Las STR (repeticiones cortas en tándem) son una subcategoría de las VNTR, en las que las repeticiones son de entre 2 y 6 nucleótidos de longitud. Muchas STR tienen de 10 a 20 variantes. Normalmente, la identificación individual se lleva a cabo mediante la PCR de un grupo de cerca de una docena de STR. Una de las aplicaciones más fascinantes de la tecnología de las STR fue la identificación de los restos del último zar de Rusia, Nicolás II, y su familia, ejecutados por los bolcheviques en 1918. Sus restos se volvieron a enterrar en 1998.

Las VNTR no se restringen a los organismos superiores. El genoma de *Bacillus anthracis*, el organismo que causa la enfermedad del carbunco, contiene varias VNTR diferentes, lo que permitió identificar y seguir las cepas de *B. anthracis* que se utilizaron como armas biológicas. Con ello será posible localizar la fuente de dichas cepas, y podrá utilizarse como prueba de que una cepa en particular fue utilizada en un incidente de bioterrorismo concreto (Secciones 33.11 y 33.12).

conservada en una gran variedad de organismos. Por ejemplo, como el rRNA 16S, una molécula utilizada en análisis filogenéticos (Sección 2.7) tiene regiones altamente conservadas y otras altamente variables, los cebadores específicos para el gen del rRNA 16S de bacterias o de arqueas se pueden sintetizar y utilizar para analizar estos organismos en un hábitat específico. Además, si se utilizan cebadores con mayor especificidad, el análisis sólo se dirigirá a determinados grupos de cada dominio. Esta técnica se usa cada vez más en ecología microbiana y ha demostrado la enorme diversidad del mundo microbiano, gran parte del cual aún no está explotado (Sección 22.5).

Al tratarse de una técnica sensible, la PCR se puede utilizar para amplificar cantidades muy pequeñas de DNA. Por ejemplo, se ha utilizado para amplificar y clonar DNA de fuentes tan variadas como restos humanos momificados y plantas y animales fosilizados. La capacidad de la PCR para amplificar y analizar DNA de mezclas celulares también ha hecho de ella una técnica habitual en la microbiología diagnóstica. Por ejemplo, si una muestra clínica presenta indicios de un gen concreto o un patógeno en particular, se puede suponer que el patógeno estaba presente en la muestra. En ese caso, se puede empezar el tratamiento sin necesidad de cultivar el organismo, un proceso lento y, a menudo, infructuoso. La PCR también se ha utilizado en la *identificación genética*, una potente herramienta forense que permite la identificación de personas, o de relaciones entre individuos, a

partir de muestras muy pequeñas de DNA (véase el Panel microbiano, «Identificación genética»).

Transcriptasa inversa y PCR en tiempo real

El poder de la PCR se ha ampliado por el desarrollo de técnicas relacionadas, como la *PCR con transcriptasa inversa*, la *PCR en tiempo real* y la *PCR cuantitativa*. Estas técnicas se aplican rutinariamente al análisis de muestras ambientales (Sección 22.5) o al diagnóstico de patógenos en muestras clínicas (Sección 32.12).

El primer paso en la PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR) es utilizar la enzima transcriptasa inversa (Sección 19.15) para sintetizar un DNA complementario (cDNA) de una muestra de RNA.

A continuación se utiliza la PCR para amplificar el cDNA, lo que puede tener varias aplicaciones importantes. Por ejemplo, se podría monitorizar la expresión génica microbiana en una muestra ambiental mediante el aislamiento del RNA y el empleo de la RT-PCR para producir copias de DNA del gen (o los genes) correspondiente(s). Este DNA podría ser, después, secuenciado o analizado con sondas para identificar los genes. Otra aplicación habitual es la clonación de genes eucarióticos; los mRNA se amplifican mediante RT-PCR. Esto evita la necesidad de eliminar los intrones, a diferencia de lo que ocurre si los genes se clonan directamente del DNA cromosómico (Sección 26.2).

En la PCR en tiempo real, la acumulación de DNA diana es monitorizada durante el proceso de PCR. Esto se consigue añadiendo a la mezcla de la reacción sondas fluorescentes cuya fluorescencia aumenta al unirse al DNA. A medida que el DNA diana es amplificado, el nivel de fluorescencia aumenta proporcionalmente. Las sondas fluorescentes pueden ser específicas para la secuencia de DNA diana o inespecíficas. Por ejemplo, el pigmento SYBR Green se une inespecíficamente, aunque sólo al DNA de doble cadena, y es fluorescente sólo cuando está unido. Las sondas específicas se construyen uniendo un pigmento fluorescente a una pequeña sonda de DNA que se une a la secuencia diana que se está amplificando. Sólo se emite fluorescencia cuando se acumula el DNA de la secuencia correcta.

La ventaja de la PCR en tiempo real es que la amplificación se puede monitorizar de manera continua, por lo que se hace innecesario correr un gel a continuación. Por ejemplo, si queremos saber si un gen diagnóstico de un patógeno concreto está presente en una preparación de DNA obtenida de una muestra clínica, podemos tener los resultados en una hora o dos en lugar del habitual procesamiento de toda una noche necesario para la PCR estándar. Además, al monitorizar la *velocidad* del aumento de fluorescencia en la PCR es posible determinar la *cantidad* de DNA diana presente en la muestra original. Es lo que se conoce como PCR cuantitativa, o PCR cuantitativa en tiempo real (qrt-PCR). Esta forma de PCR también tiene muchos usos, en concreto los análisis ambientales de DNA. Por ejemplo, la qrt-PCR puede utilizarse para determinar la abundancia de un organismo en una muestra cuantificando un gen característico de dicho organismo en concreto.

12.8 Minirrevisión

La reacción en cadena de la polimerasa es un método para amplificar el DNA *in vitro* que utiliza DNA-polimerasas termoestables. El DNA se desnaturaliza en dos cadenas sencillas mediante calor, y cada una de estas cadenas es copiada por la polimerasa. Después de cada ciclo, el DNA recién formado es desnaturalizado y empieza un nuevo ciclo de copia. En cada ciclo se duplica la cantidad de DNA diana.

- ¿Por qué es necesario un cebador en cada extremo del segmento de DNA que se amplifica?
- ¿De qué organismos se obtienen las DNA-polimerasas termoestables?
- ¿En qué se diferencia la PCR en tiempo real de la PCR estándar?

III MANIPULACIÓN DE GENES BACTERIANOS

El desarrollo de los métodos para la manipulación *in vitro* del DNA proporcionó nuevos enfoques en muchos sectores, incluyendo tanto la generación de mutantes como el análisis de la expresión génica. Estos dos campos se han revolucionado por la posibilidad de modificar una o varias bases a voluntad o unir distintos segmentos de DNA en un orden predeterminado.

12.9 Métodos moleculares de mutagénesis

Como ya hemos visto, los mutágenos convencionales introducen mutaciones *al azar* en el organismo intacto (Sección 11.7). Por el contrario, la mutagénesis *in vitro*, más conocida como **mutagénesis dirigida**, utiliza DNA sintético y técnicas de clonación de DNA para introducir mutaciones en genes *en sitios exactamente determinados*. Además de cambiar sólo algunas bases, las mutaciones también pueden manipularse insertando grandes fragmentos de DNA en ubicaciones determinadas de forma precisa.

Mutagénesis dirigida

La mutagénesis dirigida es una herramienta potente que permite cambiar cualquier par de bases de un gen específico, de modo que tiene muchas aplicaciones en genética. El procedimiento básico consiste en sintetizar un oligonucleótido corto de DNA que actúe como cebador y que contenga el cambio de par de bases (la mutación) de-

seado y permitir que se aparee con el DNA de cadena sencilla que contiene el gen diana. El apareamiento será total excepto en la pequeña región del error. Entonces, el oligonucleótido sintético se extenderá por acción de la DNA-polimerasa, y se copiará el resto del gen. A continuación, la molécula de doble cadena obtenida se inserta en una célula hospedadora por transformación. A menudo, los mutantes se seleccionan mediante algún tipo de selección positiva, como la resistencia a antibióticos; en este caso, el DNA modificado también llevará un marcador de resistencia a antibióticos.

En la **Figura 12.12** se ilustra un método de mutagénesis dirigida. El proceso empieza con la clonación del gen diana en un vector de DNA de cadena sencilla. Un vector ampliamente usado para ello es el bacteriófago M13, un fago de DNA de cadena sencilla cuyo genoma es fácil de manipular y que se replica en *Escherichia coli* (Sección 19.2). Algunos métodos de clonación disponibles están basados en M13 (Sección 12.15). El DNA mutado puede unirse a continuación mediante apareamiento de bases complementarias con el gen diana (Figura 12.12). Esto genera una molécula de DNA con un error de apareamiento. Tras la división celular y la replicación del DNA vector, ambas células hijas estarán completamente apareadas, pero una de ellas llevará una mutación y la otra será de tipo salvaje. Las bacterias de la progenie se rastrean en busca de las portadoras de la mutación.

El esquema básico de la mutagénesis dirigida también puede desarrollarse con PCR. En este caso, el pequeño oligonucleótido de DNA con la mutación de interés se utiliza como cebador en la PCR. El cebador mutágeno se diseña para aparearse con la diana con el error de apareamiento en medio, y debe tener suficientes nucleótidos apareados en ambos lados de éste para que resulte estable durante la reacción de PCR. El cebador mutágeno es apareado con un cebador normal. Cuando la PCR amplifica el DNA diana, incorpora las mutaciones en el cebador mutágeno.

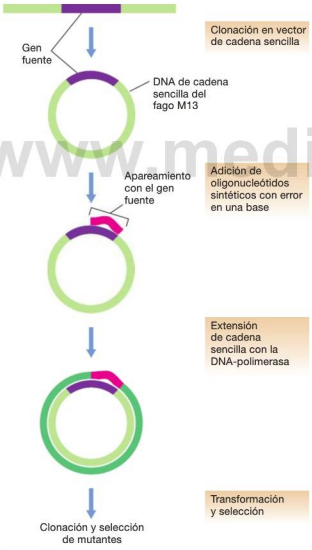


Figura 12.12 **Mutagénesis dirigida usando DNA sintético.** Se pueden utilizar pequeños oligodesoxirribonucleótidos sintéticos para generar mutaciones. Su clonación en el genoma del bacteriófago M13 genera el DNA de cadena sencilla necesario para que la mutagénesis dirigida funcione.

Aplicaciones de la mutagénesis dirigida

La mutagénesis dirigida se puede utilizar para determinar la actividad de las proteínas que contienen sustituciones conocidas de aminoácidos. Supongamos que estamos estudiando la importancia de algunos aminoácidos concretos en el centro activo de una enzima. La mutagénesis dirigida nos puede servir para cambiar un aminoácido específico de la enzima, y después podemos ensayar la actividad de la enzima modificada y compararla con la de tipo salvaje. En este experimento, el vector que codifica la enzima mutante se insertará en una cepa hospedadora mutante incapaz de sintetizar la enzima original. En consecuencia, la actividad que midamos será debida únicamente a la versión mutante de la enzima.

Gracias a la mutagénesis dirigida, los enzimólogos pueden unir prácticamente cualquier aspecto de la actividad de una enzima, como la catálisis, la resistencia o la sensibilidad a agentes químicos o físicos, o las interacciones con otras proteínas, a la secuencia de aminoácidos específicos de la proteína. En concreto, la mutagénesis dirigida ha aportado información detallada a los biólogos estructurales interesados en cuáles son los aminoácidos críticos para la funcionalidad de una enzima, y ha dado una mirada significativa a los mecanismos que subyacen a las reacciones catalizadas por enzimas.

Mutagénesis de casete e interrupción génica

Gracias al gran número de enzimas de restricción disponibles comercialmente y, por tanto, la gran cantidad de secuencias de DNA diferentes que se pueden cortar, normalmente es posible encontrar varios sitios de restricción diferentes dentro de cualquier gen diana. No obstante, si no hay sitios de restricción adecuados en la ubicación de interés, se pueden insertar por mutagéne-

www.medil

sis dirigida como se muestra en la Figura 12.12. Si los sitios de restricción están razonablemente cercanos entre sí, el fragmento de DNA entre ellos se puede cortar y sustituir por un fragmento sintético en el que se han cambiado uno o más nucleótidos.

Estos fragmentos sintéticos se llaman **casetes de DNA**, y el proceso se conoce como **mutagénesis de casete**. Cuando se utilizan casetes para sustituir secciones de genes, los casetes tienen el mismo tamaño que los fragmentos de DNA salvajes a los que sustituyen.

Otro tipo de mutagénesis de casete es la que se llama **interrupción génica**. En esta técnica, los casetes se insertan en medio de un gen y escinden así la secuencia codificadora. Los casetes utilizados para las mutaciones por inserción pueden tener casi cualquier tamaño, e incluso contener un gen entero. Para facilitar el proceso de selección, es frecuente utilizar casetes que codifiquen resistencia a algún antibiótico. El proceso de interrupción génica se ilustra en la **Figura 12.13.** En este caso, un casete de DNA que contiene un gen que confiere resistencia a kanamicina, el casete Kan, se inserta en un sitio de restricción en un gen clonado. A continuación se linealiza el vector que contiene este gen mutante cortándolo con una enzima de restricción diferente. Por último, el DNA lineal se transforma en el hospedador y se selecciona la resistencia a kanamicina. El plásmido linealizado no puede replicarse, de modo que las células resistentes se producen principalmente por recombinación homóloga (Sección 11.9) entre el gen mutado en el plásmido y el gen de tipo salvaje en el cromosoma.

Obsérvese que cuando se inserta un casete, las células no sólo adquieren resistencia a antibiótico, sino que además pierden la función del gen en el que se ha insertado el casete. Estas mutaciones reciben el nombre de *mutaciones de desactivación*. Son similares a las mutaciones por inserción causadas por transposones (Sección 13.10), pero aquí el investigador elige qué gen mutará. Las mutaciones de desactivación en organismos haploides (como los procariotas) producen células viables sólo si los genes interrumpidos no son esenciales. De hecho, la desactivación génica es un medio muy eficaz para determinar si un gen determinado es esencial o no.

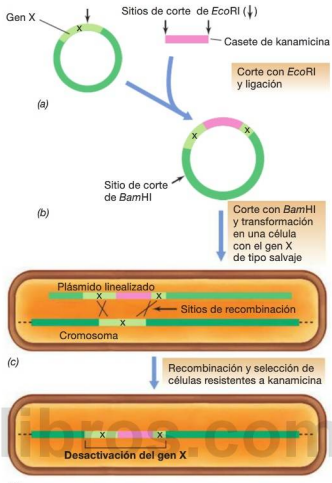


Figura 12.13 Interrupción génica por mutagénesis de casete. (*a*) Una copia salvaje clonada del gen X, contenida en un plásmido, se corta con *Eco*RI y se mezcla con el casete de kanamicina. (*b*) El plásmido cortado y el casete se unen para crear un plásmido con el casete de kanamicina como una mutación por inserción en el gen X. Este nuevo plásmido se corta con *Bam*H1 y se transforma en una célula. (*c*) La célula transformada contiene el plásmido linealizado con un gen X interrumpido y su propio cromosoma con una copia salvaje del gen. (*d*) En algunas células se produce recombinación homóloga entre las formas salvaje y mutante del gen X. Las células que pueden crecer en presencia de kanamicina tienen sólo una copia de X desactivada.

12.9 Minirrevisión

Las moléculas sintéticas de DNA de la secuencia deseada se pueden sintetizar *in vitro* y utilizarse para construir directamente un gen mutado o cambiar pares de bases específicos en el interior de un gen por mutagénesis dirigida. También, los genes se pueden desactivar insertando fragmentos de DNA, llamados casetes, en su interior, lo que genera mutantes desactivados.

- ¿Por qué es útil la mutagénesis dirigida para los enzimólogos?
- ¿Qué son las mutaciones de desactivación?

12.10 Fusiones génicas y genes testigo

La manipulación *in vitro* del DNA no sólo permitió nuevas aproximaciones a la generación de mutaciones, también revolucionó el estudio de la regulación génica. Se pueden realizar construcciones en las que una secuencia codificadora de una fuente se sitúe junto a la región reguladora de otra. Esto se puede utilizar para incrementar la expresión de un producto génico de interés, como se explica más adelante (Sección 12.13) o para analizar la respuesta de una región reguladora a distintas condiciones.

Genes testigo

Ya hemos analizado antes (Sección 12.4) el beneficio de localizar un sitio de clonación en el interior de un gen cuya actividad sea fácil de ensayar. En la ocasión anterior, el sistema utilizaba *lacZ*, el gen que codifica la β-galactosidasa, una enzima cuya actividad es fácilmente detectada en placas indicadoras (Figura 12.7 y 12.24) o mediante simples ensayos en líquido. En esta aplicación, el gen *lacZ* se ha utilizado como **gen testigo**.

La propiedad clave de un gen testigo es que codifique una proteína que sea fácil de detectar y de ensayar. Los genes testigo se utilizan para gran variedad de experimentos. Se pueden usar para indicar la presencia o ausencia de un elemento genético particular (como un plásmido) o de DNA inserto en un vector. También se pueden fusionar con otros genes o con el promotor de otros genes para estudiar su expresión.

Hay muchos genes que pueden actuar como testigo, además de *lacZ*. La enzima luciferasa, que ya hemos mencionado anteriormente, hace que las células en las que se expresa emitan luminiscencia (Sección 9.6). Las colonias que contienen este sistema testigo se pueden detectar en placas de agar por su luminiscencia en medio de un entorno con muchas otras colonias. No obstante, la expresión de la luciferasa depende de más de un gen, porque hay varios factores accesorios necesarios. Por el contrario, la **proteína de fluorescencia verde** (GFP, de *Green fluorescent protein*) no necesita factores accesorios y es ampliamente utilizada como gen testigo (**Figura 12.14**). El gen de la GFP se clonó inicialmente de la medusa *Aequorea victoria*, pero se puede expresar en la mayoría de las células. Es estable y provoca poca o ninguna interrupción del metabolismo de la célula hospedadora. Si la expresión de un gen clonado está ligada a la de GFP, la expresión de GFP indica que el gen clonado también se está expresando (Figura 12.14).

Figura 12.14 Proteína de fluorescencia verde (GFP). La GFP se puede utilizar como una marca para la localización de proteínas in vivo. En este ejemplo, el gen que codifica Pho2, una proteína de unión a DNA de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se fusionó con el gen que codifica la GFP y se fotografió por microscopía de fluorescencia. El gen recombinante se transformó en células de levadura en gemación que expresaron la proteína de fusión localizada en el núcleo.

Fusiones de genes

Es posible realizar construcciones formadas por segmentos de dos genes diferentes. Estas construcciones se conocen con el nombre de **fusiones de genes**. Si el promotor que controla una secuencia codificadora se elimina, la secuencia codificadora puede fusionarse con una región reguladora diferente para colocar al gen bajo el control de un promotor distinto. Otra posibilidad es fusionar el promotor con un gen cuyo producto sea fácil de ensayar. Este método se usa a menudo en el estudio de la regulación génica, especialmente cuando resulta difícil o lento medir la cantidad de un producto génico natural. La región reguladora del gen de interés se fusiona con la región codificadora de un gen testigo, como el de la β-galactosidasa o la GFP. El testigo se somete a condiciones que activarían la expresión del gen diana (**Figura 12.15**). La expresión del gen testigo se puede ensayar en diversas condiciones para determinar cómo está regulado el gen de interés.

Las fusiones de genes también se pueden utilizar para estudiar los efectos de los genes reguladores. Las mutaciones que afectan a los genes reguladores se introducen en las células que contienen las fusiones génicas, se mide la expresión y se compara con las células que carecen de mutaciones reguladoras. Esto permite el rastreo rápido

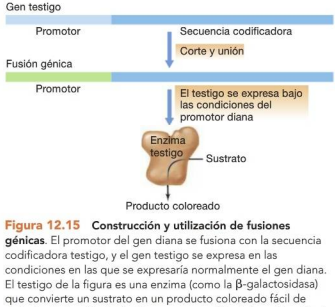


Figura 12.15 Construcción y utilización de fusiones génicas. El promotor del gen diana se fusiona con la secuencia codificadora testigo, y el gen testigo se expresa en las condiciones en las que se expresaría normalmente el gen diana. El testigo de la figura es una enzima (como la β-galactosidasa) que convierte un sustrato en un producto coloreado fácil de detectar. Este método facilita en gran medida la investigación de los mecanismos reguladores.

de muchos genes reguladores de los que se sospecha que controlan el gen diana.

12.10 Minirrevisión

Los genes testigo son genes cuyos productos, como la β-galactosidasa o la GFP, son fáciles de ensayar o de detectar. Se utilizan para simplificar y aumentar la velocidad de los análisis genéticos. En las fusiones génicas se empalman segmentos de dos genes diferentes, uno de los cuales es, generalmente, un gen testigo.

- ¿Por qué son útiles las fusiones de genes para estudiar la regulación génica?
- ¿Qué es un gen testigo?

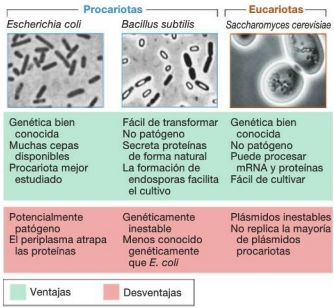


Figura 12.16 Hospedadores para la clonación molecular. Resumen de las ventajas y desventajas de algunos hospedadores de clonación habituales.

IV TÉCNICAS AVANZADAS DE CLONACIÓN

12.11 Hospedadores de los vectores de clonación

Para obtener grandes cantidades de DNA clonado, un hospedador ideal debería crecer rápidamente en un medio de cultivo que no fuera caro. Además, no debería ser patógeno y tendría que ser capaz de incorporar DNA, ser genéticamente estable en cultivo y tener las enzimas adecuadas que permitieran la replicación del vector. También resultaría útil que existiera ya una cantidad de información considerable sobre él y toda una batería de herramientas para su manipulación genética.

Los hospedadores más útiles para la clonación son microorganismos de crecimiento fácil y de los que se dispone de mucha información. Entre ellos se encuentran *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (**Figura 12.16**). De todos estos organismos existen las secuencias del genoma completo, y son ampliamente utilizados como hospedadores. No obstante, en algunos casos puede ser necesario utilizar otros hospedadores y vectores especializados para clonar y expresar adecuadamente el DNA.

Hospedadores procariotas

Aunque la mayoría de clonaciones moleculares se han realizado en *E. coli* (Figura 12.16), este hospedador también presenta algunas desventajas. *E. coli* es una elección excelente para los trabajos iniciales de clonación, pero resulta problemático como hospedador de expresión, ya que se encuentra en el intestino humano y algunas cepas salvajes son potencialmente patógenas. No obstante, se han desarrollado algunas cepas modificadas de *E. coli* con propósitos de clonación, de modo que sigue siendo el organismo preferido para la mayoría de clonaciones moleculares.

La bacteria grampositiva *B. subtilis* también se usa como hospedador de clonación (Figura 12.16). Aunque la tecnología para la clonación en *B. subtilis* está menos avanzada que en *E. coli*, se han desarrollado algunos plásmidos y fagos adecuados para la clonación en ella, y la transformación es una técnica muy bien desarrollada en este organismo. Su principal desventaja como hospedador de clonación es la inestabilidad de los plásmidos. A menudo es difícil mantener la replicación plasmídica a lo largo de muchos subcultivos del organismo. Además, el DNA extraño no se mantiene tan bien en *B. subtilis* como en *E. coli*, de modo que a menudo el DNA clonado se pierde inesperadamente.

Con frecuencia, los organismos hospedadores para clonación deben tener genotipos específicos para que resulten eficaces. Por ejemplo, si el vector de clonación utiliza el gen *lacZ* para el rastreo (Sección 12.10), entonces el hospedador debe llevar una mutación que deshabilite este gen. Como el fago M13 infecta solamente a bacterias con pelos F (Sección 12.15), los hospedadores utilizados para los vectores derivados de M13 deben contener y expresar genes en el plásmido F. Este tipo de consideraciones y otras, como la facilidad de selección de los transformantes, se deben tener en cuenta a la hora de elegir un hospedador de clonación.

Hospedadores eucariotas

La clonación en microorganismos eucariotas se ha centrado en la levadura *S. cerevisiae* (Figura 12.16). Para ella se han desarrollado plásmidos vectores y cromosomas artificiales (Sección 12.15). Una ventaja importante de las

células eucariotas como hospedadoras de los vectores de clonación es que ya poseen los complejos sistemas de procesamiento de RNA y postraduccionales necesarios para la producción de proteínas eucarióticas, de modo que no hay que introducirlos en el vector o en las células hospedadoras, como sería necesario si el DNA se clonara y tuviera que expresarse en hospedadores procariotas.

Para muchas aplicaciones se ha llevado a cabo la clonación de genes en células de mamíferos. En cierto sentido, los sistemas de cultivo de células de mamíferos se han manejado como los cultivos microbianos, y encuentran un amplio uso en la investigación en genética humana, cáncer, enfermedades infecciosas y fisiología. Una desventaja de las células de mamífero como hospedadoras es que son caras y difíciles de producir en condiciones a gran escala. Las líneas celulares de insectos son más fáciles de cultivar, y se han desarrollado vectores a partir de un virus de DNA de insecto, el baculovirus (Sección 12.15). Para algunas aplicaciones, en concreto para la agricultura, el hospedador de clonación puede ser una línea de cultivo de tejidos vegetales, o incluso una planta completa. De hecho, la ingeniería genética tiene muchas aplicaciones en la agricultura (Sección 26.10). No obstante, independientemente del tipo de hospedador eucariótico, es necesario introducir el DNA del vector en la célula hospedadora; hablaremos de ello a continuación.

Transfección de células eucariotas

Los microorganismos eucariotas y las células animales y vegetales pueden adquirir DNA en un proceso que recuerda a la transformación bacteriana (Sección 11.10). Como la palabra «transformación» ya se utiliza para describir la conversión de células de mamífero en células cancerosas, la introducción de DNA en células de mamífero se suele denominar con el término *transfección*.

La transfección de células de mamífero cultivadas se llevó a cabo inicialmente precipitando el DNA de modo que las células lo tomaran por fagocitosis, lo que es posible porque las células animales no tienen pared celular. En las células animales, el DNA también puede inyectarse directamente en el núcleo con micropipetas, una técnica llamada *microinyección*.

En levaduras, organismos importantes para la ingeniería genética, la transfección de baja eficiencia puede estar mediada por varios métodos. No obstante, una técnica llamada *electroporación* es ampliamente utilizada en las células eucariotas tanto si existe pared celular como si no. La electroporación consiste en exponer las células hospedadoras a pulsos de campo eléctrico en presencia del DNA clonado. El tratamiento eléctrico abre pequeños poros en la membrana citoplasmática, a través de los cuales puede penetrar el DNA. Los poros generados son insuficientes para causar graves daños o lisis en la célula, pero bastan para permitir la entrada del DNA clonado.

Además de la electroporación, se puede utilizar una «pistola» de microproyectiles de alta velocidad para introducir el DNA en las células. La pistola de partículas o pistola génica funciona mediante un propulsor, como el helio presurizado, para disparar las partículas cubiertas con DNA a través de un pequeño cilindro de acero hacia las células diana (**Figura 12.17**). El bombardeo de partículas agujerea la pared celular y la membrana citoplasmática sin matar a la célula. El ácido nucleico que entra en las células se recombina con el DNA hospedador. La pistola de partículas se ha utilizado con éxito para transfectar levaduras, algas y células vegetales superiores. Además, a diferencia de la electroporación, la pistola génica se puede utilizar para introducir DNA en tejidos intactos, como semillas de plantas, y en mitocondrias y cloroplastos.

12.11 Minirrevisión

La elección de un hospedador de clonación depende de la aplicación que se le vaya a dar. En muchos casos, el hospedador puede ser un procariota, pero en otros es esencial que sea un eucariota. El hospedador debe ser capaz de adquirir DNA, y hay toda una serie de técnicas para llevarlo a cabo, tanto naturales como artificiales.

- ¿Por qué es necesario un hospedador para la clonación molecular?
- Describa los mecanismos por los que las células pueden adquirir DNA.

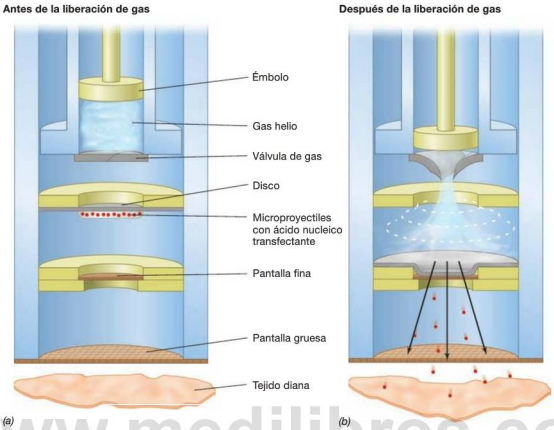
www.medilibros.com

12.12 A la búsqueda del clon correcto

La ingeniería genética empieza con el aislamiento de un clon que contiene un gen de interés. A continuación se pueden realizar distintas manipulaciones sobre este gen, según sea la aplicación. Pero antes es necesario identificar al hospedador que contiene el clon correcto. Los métodos para clonar el DNA incluyen la construcción de bibliotecas génicas a partir del DNA genómico completo (Sección 12.3) y la clonación de un fragmento de DNA sintetizado por PCR (Sección 12.8). Los productos de la PCR se utilizan, normalmente, cuando el gen de interés ya ha sido identificado y el objetivo es obtener un solo clon. Sin embargo, en una biblioteca génica puede haber decenas de miles de clones, y a menudo sólo uno o unos pocos contienen el gen de interés. ¿Cómo se identifican estos clones?

El cribado inicial

Se pueden aislar células hospedadoras que contengan un plásmido vector mediante la selección de un marcador del vector, como la resistencia a antibióticos, de forma que sólo estas células formen colonias (Sección 12.4). Para encontrar las células que contienen el vector vírico, simplemente hay que buscar calvas (Sección 12.14). Estas colonias de calvas también se pueden rastrear en



www.medilibros.com

Figura 12.17 Pistola de DNA para la transfección de células eucariotas. El diseño de los mecanismos internos de la pistola muestra cómo se proyectan unas partículas metálicas cubiertas con ácido nucleico (microproyectiles) hacia las células diana. (*a*) Antes de disparar y (*b*) después de disparar. Una onda expansiva causada por la liberación de gas empuja el disco que lleva los microproyectiles contra la pantalla fina. Los microproyectiles continúan hasta el tejido diana.

busca de vectores que contengan insertos de DNA extraño atendiendo a la inactivación de un gen del vector (Figura 12.7).

Cuando se clona un solo fragmento de DNA generado por PCR o purificado por cualquier otro método, normalmente es suficiente con estas selecciones o rastreos sencillos; sin embargo, con una colección heterogénea de fragmentos de DNA, como es el caso de una biblioteca génica, la identificación de las células que contienen el DNA clonado es sólo el primer paso. El mayor desafío sigue siendo encontrar al clon que contiene el gen de interés. Se deben examinar las colonias de bacterias o las calvas de las células infectadas por el virus creciendo en placas de agar y detectar esas pocas que contienen el gen de interés. A veces, el gen clonado se expresa y la proteína se sintetiza en el hospedador de clonación y puede detectarse. Pero a menudo el gen clonado no se expresa; en ese caso, la única opción es buscar el propio DNA.

Genes foráneos expresados en el hospedador de clonación

Si el gen extraño se expresa en el hospedador de clonación, la proteína codificada se puede buscar en colonias de la célula hospedadora. Obviamente, para que esto funcione el hospedador no debe producir por sí mismo la proteína de estudio. Así, cuando el gen foráneo se incorpore, se podrá detectar su expresión. Esto hace relativamente sencilla la selección de células que contienen genes clonados, sobre todo si la expresión de estos genes es fácil de observar. Un ejemplo sorprendente es la clonación de genes de luciferasa (Figura 9.14) en otros organismos, lo que permite a éstos brillar en la oscuridad.

Uso de anticuerpos para detectar proteínas

Los anticuerpos se pueden utilizar como reactivos de detección para una proteína de interés. Los anticuerpos son proteínas séricas producidas por los animales, que se unen de forma muy específica a una molécula diana, el antígeno (Sección 29.5). En la aplicación de anticuerpos para detección, la proteína codificada por el gen clonado es el antígeno y se utiliza para producir un anticuerpo en un animal experimental. Como el anticuerpo se combina específicamente con el antígeno, cuando el antígeno está presente en una o más colonias de la placa, la localización de estas colonias se puede hacer observando la unión del anticuerpo.

Como sólo una pequeña cantidad de la proteína (antígeno) está presente en cada colonia, sólo se une una pe-

queña cantidad de anticuerpo, de modo que hay que disponer de un método de alta sensibilidad para detectar el anticuerpo unido. En la práctica, la detección se lleva a cabo con radioisótopos, quimioluminiscencia o enzimas. Éstas y otras técnicas extremadamente sensibles para detectar antígenos se explican en el capítulo 32.

Este método de detección depende del rastreo, no de la selección, de modo que puede ser necesario examinar miles de clones. Éstos pueden ser colonias que contengan plásmidos o calvas que contengan virus que produzcan el producto clonado. En la **Figura 11.18*a*** se detalla el método con detección radioactiva. Como ya se ha visto, el método de siembra de réplicas (Figura 11.5) se utiliza para producir un duplicado de la placa original. No obstante, la duplicación se lleva a cabo en un filtro de membrana sintético, y todas las manipulaciones posteriores se hacen sobre este filtro. Las colonias duplicadas se lisan para liberar la proteína (antígeno) de interés. (El rastreo usando vectores víricos elimina este paso, porque las bacterias ya están lisadas.) A continuación se añade el anticuerpo, que reacciona con el antígeno. El anticuerpo que no se ha unido se elimina por lavado y se añade un reactivo radioactivo específico del anticuerpo. Se coloca una película de rayos X sobre el filtro y se expone. Si hay una colonia radioactiva, se observa una mancha en la película de rayos X revelada (Figura 12.18*a*). La localización de la mancha en la película corresponde a la de la colonia que produce la proteína en la placa original. A continuación se puede tomar la colonia de la placa y subcultivarla.

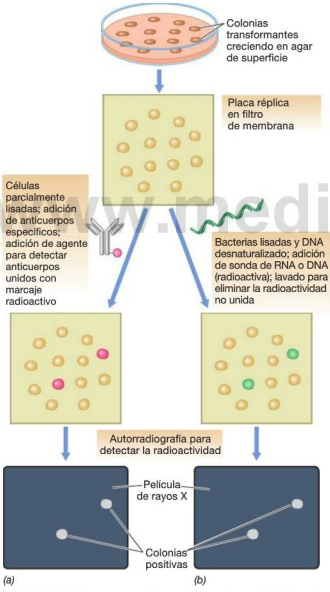


Figura 12.18 **Búsqueda de la colonia correcta.** (*a*) Método para detectar la producción de proteínas usando un anticuerpo específico. (*b*) Método para detectar clones recombinantes por hibridación de las colonias con una sonda de ácido nucleico radioactivo. La formación de un DNA dúplex une la sonda de DNA a una mancha concreta de la membrana.

Una limitación a este método es que debe disponerse de un anticuerpo específico para la proteína en cuestión. Los anticuerpos se producen inyectando la proteína antigénica específica en un animal. Pero para tener éxito, la proteína inyectada debe estar pura; de lo contrario, se formarán anticuerpos con diversas especificidades. Por tanto, conviene purificar la proteína de interés antes de que las reacciones de falsos positivos dificulten la selección de clones.

www.medilibros.com

Sondas de ácido nucleico: en busca del propio gen

Supongamos que el gen de interés clonado no se expresa en el hospedador de clonación y no disponemos de ningún ensayo ni anticuerpo para el producto génico. ¿Cómo detectamos entonces su presencia? Podemos hacerlo por hibridación usando una sonda de ácido nucleico que contenga un fragmento clave de la secuencia de bases del gen diana. Como ya hemos dicho, la hibridación se puede utilizar para detectar ácidos nucleicos que contengan secuencias específicas (Sección 12.2). Tanto el DNA como el RNA se pueden usar como sonda. El procedimiento general es marcar la sonda de ácido nucleico, normalmente con fosfato radiactivo ($^{32}PO_4^{2-}$) o con un grupo fluorescente. A continuación, la sonda de cadena sencilla se hibrida con el DNA de cadena sencilla del clon. Con las condiciones de hibridación apropiadas, es posible ajustar la «rigidez» de la hibridación de modo que la complementariedad sea prácticamente exacta; esto ayuda a evitar los falsos positivos.

En la hibridación en colonias se utiliza una sonda de ácido nucleico para detectar DNA recombinante en las colonias, como se muestra en la Figura 12.18*b*. Este método vuelve a hacer uso de la siembra de réplicas para producir un duplicado de la placa original en un filtro de membrana. (El mismo método se puede utilizar con vectores víricos transfiriendo las calvas a una membrana.) Las células del filtro se lisan *in situ* para liberar el DNA, y el filtro se trata para convertir el DNA a su forma monocatenaria y fijarlo en el filtro. Después se expone éste a

una sonda de ácido nucleico marcado y se permite la hibridación; la sonda no unida se elimina por lavado. A continuación se coloca el filtro sobre una película de rayos X, si la sonda era radiactiva. Después de revelarla, la película de rayos X se examina en busca de manchas (Figura 12.18*b*), que corresponderán a los sitios en la membrana en los que la sonda radioactiva ha hibridado con el DNA en una colonia concreta. Se escogen las colonias que corresponden a estas manchas y se analizan.

12.12 Minirrevisión

Para detectar un gen extraño en el hospedador de clonación son necesarios métodos especiales. Si el gen se expresa, la presencia de la proteína codificada, detectada por su actividad o por reacción con anticuerpos específicos, es señal de que el gen está presente. No obstante, si el gen no se expresa, puede ser detectado por hibridación con una sonda de ácido nucleico.

- ¿El uso de las sondas de ácido nucleico depende de la expresión del gen? Explique por qué.
- ¿Por qué es necesario lisar las células que contienen los plásmidos para detectar el producto del gen clonado?

www.medilibros.com

12.13 Vectores lanzadera y vectores de expresión

Una vez que se ha clonado un gen, se puede utilizar para muchas cosas diferentes. Se han construido vectores especializados para su uso en diferentes situaciones. Aquí vamos a explicar cómo mover un gen clonado entre organismos de especies diferentes y cómo optimizar la expresión de dicho gen. Para ello, hay dos clases de vectores adecuados: los vectores *lanzadera* y los vectores *de expresión*.

Vectores lanzadera

Los vectores que pueden replicarse y mantenerse estables en dos (o más) organismos hospedadores no relacionados entre sí se llaman **vectores lanzadera**. Así pues, los genes que contiene un vector lanzadera se mueven entre organismos no relacionados. Se han desarrollado vectores lanzadera que pueden replicarse en *Escherichia coli* y en *Bacillus subtilis*, en *E. coli* y levadura, y en *E. coli* y células de mamífero, así como en otros muchos pares de organismos. La importancia de un vector lanzadera es que el DNA clonado en un organismo se puede replicar en un segundo hospedador sin modificar el vector de ninguna manera.

Se han diseñado muchos vectores lanzadera para mover genes entre *E. coli* y la levadura. Los vectores de plásmidos bacterianos fueron el punto de inicio, y se modificaron para funcionar también en levaduras. Como los orígenes de replicación bacterianos no funcionan en eucariotas, es necesario aportar un origen de replicación propio de levaduras. La ventaja es que las secuencias de los orígenes de replicación son similares en diferentes eucariotas, de modo que el origen de las levaduras funciona en otros organismos superiores. Cuando las células eucariotas se dividen, los cromosomas duplicados son separados por los microtúbulos (fibras del huso) unidos a sus centrómeros (Sección 8.6). En consecuencia, los vectores lanzadera de eucariotas deben contener un segmento de DNA del centrómero para poder distribuirse correctamente en la división celular (**Figura 12.19**). Por suerte, la secuencia de reconocimiento del centrómero de levadura, la secuencia CEN, es relativamente corta y fácil de insertar en los vectores lanzadera.

Otro requisito es la presencia de un marcador conveniente para seleccionar el plásmido en levaduras. Lamentablemente, las levaduras no son sensibles a la mayoría de los antibióticos que son eficaces contra las bacterias. En la práctica se utilizan las cepas hospedadoras de levaduras que son defectivas en sintetizar un aminoácido o una base purínica o pirimidínica concretos. En el vector lanzadera se inserta una copia funcional del gen biosintético defectivo en el hospedador; por ejemplo, si se utiliza el gen *URA3*, necesario para la síntesis de uracilo, la

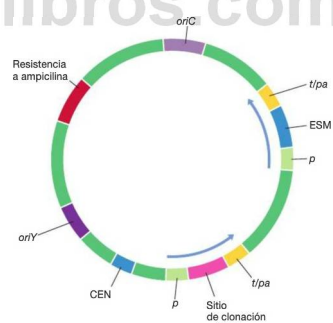


Figura 12.19 Mapa genético de un vector lanzadera utilizado en levadura. El vector contiene componentes que le permiten moverse entre *Escherichia coli* y la levadura y ser seleccionado en cada organismo: *oriC*, origen de replicación en *E. coli*; *oriY*, origen de replicación en levadura; ESM, marcador seleccionable en eucariotas; CEN, secuencia centromérica de levaduras; *p*, promotor; t/pa, señales de terminación de la transcripción/poliadenilación. Las flechas indican la dirección de la transcripción.

levadura no crecerá en ausencia de uracilo a menos que adquiera una copia del vector lanzadera.

Vectores de expresión

Los organismos tienen sistemas reguladores complejos, y a menudo los genes clonados se expresan poco o nada en una célula hospedadora extraña. Este problema se aborda utilizando **vectores de expresión**, vectores diseñados para permitir al investigador controlar la expresión de los genes clonados. Generalmente, el objetivo es obtener altos niveles de expresión, especialmente en las aplicaciones biotecnológicas. No obstante, cuando se trata con productos génicos potencialmente tóxicos puede ser más apropiado obtener un nivel de expresión bajo pero estrictamente controlado.

El control sobre la expresión se consigue porque los vectores de expresión contienen secuencias reguladoras que permiten la manipulación de la expresión génica. Normalmente, el control es transcripcional, porque para obtener altos niveles de expresión es esencial producir gran cantidad de mRNA. En la práctica, altos niveles de transcripción requieren promotores fuertes que se unan a la RNA-polimerasa de manera eficiente (Sección 7.10). Sin embargo, el promotor nativo de un gen clonado puede funcionar mal en el nuevo hospedador. Por ejemplo, los promotores de eucariotas o incluso de otras bacterias funcionan mal o no funcionan en absoluto en *E. coli*. De hecho, incluso algunos promotores de *E. coli* funcionan a bajos niveles en *E. coli* porque sus secuencias se ajustan poco a la secuencia consenso del promotor y se unen la RNA-polimerasa de manera poco eficaz (Sección 7.10).

Por esta razón, los vectores de expresión deben contener un promotor que funcione eficazmente en el hospedador y uno que esté correctamente situado para dirigir la transcripción del gen clonado. Los promotores de *E. coli* que se usan en los vectores de expresión incluyen *lac* (el promotor del operón *lac*), *trp* (el promotor del operón *trp*), *tac* y *trc* (híbridos sintéticos de los promotores *trp* y *lac*), y P_L de lambda (el promotor de lambda hacia la izquierda; Sección 10.10). Todos ellos son promotores «fuertes» en *E. coli* y pueden regularse de manera específica.

Regulación de la transcripción de los vectores de expresión

Es importante regular la expresión de los genes clonados. Aunque normalmente se quiere producir una gran cantidad de mRNA (y conseguir traducirlo), rara vez es deseable transcribir los genes clonados a elevados niveles en todo momento. Lo ideal es que el cultivo que contiene el vector de expresión crezca hasta que se obtenga una gran población de células, cada una de ellas con muchas copias del vector. Después se puede activar la expresión del gen deseado mediante un interruptor genético.

La regulación de la transcripción por una proteína represora (Sección 9.3) es una forma útil de controlar un gen clonado. Un represor fuerte puede bloquear completamente la síntesis de las proteínas que están bajo su control uniéndose a la región del operador. Además, cuando se necesita la expresión del gen, se puede eliminar el represor añadiendo el inductor, lo que permite la transcripción de los genes regulados. Para que un sistema represor-operador controle la producción de una proteína extraña, el vector de expresión está diseñado de forma que el gen clonado se inserta exactamente después del promotor elegido y de la región del operador. A menudo se incluye un sitio de unión al ribosoma fuerte entre el promotor y el gen clonado, lo que tiene como resultado el control del gen clonado por el promotor elegido junto con la transcripción y la traducción eficientes. Normalmente, el operador y el promotor se corresponden entre sí (por ejemplo, el operador *lac* se utiliza con el promotor *lac*), pero no es necesario que sea así. Por ejemplo, en ocasiones se utilizan regiones reguladoras híbridas (por ejemplo, fusionando el promotor *trp* con el operador *lac* para formar el elemento regulador *trc*).

En la **Figura 12.20** se muestra un vector de expresión controlado por *trc*. Este plásmido contiene también una copia del gen *lacI* que codifica el represor *lac*. La cantidad de represor en una célula que contenga este plásmido es suficiente para impedir la transcripción desde el promotor

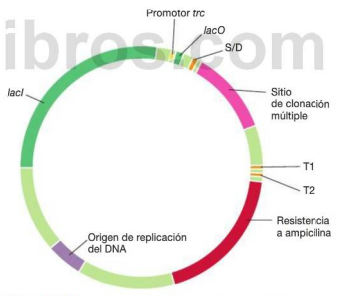


Figura 12.20 Mapa genético del vector de expresión pSE420. Este vector fue desarrollado por Invitrogen Corp., una empresa de biotecnología. El sitio de clonación múltiple contiene muchas secuencias de reconocimiento de enzimas de restricción diferentes para facilitar la clonación. Esta región, más el gen clonado insertado, son transcritas por el promotor *trc*, que se encuentra inmediatamente antes del operador *lac* (*lacO*). Inmediatamente antes del sitio de clonación múltiple hay una secuencia que codifica un sitio de Shine-Dalgarno (S/D) de unión a ribosoma en el mRNA resultante. Después del sitio de clonación múltiple hay dos terminadores de la transcripción (T1 y T2). El plásmido contiene también el gen *lacI*, que codifica el represor *lac*, y un gen que confiere resistencia al antibiótico ampicilina. Estos dos genes están bajo el control de sus propios promotores, que no se muestran.

www.libros.com

trc hasta que se añade el inductor. La adición de lactosa o inductores de *lac* relacionados induce el inicio de la transcripción del DNA clonado (Figura 12.20). Además de un promotor fuerte y fácil de regular, la mayoría de los vectores de expresión contienen un terminador de la transcripción eficaz (Sección 7.11), que impide que la transcripción desde el fuerte promotor continúe con otros genes del vector, lo que interferiría con su estabilidad. El vector de expresión que se muestra en la Figura 12.20 posee fuertes terminadores de la transcripción para detenerla inmediatamente después del gen clonado.

Regulación de la expresión con los elementos de control del bacteriófago T7

En algunos casos, el sistema de control transcripcional puede no ser una parte normal en absoluto del hospedador. Un ejemplo de ello es el uso del promotor del bacteriófago T7 y la RNA-polimerasa de T7 para regular la expresión. Cuando T7 infecta a *E. coli*, codifica su propia RNA-polimerasa, que reconoce sólo los promotores de T7, y desactiva así de manera eficaz la transcripción del hospedador (Sección 19.3). En los vectores de expresión de T7, los genes clonados se sitúan bajo el control del promotor de T7, y se limita así su transcripción. Para conseguirlo, el gen de la RNA-polimerasa de T7 también debe estar presente en la célula bajo el control de un sistema fácil de regular, como *lac* (**Figura 12.21**). Normalmente se hace integrando el gen de la RNA-polimerasa de T7 con un promotor *lac* en el cromosoma de una cepa hospedadora especializada.

La serie BL21 de cepas hospedadoras está especialmente diseñada para trabajar con la serie pET de los vectores de expresión de T7. Los genes clonados se expresan poco tiempo después de la activación de la transcripción de la RNA-polimerasa de T7 por un inductor *lac*, como el IPTG. La RNA-polimerasa de T7 transcribe sólo los genes clonados porque únicamente reconoce los promotores de T7. Esta polimerasa es tan activa que utiliza la mayoría de precursores del RNA, de forma que los genes del hospedador que necesitan la RNA-polimerasa del hospedador quedan, en su mayoría, sin transcribir y, por tanto, la célula deja de crecer. La síntesis de proteínas en estas células pasa así a estar dominada por la proteína de interés. Por lo tanto, el sistema de control de T7 es muy eficaz para generar cantidades extremadamente grandes de una proteína de interés concreta.

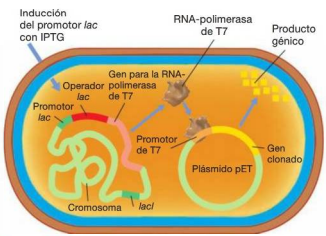


Figura 12.21 **Sistema de expresión de T7**. El gen de la RNA-polimerasa de T7 se encuentra en una fusión génica bajo el control del promotor *lac* y está insertado en el cromosoma de una cepa hospedadora especial de *Escherichia coli*. La adición de IPTG induce el promotor *lac*, lo que causa la expresión de la RNA-polimerasa de T7. Ésta transcribe el gen clonado, que está bajo el control del promotor de T7 y se encuentra en el plásmido pET.

Traducción del gen clonado

Los vectores de expresión también deben diseñarse para asegurar que el mRNA producido se traduzca de manera eficiente. Para sintetizar una proteína a partir de un mRNA, es fundamental que los ribosomas se unan al sitio correcto y empiecen a leer en la pauta de lectura adecuada. En las bacterias, esto se consigue teniendo un sitio de unión al ribosoma (secuencia de Shine-Dalgarno, Sección 7.15) y un codón de inicio cercano en el mRNA. Los sitios de unión al ribosoma bacterianos no se encuentran en los genes eucariotas y hay que introducirlos en el vector si se desea obtener altos niveles de expresión génica eucariótica. De nuevo, el vector de la Figura 12.20 contiene uno de estos sitios.

A menudo hay que realizar ajustes para asegurar una traducción de alta eficiencia una vez que el gen se ha clonado. Por ejemplo, el uso codónico puede ser un obstáculo. El uso codónico está relacionado con la concentración del tRNA adecuado en la célula. Así, si un gen clonado tiene un uso codónico muy diferente del del hospedador de expresión, probablemente sea traducido de manera ineficiente en dicho hospedador. La mutagénesis dirigida (Secciones 12.7 y 12.9) se puede utilizar para cambiar codones seleccionados del gen, y hacerlos más afines al patrón de uso codónico del hospedador.

Por último, si el gen clonado contiene intrones, como tienen normalmente los genes eucarióticos (Sección 8.8), no se sintetizará el producto proteico correcto si el hospedador es un procariota. Este problema también puede solucionarse utilizando DNA sintético. No obstante, el método habitual para crear un gen sin intrones es obtener el mRNA (en el que los intrones ya han sido eliminados) y utilizar una transcriptasa inversa (Sección 26.2) para generar una copia de cDNA de éste.

Vectores eucariotas

A menudo es deseable clonar y expresar los genes directamente en eucariotas, y existen vectores disponibles para realizar la clonación en levaduras. La levadura es uno de los pocos eucariotas que contiene un plásmido, llamado el círculo de dos micras, y la mayoría de vectores de levaduras están basados en él. El uso de cromosomas artificiales de levadura para clonar fragmentos muy largos de DNA se explica a continuación (Sección 12.15).

Los vectores víricos se usan normalmente en eucariotas multicelulares. Por ejemplo, el virus de DNA SV40 (Sección 19.11), que causa tumores en primates, ha sido convertido en vector de clonación para los cultivos de células humanas. Se han desarrollado derivados del SV40 que no inducen tumores para clonar y expresar genes de mamíferos. Otros vectores de mamíferos utilizan el adenovirus (Sección 19.14) o el virus vaccinia (Sección 19.13). Los vectores del virus vaccinia en concreto se han utilizado para desarrollar vacunas recombinantes (Sección 26.5). Los vectores derivados del baculovirus, un virus de DNA que se replica en células de insecto, se pueden utilizar para sintetizar grandes cantidades de los productos de los genes clonados.

Otros vectores de expresión se han desarrollado específicamente para mantener estables y expresar genes clonados en un organismo o un tejido.

Estos **vectores integradores** se mantienen en bajo número de copias (normalmente una copia por genoma) integrándose en el cromosoma del hospedador. Se han desarrollado en eucariotas, desde levaduras hasta mamíferos, así como en algunas bacterias. Los vectores integradores se utilizan tanto en la ciencia básica como en aplicaciones como la terapia génica (Sección 26.9). En concreto, los retrovirus se pueden utilizar para introducir genes en células de mamífero, ya que estos virus se replican mediante su forma de DNA, integrada en el cromosoma del hospedador (Sección 19.15).

www.medilibros.com

12.13 Minirrevisión

Muchos genes clonados no se expresan eficientemente en un hospedador extraño. Se han desarrollado vectores de expresión para hospedadores procariotas y eucariotas que contienen genes o secuencias reguladoras que aumentan la transcripción del gen clonado y controlan el grado de transcripción. También pueden estar presentes en el vector de expresión señales para mejorar la eficiencia de la traducción.

- Describa algunos de los componentes de un vector de expresión que mejore la expresión del gen clonado.
- Describa los componentes necesarios para que un vector lanzadera sea eficaz.

12.14 El bacteriófago lambda como vector de clonación

Recordemos que durante el proceso de transducción especializada algunos genes del hospedador se incorporaban en el genoma de un bacteriófago y que el bacteriófago lambda es el fago más estudiado para la transducción especializada (Sección 11.11). Durante la transducción especializada, lambda actúa como vector, pero la recombinación se produce en la célula, no en un tubo de ensayo. Lambda también puede utilizarse como vector de clonación para la recombinación *in vitro*.

Lambda es un vector de clonación especialmente útil porque se conoce bien su biología, puede contener más cantidad de DNA que la mayoría de los plásmidos, y el DNA puede empaquetarse eficientemente en partículas fágicas *in vitro*, que pueden utilizarse para infectar células hospedadoras adecuadas, y la infección es mucho más eficiente que la transformación (transfección). El fago lambda tiene un gran número de genes, pero el tercio central de su genoma, la región entre los genes J y N (**Figura 12.22**), no es esencial para la infectividad y puede ser sustituido por DNA extraño. Esto permite la clonación de fragmentos de DNA relativamente grandes, de hasta unos 20 kbp, que es el doble de la capacidad de clonación de los vectores plasmídicos pequeños típicos, como pUC19 (Sección 12.4).

Fagos lambda modificados

El fago lambda de tipo salvaje no es adecuado como vector de clonación porque su genoma tiene demasiados sitios de restricción. Para evitar esta dificultad, se han construido fagos lambda modificados, especialmente con fines de clonación. En un grupo de fagos lambda modificados, llamados *fagos Caronte* (en inglés *Charon*), se han eliminado por mutación los sitios de restricción no deseados. El DNA extraño se puede insertar en variantes que tienen sólo un sitio de restricción, como Caronte 16. Por otra

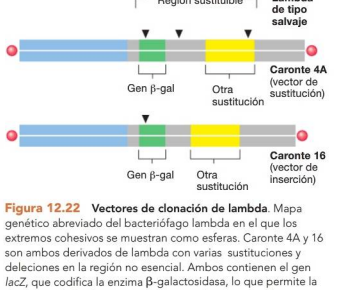


Figura 12.22 Vectores de clonación de lambda. Mapa genético abreviado del bacteriófago lambda en el que los extremos cohesivos se muestran como esferas. Caronte 4A y 16 son ambos derivados de lambda con varias sustituciones y deleciones en la región no esencial. Ambos contienen el gen *lacZ*, que codifica la enzima β-galactosidasa, lo que permite la detección de los fagos que contienen clones insertados. Mientras el genoma de lambda de tipo salvaje es de 48,5 kbp, el de Caronte 4A es de 45,4 y el de Caronte 16 es de 41,7 kbp. Las flechas sobre los mapas de cada fago indican los sitios reconocidos por la enzima de restricción *EcoRI*.

parte, en variantes con dos sitios, como Caronte 4A, el DNA extraño puede sustituir un segmento específico del DNA de lambda (Figura 12.22). Estos *vectores de sustitución* son especialmente útiles para clonar grandes fragmentos de DNA. Cuando se utiliza Caronte 4A como vector de sustitución, los dos pequeños fragmentos interiores se cortan y se desechan.

Etapas en la clonación con lambda

La clonación con vectores de sustitución de lambda se realiza siguiendo las etapas que se indican a continuación (**Figura 12.23**):

1. Aislamiento del DNA del vector a partir de las partículas del fago y corte en dos fragmentos con la enzima de restricción adecuada.
2. Conexión de dos fragmentos de lambda con fragmentos de DNA extraño usando la DNA-ligasa. Se escogen las condiciones para que las moléculas se formen de una longitud adecuada para el empaquetamiento en las partículas fágicas.
3. Empaquetamiento del DNA por adición de extractos celulares que contienen las proteínas de cabeza y cola y permitiendo la formación de partículas fágicas viables de manera espontánea.
4. Infección de células de *E. coli* y aislamiento de los clones fágicos seleccionando las calvas en una cepa hospedadora.
5. Búsqueda en los fagos recombinantes de la presencia de la secuencia de DNA extraño de interés mediante los métodos de hibridación de ácidos nucleicos, secuenciación u observación de las propiedades genéticas.

La selección de recombinantes es menos problemática con los vectores de sustitución lambda (como el Caronte 4A) que con los plásmidos porque 1) la eficiencia de la transferencia de DNA recombinante a la célula por parte de lambda es muy alta y 2) los fragmentos de lambda que no han recibido nuevo DNA son demasiado pequeños para incorporarse en partículas fágicas. Por tanto, todos los viriones fágicos viables deberían contener DNA clonado.

Los vectores Caronte también se manipulan para contener genes testigo, como el gen de la β-galactosidasa mencionado antes. Cuando los vectores se replican en una cepa negativa de lactosa (Lac^-) de *E. coli*, la β-galactosidasa se sintetiza desde el gen del fago, y la presencia de calvas positivas de lactosa (Lac^+) se puede detectar utilizando un agar indicador coloreado (Sección 12.4). No obstante, si se inserta un gen en el gen de la β-galactosidasa, el carácter Lac^+ se perderá. Estas calvas Lac^- se pueden detectar rápidamente como calvas incoloras en medio de un entorno de calvas coloreadas (véase la Figura 12.24*b*).

Vectores cósmidos

Al igual que los vectores de sustitución, los vectores cósmidos utilizan genes lambda específicos y son empaquetados en viriones lambda. Los *cósmidos* son vectores plasmídicos que contienen el sitio *cos* del genoma de lambda, que genera extremos cohesivos cuando se cortan (Sección 10.10). El sitio *cos* es necesario para empaquetar el DNA en los viriones lambda. Los cósmidos se construyen a partir de plásmidos ligando la región *cos* de lambda al DNA del plásmido. Después, se liga el DNA extraño al vector. El plásmido modificado, más el DNA clonado, se pueden empaquetar a continuación en viriones lambda *in vitro* como se ha descrito anteriormente, y las partículas fágicas se pueden utilizar para la transducción de *E. coli*.

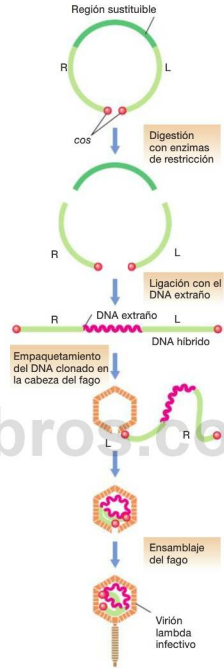


Figura 12.23 El fago lambda como vector de clonación. El tamaño máximo del DNA insertado es de unos 20 kbp.

www.medilibros.com

Una gran ventaja de los cósmidos es que pueden ser utilizados para clonar grandes fragmentos de DNA, ya que el sistema acepta insertos de hasta 50 kbp. Por tanto, cuanto mayor sea el inserto, menos clones serán necesarios para cubrir un genoma completo. El uso de cósmidos evita la necesidad de tener que transformar *E. coli,* que resulta especialmente ineficaz con plásmidos grandes. Los cósmidos también permiten el almacenamiento del DNA en partículas fágicas en lugar de en plásmidos. Puesto que las partículas fágicas son más estables, el DNA recombinante se puede guardar durante largos períodos.

12.14 Minirrevisión

Algunos bacteriófagos, como lambda, se han modificado para construir vectores de clonación útiles. En lambda se pueden clonar cantidades mayores de DNA extraño que con muchos plásmidos. Además, el DNA recombinante se puede empaquetar *in vitro* para su transferencia eficiente a una célula huésped. Los vectores plasmídicos que contienen los sitios *cos* de lambda se llaman cósmidos, y pueden contener grandes fragmentos de DNA extraño.

- ¿Por qué resulta útil la capacidad para empaquetar DNA recombinante en un tubo de ensayo?
- ¿Qué es un vector de sustitución?

www.medil

12.15 Vectores para la clonación y la secuenciación genómicas

La mayoría de las técnicas explicadas en esta sección son variaciones de las técnicas *in vitro* explicadas anteriormente. Los principios siguen siendo los mismos, pero ahora el énfasis se pone en el genoma completo de un organismo, más que en genes individuales. Los vectores plasmídicos y los derivados Caronte del bacteriófago lambda, por ejemplo, se han usado extensamente para clonar y secuenciar, incluyendo los análisis genómicos. Entre otros vectores más especializados para el análisis genómico se incluye el bacteriófago M13 y los cromosomas artificiales de levadura y bacterianos, y de ellos hablaremos a continuación.

Vectores derivados del bacteriófago M13

M13 es un bacteriófago filamentoso con DNA monocatenario que se replica sin matar a su hospedador (Sección 19.2). Las partículas maduras de M13 son liberadas de las células hospedadoras sin lisarlas mediante un proceso de gemación, y los cultivos infectados pueden proporcionar fuentes continuas de DNA fágico. La mayor parte del genoma de M13 está formado por genes esenciales para la replicación del virus. Sin embargo, hay una pequeña región llamada *secuencia intergénica* que se puede utilizar como sitio de clonación. Se pueden clonar fragmentos de DNA extraño de longitudes variables, de hasta 5 kbp, sin afectar a la viabilidad del fago. A medida que el genoma se hace más grande, simplemente el virión crece más.

El fago M13mp18 es un derivado de M13 en el que se ha modificado la región intergénica para facilitar la clonación (**Figura 12.24*a***). Una modificación útil es la inserción de un fragmento funcional de *lacZ*, el gen de *E. coli* que codifica la enzima β-galactosidasa. Las células infectadas con M13mp18 se pueden detectar fácilmente por su color en placas indicadoras. Esto se consigue utilizando el sustrato artificial, Xgal, que la β-galactosidasa corta para obtener un color azul (Figura 12.24*b*). El propio gen *lacZ* se ha modificado para contener un sitio de clonación múltiple de 54 bp, que contiene varios sitios de restricción que no se encuentran en el genoma de M13. El sitio de clonación múltiple se inserta en el inicio de la porción codificadora del gen *lacZ*, pero no afecta a su actividad enzimática. Sin embargo, la inserción de DNA clonado adicional en el sitio de clonación inactiva el gen. Los fagos con dichos insertos producen calvas incoloras (sin actividad β-galactosidasa), y por tanto son fácilmente identificables (Figura 12.24*b*).

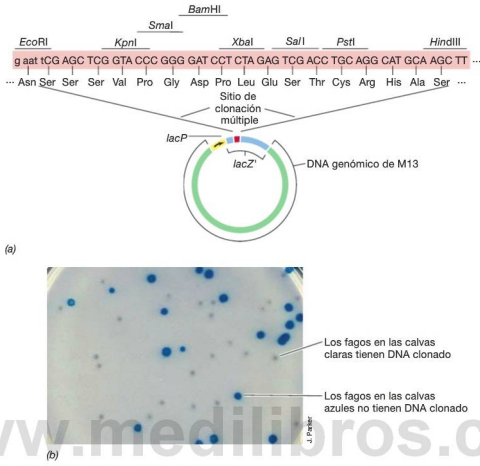
Uso de M13 en clonación molecular

Para clonar DNA en los vectores M13, se aisla DNA replicativo de doble cadena (Sección 19.2) del hospedador infectado y se trata con una enzima de restricción. El DNA extraño se trata a continuación con la misma enzima de restricción. Con la ligación se obtienen moléculas de M13 de doble cadena que contienen el DNA extraño. Cuando estas moléculas se introducen en la célula por transformación, se replican y producen partículas de bacteriófago de DNA monocatenario que contienen el DNA clonado.

El DNA monocatenario de M13 producido se puede utilizar directamente para su secuenciación. Como la secuencia de bases cerca del sitio de corte donde se ha insertado el DNA extraño es conocida, es posible construir un oligonucleótido cebador complementario a esta región y utilizarlo para determinar la secuencia de DNA después de este punto. En este sentido, los derivados de M13 han demostrado ser extremadamente útiles en la secuenciación de DNA extraño, incluso de moléculas bastante largas, y han ocupado un lugar importante en la secuenciación de varios genomas.

Cromosomas artificiales

Los vectores como M13, o los vectores plasmídicos que pueden contener entre 2 y 10 kbp de DNA clonado, son adecuados para elaborar bibliotecas génicas para la secuenciación de genomas procarióticos. Los vectores del fago lambda, que pueden contener 20 kbp o más, también son ampliamente utilizados en los proyectos de genómica. Sin embargo, a medida que el tamaño del genoma que se desea secuenciar aumenta, lo hace el número de clones necesarios para obtener una secuencia completa. Por tanto, para construir bibliotecas de DNA



www.medilibros.com

Figura 12.24 **Clonación usando el bacteriófago M13**. (*a*) Mapa parcial de M13mp18, un derivado de M13 construido para su uso como vector de clonación. El vector contiene el promotor *lac* (*lacP*) y un gen truncado, *lacZ'*, que codifica una parte funcional de la β-galactosidasa. Al inicio de este gen hay un sitio de clonación múltiple que contiene algunos sitios de restricción pero mantiene la pauta de lectura correcta. Se muestran los aminoácidos codificados por el sitio de clonación múltiple. La mayoría de fragmentos de DNA clonados en el poliligador cortan el gen *lacZ'* y eliminan la actividad β-galactosidasa. (*b*) Vista parcial de una placa de Petri con X-gal en la que se muestran calvas blancas formadas por M13mp18 con DNA clonado y calvas azules formadas por el fago sin DNA clonado (más información sobre Xgal en la Figura 12.7). A menos que se clone un producto de PCR, se deben rastrear las calvas blancas para encontrar las que contienen el gen de interés clonado.

de organismos eucariotas o de eucariotas superiores, como los humanos, es útil contar con vectores que puedan contener segmentos muy largos de DNA. Esto permite que el tamaño de la biblioteca inicial sea manejable. Estos vectores se han desarrollado y se llaman **cromosomas artificiales**.

Cromosomas artificiales bacterianos: BAC

Muchas bacterias contienen plásmidos grandes que se replican de manera estable en la célula, por ejemplo, el plásmido F de *E. coli* (Sección 11.12). Se conocen derivados naturales del plásmido F, llamados plásmidos F', que pueden contener grandes cantidades de DNA cromosómico (Sección 11.13). A causa de estas deseables propiedades, el plásmido F se ha utilizado para construir vectores de clonación llamados **cromosomas artificiales bacterianos** (BAC, de *Bacterial artificial chromosomes*).

En la **Figura 12.25** se muestra la estructura de un BAC basado en el plásmido F. El vector tiene sólo 6,7 kb, mientras que el F cuenta con 99,2 kb. El BAC contiene sólo algunos genes de F, incluyendo *oriS* y *repE*, que son necesarios para la replicación, y *sopA* y *sopB* que mantienen el número de copias muy bajo. El plásmido también contiene el gen *cat*, que confiere resistencia al cloranfenicol al hospedador, y un poliligador que incluye varios sitios de restricción para clonar el DNA. En un vector BAC como éste se puede insertar y mantener estable DNA extraño de más de 300 kbp. El hospedador para un BAC es típicamente una cepa mutante de *E. coli* que carece de los sistemas normales de restricción y modificación del tipo salvaje (Sección 12.1), lo que impide que el BAC sea destruido. La cepa hospedadora suele ser defectiva en recombinación, lo que impide la recombinación del DNA clonado del BAC con el cromosoma hospedador de la célula.

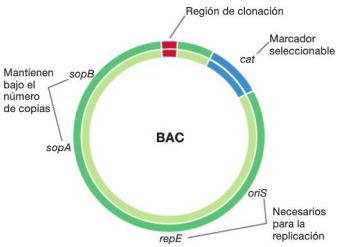


Figura 12.25 Mapa genético de un cromosoma artificial bacteriano. El BAC que se muestra en la figura tiene 6,7 kbp. La región de clonación tiene varios sitios de restricción únicos. Este BAC contiene sólo una pequeña fracción del plásmido F de 99,2 kbp.

Cromosomas artificiales eucarióticos

Históricamente, los primeros cromosomas artificiales fueron los **cromosomas artificiales de levadura** (YAC, de *Yeast artificial chromosomes*). Estos vectores se replican en levadura como si fueran cromosomas normales, pero tienen sitios donde se pueden insertar fragmentos muy largos de DNA. Para funcionar como cromosomas eucarióticos normales, los YAC tienen que tener 1) un origen de replicación del DNA, 2) telómeros para replicar el DNA en los extremos del cromosoma (Sección 8.7) y 3) un centrómero para su segregación durante la mitosis (Sección 8.6). También deben tener un sitio de clonación y un gen para la selección después de la transformación en el hospedador, típicamente la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. En la **Figura 12.26** se muestra un esquema de un vector YAC en el que se ha clonado DNA extraño. Los vectores YAC tienen sólo unos 10 kbp, pero los insertos de DNA clonado pueden llegar a los 200-800 kbp.

Tras confirmar que se ha clonado un determinado fragmento de DNA en un BAC o un YAC, este fragmento puede subclonarse en un vector de plásmido o un bacteriófago para realizar análisis más detallados o secuenciarlo. Aunque los YAC pueden albergar más DNA que los BAC, hay más problemas con la recombinación y redistribución del DNA clonado en las levaduras que en *E. coli*. Por esta razón, actualmente se utilizan más los BAC que los YAC en clonación genómica.

También se han desarrollado **cromosomas artificiales humanos** (HAC, de *Human artificial chromosomes*), que son similares a los YAC en su estructura general. Aunque parezca mentira, tanto las moléculas de DNA lineales con telómeros como el DNA circular se replicarán en los cultivos celulares humanos, así que la mayoría de HAC son, en realidad, circulares. Están construidos por adición de segmentos de DNA humano a los BAC. El aspecto fundamental es proporcionar un centrómero eficiente. En mamíferos, el centrómero está formado por largas porciones de secuencias repetidas (Sección 8.6), y los HAC deben tener largas disposiciones de estas repeticiones para poder heredarse de manera estable. Se espera que los HAC puedan resultar útiles en un futuro en terapia génica para contener grandes genes humanos con sus secuencias reguladoras naturales.

12.15 Minirrevisión

Se han construido vectores de clonación especializados para la secuenciación y el ensamblaje de genomas. Algunos, como los derivados de M13, son útiles para la clonación y la secuenciación directa de DNA. Otros, como los cromosomas artificiales, son útiles para clonar fragmentos muy grandes de DNA, de tamaños de cerca de una megabase.

- Compare la capacidad para clonar DNA extraño de M13, lambda, BAC y YAC.
- El cromosoma artificial de levadura se comporta como un cromosoma normal en una célula de levadura. ¿Qué lo hace posible?

Figura 12.26 Cromosoma artificial de levadura que contiene DNA extraño. El DNA extraño se clonó en el vector en el sitio de restricción NotI. Los telómeros están marcados como TEL y el centrómero como CEN. El origen de replicación es ARS (siglas en inglés de *autonomous replication sequence*, «secuencia de replicación autónoma»). El gen utilizado para la selección es *URA3*. El hospedador en el que se transforma el clon tiene una mutación en *URA3* y necesita uracilo para crecer (Ura^-). Las células hospedadoras que contienen este YAC son Ura^+. El esquema no está a escala; el DNA vector tiene sólo 10 kbp, mientras el DNA clonado puede llegar a los 800 kbp.

Glosario de términos

Biblioteca de DNA: colección de segmentos de DNA clonado lo suficientemente grande para contener al menos una copia de cada gen de un organismo concreto. Sinónimo de biblioteca génica.

Casete de DNA: segmento de DNA diseñado artificialmente que normalmente contiene un gen de resistencia a antibiótico o algún otro marcador de interés y está flanqueado por sitios de restricción convenientes.

Cebador: un fragmento corto de DNA o RNA utilizado para iniciar la síntesis de una nueva cadena de DNA.

Clonación al azar: elaboración de una biblioteca génica por clonación al azar de fragmentos de DNA.

Clonación molecular: aislamiento e incorporación de un fragmento de DNA en un vector donde se puede replicar.

Cromosoma artificial: vector de una sola copia que puede contener insertos extremadamente largos de DNA y se utiliza ampliamente para clonar segmentos de genomas grandes.

Cromosoma artificial bacteriano (BAC): cromosoma circular artificial con origen de replicación bacteriano.

Cromosoma artificial de levadura (YAC): cromosoma artificial con el origen de replicación de las levaduras y una secuencia CEN.

Cromosoma artificial humano (HAC): cromosoma artificial con la secuencia del centrómero humano.

Electroforesis en gel: técnica de separación de moléculas de ácido nucleico que consiste en pasar una corriente eléctrica a través de un gel de agarosa o de poliacrilamida.

Enzima de modificación: enzima que modifica químicamente las bases de una secuencia de reconocimiento de una enzima de restricción y evita así que el sitio sea cortado.

Enzima de restricción: enzima que reconoce una secuencia específica de DNA y la corta; sinónimo de endonucleasa de restricción.

Fusión génica: estructura creada por unión de segmentos de dos genes independientes, en concreto cuando la región reguladora de un gen se une a la región codificadora del gen testigo.

Gen testigo: gen utilizado en los análisis genéticos porque el producto que codifica es fácil de detectar.

Hibridación: apareamiento de bases de cadenas sencillas de DNA o RNA de dos fuentes diferentes (pero relacionadas) para dar un híbrido de doble hélice.

Identificación genética: uso de la tecnología del DNA para determinar el origen del DNA en una muestra de tejido.

Ingeniería genética: uso de técnicas *in vitro* para el aislamiento, la alteración y la expresión del DNA y para el desarrollo de organismos modificados genéticamente.

Interrupción génica: sinónimo de mutagénesis en casete y desactivación génica. Inactivación de un gen por inserción en su interior un fragmento de DNA que contiene un marcador seleccionable. El fragmento insertado se llama casete de DNA.

Mapa de restricción: mapa en el que se muestra la ubicación de los sitios de corte de las enzimas de restricción en un segmento de DNA.

Mutagénesis dirigida: técnica por la que un gen con una mutación específica puede construirse in vitro.

Mutagénesis en casete: producción de mutaciones por inserción de un casete de DNA.

Preferencia codónica: proporciones relativas de diferentes codones que codifican el mismo aminoácido; varía entre los diferentes organismos. Sinónimo de uso codónico.

Proteína de fluorescencia verde (GFP): proteína que emite fluorescencia verde y es ampliamente utilizada en análisis genéticos.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Amplificación artificial de una secuencia de DNA mediante ciclos repetidos de separación de cadenas y replicación.

Secuenciación: deducción de la secuencia de una molécula de DNA o RNA mediante una serie de reacciones químicas.

Sonda de ácido nucleico: cadena de ácido nucleico que se puede marcar y utilizarse para hibridar con una molécula complementaria en una mezcla de otros ácidos nucleicos.

Transferencia Northern: método de hibridación en el que el RNA está en el gel y la sonda es DNA o RNA.

Transferencia Southern: método de hibridación en el que el DNA está en el gel y la sonda es RNA o DNA.

Vector (como en vector de clonación): molécula de DNA autorreplicante que se utiliza para contener genes clonados u otros segmentos de DNA para ingeniería genética.

Vector de expresión: vector de clonación que contiene las secuencias reguladoras necesarias para permitir la transcripción y la traducción de los genes clonados.

Vector de integración: vector de clonación que se integra en un cromosoma hospedador.

Vector lanzadera: vector de clonación que puede replicarse en dos o más hospedadores diferentes.

www.edilibro.com

Preguntas de repaso

1. ¿Qué son las enzimas de restricción? ¿Cuál es la función probable de una enzima de restricción en la célula que la produce? ¿Por qué la presencia de una enzima de restricción en una célula no causa la degradación del DNA de dicha célula (Sección 12.1)?
2. ¿Cómo podemos detectar una colonia que contenga un gen clonado si conocemos la secuencia de dicho gen (Sección 12.2)?
3. La ingeniería genética está basada en el uso de vectores. Describa las propiedades necesarias de un vector de clonación plasmídico bien diseñado (Sección 12.4).
4. ¿Cómo permite la inactivación por inserción de la β-galactosidasa detectar la presencia de DNA extraño en un vector plasmídico como pUC19 (Sección 12.4)?
5. ¿Por qué los didesoxinucleótidos actúan como terminadores de cadena (Sección 12.5) ?
6. ¿Qué características se utilizan para identificar las pautas de lectura abiertas usando datos de la secuencia (Sección 12.6)?
7. ¿Cuáles son los usos principales del DNA sintetizado artificialmente (Sección 12.7)?
8. Describa los principios básicos de la amplificación génica usando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). ¿En qué sentido los procariotas termófilos e hipertermófilos han simplificado el uso de la PCR (Sección 12.8)?
9. ¿Cómo ha permitido la tecnología del DNA la identificación de humanos a partir de muestras forenses (Sección 12.8, panel microbiano)?
10. ¿Qué es una VNTR (Sección 12.8, Panel microbiano)?
11. ¿Qué nos permite hacer la mutagénesis dirigida que no podemos hacer con la mutagénesis normal (Sección 12.9)?
12. ¿Qué es un gen testigo? Describa dos genes testigo ampliamente utilizados (Sección 12.10).
13. ¿Cómo se utilizan las fusiones génicas para investigar la regulación génica (Sección 12.10)?
14. Describa dos hospedadores de clonación eucariotas y las ventajas y desventajas de cada uno (Sección 12.11).
15. ¿Cómo podemos detectar una colonia que contenga un gen clonado si no conocemos la secuencia génica pero disponemos de la proteína codificada por el gen purificada (Sección 12.12)?
16. Describa las similitudes y diferencias entre los vectores de expresión y los vectores lanzadera (Sección 12.13).
17. ¿Cómo se ha utilizado el bacteriófago T7 para expresar genes extraños en *Escherichia coli* y qué características deseables posee este sistema regulador (Sección 12.13)?
18. ¿Qué ventajas tiene el uso de un vector de clonación basado en lambda sobre un vector plasmídico (Sección 12.14)?
19. ¿Cuáles son las características esenciales de un cromosoma artificial? ¿Qué diferencia hay entre un BAC y un YAC? ¿Qué características del plásmido F lo hacen menos útil para su uso *in vitro*? (Sección 12.15)?

www.medilibros.com

Ejercicios prácticos

1. Suponga que recibe el encargo de construir un vector de expresión plasmídico adecuado para la clonación molecular en un organismo de interés industrial. Cite las características que debe tener dicho plásmido. Enumere los pasos que seguiría para crear el plásmido.
2. Suponga que acaba de determinar la secuencia de bases de DNA de un promotor especialmente fuerte en *Escherichia coli* y que está interesado en incorporar esta secuencia en un vector de expresión. Describa los pasos que seguiría. ¿Qué precauciones son necesarias para asegurarse de que este promotor funciona realmente según lo esperado en su nueva ubicación?
3. Muchos sistemas genéticos utilizan el gen *lacZ* que codifica la β-galactosidasa como testigo. ¿Qué ventajas o problemas encontraríamos si *a*) la luciferasa o *b*) la proteína de fluorescencia verde se utilizaran como testigos en lugar de la β-galactosidasa?

13

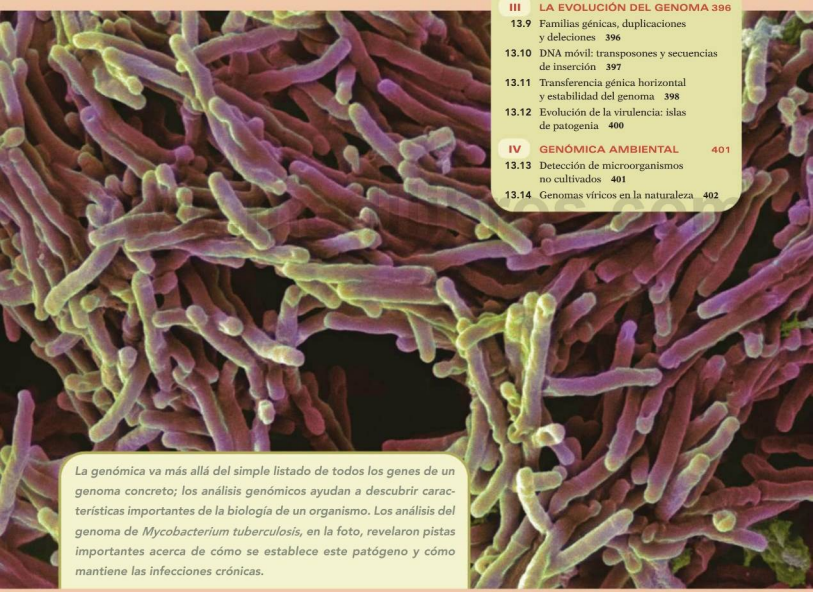
Genómica microbiana

I GENOMAS MICROBIANOS 379
13.1 Breve historia de la genómica 379
13.2 Genomas procarióticos: tamaños y contenido de ORF 379
13.3 Genomas procarióticos: análisis bioinformáticos y distribuciones génicas 382
13.4 El genoma de los orgánulos eucarióticos 385
13.5 Genomas microbianos eucarióticos 389

II FUNCIÓN Y REGULACIÓN DEL GENOMA 391
13.6 Micromatrices y transcriptoma 391
13.7 Proteómica 394
13.8 Metabolómica 395

III LA EVOLUCIÓN DEL GENOMA 396
13.9 Familias génicas, duplicaciones y deleciones 396
13.10 DNA móvil: transposones y secuencias de inserción 397
13.11 Transferencia génica horizontal y estabilidad del genoma 398
13.12 Evolución de la virulencia: islas de patogenia 400

IV GENÓMICA AMBIENTAL 401
13.13 Detección de microorganismos no cultivados 401
13.14 Genomas víricos en la naturaleza 402



La genómica va más allá del simple listado de todos los genes de un genoma concreto; los análisis genómicos ayudan a descubrir características importantes de la biología de un organismo. Los análisis del genoma de Mycobacterium tuberculosis, en la foto, revelaron pistas importantes acerca de cómo se establece este patógeno y cómo mantiene las infecciones crónicas.

El **genoma** de un organismo es la totalidad de su información genética, incluidos los genes y sus secuencias reguladoras, así como el DNA no codificante. Los análisis genómicos constituyen el campo de la genómica, el tema de este capítulo. El conocimiento de la secuencia genómica de un organismo no sólo revela sus genes, también nos ofrece importantes pistas acerca de cómo funciona dicho organismo y de su historia evolutiva. Las secuencias genómicas también ayudan al estudio de la expresión génica, la transcripción y la traducción de la información genética. El enfoque tradicional en el estudio de la expresión génica consistía en centrarse en un solo gen o en un grupo de genes relacionados. Hoy en día, se puede examinar la expresión de los genes de todo el conjunto de un organismo en un solo experimento.

Habría resultado imposible secuenciar y analizar genomas grandes y complejos sin los avances correspondientes en tecnología molecular. Los principales avances incluyen la clonación al azar y la automatización de la secuenciación del DNA, así como el desarrollo de potentes métodos informáticos para la secuenciación del DNA y de las proteínas. La tecnología que subyace a los análisis de DNA sigue mejorando a medida que nuevos avances bajan el coste y aumentan la velocidad de secuenciación de los genomas. Aquí nos centraremos en los genomas microbianos, algunas técnicas que se utilizan para analizarlos y lo que ya sabemos de genómica microbiana.

www.medilibros.com

I GENOMAS MICROBIANOS

La palabra **genómica** se refiere a la disciplina encargada de mapear, secuenciar, analizar y comparar los genomas. Hasta el momento se han secuenciado varios cientos de genomas microbianos, sobre todo procarióticos, y hay varios cientos de proyectos más en marcha. Vamos a hablar de algunos de ellos y exploraremos lo que los análisis de esos genomas nos dicen.

13.1 Breve historia de la genómica

El primer genoma que se secuenció fue el genoma de RNA de 3.569 nucleótidos del *virus* MS2 (Sección 19.1), en 1976. El primer genoma de DNA en secuenciarse fue el pequeño virus de DNA monocatenario ϕX174, de 5.386 nucleótidos, en 1977. Este hito fue realizado por un grupo dirigido por el científico británico Fred Sanger y utilizó por vez primera la técnica de los didesoxinucleótidos para la secuenciación del DNA (Sección 12.5).

El primer genoma celular

El primer genoma celular que se secuenció fue el cromosoma de 1.830.137 bp de *Haemophilus influenzae*, descrito en 1995 por Hamilton J. Craig Venter y sus colegas en el Institute for Genomic Research de Maryland. Actualmente se han secuenciado o están secuenciándose más de 2.000 genomas de procariotas, y debido al continuo avance de las técnicas de secuenciación del DNA, es probable que el número de genomas procarióticos secuenciados crezca rápidamente.

Además, disponemos también de secuencias genómicas de varios animales superiores, incluido el genoma humano haploide, que contiene unos 3.000 millones de pares de bases, aunque tan solo 25.000 genes. Los genomas más largos secuenciados hasta el momento, en términos de número de genes, son los de las plantas superiores, arroz y *Populus trichocarpa* (una especie de chopo), y los protozoos *Paramecium* y *Trichomonas*, todos ellos con un número significativamente mayor de genes que los humanos. La información obtenida de las secuencias genómicas ha proporcionado nuevos enfoques en temas tan diversos como la medicina clínica y la evolución microbiana.

13.1 Minirrevisión

Los pequeños virus fueron los primeros organismos sujetos a secuenciación genómica, pero actualmente disponemos de la secuencia de muchos genomas procarióticos y eucarióticos.

▮ ¿Tenemos los humanos el genoma más grande?

13.2 Genomas procarióticos: tamaños y contenido de ORF

Las secuencias de varios cientos de genomas procarióticos están ahora disponibles en bases de datos públicas (para una lista actualizada de los proyectos de secuenciación de genomas, busque en **http://www.genomesonline.org/**), y se han secuenciado o hay en progreso varios miles de secuencias de genomas procarióticos. En la **Tabla 13.1** se da una relación de algunos ejemplos representativos, entre los que se incluyen muchas especies de *Bacteria* y *Archaea* y representantes de genomas circulares y lineales. Aunque son raros, los cromosomas lineales están presentes en algunas bacterias, como *Borrelia burgdoferi*, el agente causante de la enfermedad de Lyme, y el género *Streptomyces*, un importante productor de antibióticos.

Obsérvese que la lista de genomas procarióticos de la Tabla 13.1 contiene algunos patógenos. Naturalmente, estos organismos tienen alta prioridad de secuenciación. Los hipertermófilos de la lista pueden tener usos importantes en biotecnología, porque sus enzimas son termoestables. De hecho, las necesidades de las industrias biomédicas y biotecnológicas han sido importantes impulsoras en la selección de los organismos que se secuencian. No obstante, la lista de la Tabla 13.1 también incluye organismos como *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, que siguen siendo siste-

Tabla 13.1 Selección de genomas procarióticos[a]

Organismo	*Tipo de células*[b]	*Tamaño (pares de bases)*	*ORF*[c]	*Comentarios*
Bacteria				
Carsonella ruddii	E	159.662	182	Áfido endosimbionte degenerado
Buchnera aphidicola BCc	E	422.434	362	Áfido endosimbionte primario
Mycoplasma genitalium	P	580.070	470	Genoma bacteriano no simbiótico más pequeño
Borrelia burgdorferi	P	910.725	853	Espiroqueta, cromosoma lineal, causa la enfermedad de Lyme
Chlamydia trachomatis	P	1.042.519	894	Parásito intracelular obligado, patógeno humano habitual
Rickettsia prowazekii	P	1.111.523	834	Parásito intracelular obligado, causa tifus epidémico
Treponema pallidum	P	1.138.006	1041	Espiroqueta, causa la sífilis
Pelagibacter ubique	VL	1.308.759	1354	Heterótrofo marino
Aquifex aeolicus	VL	1.551.335	1544	Hipertermófilo, autótrofo
Prochlorococcus marinus	VL	1.657.990	1716	Fotótrofo oxigénico marino más abundante
Streptococcus pyogenes	VL	1.852.442	1752	Causa inflamación de garganta y escarlatina
Thermotoga maritima	VL	1.860.725	1877	Hipertermófilo
Chlorobaculum tepidum	VL	2.154.946	2288	Bacteria fotótrofa verde modelo
Deinococcus radiodurans	VL	3.284.156	2185	Resistente a la radiación, múltiples cromosomas
Synechocystis sp.	VL	3.573.470	3168	Cianobacteria modelo
Bdellovibrio bacteriovorus	VL	3.782.950	3584	Predador de otros procariotas
Caulobacter crescentus	VL	4.016.942	3767	Ciclo de vida complejo
Bacillus subtilis	VL	4.214.810	4100	Modelo genético grampositivo
Mycobacterium tuberculosis	P	4.411.529	3924	Causa tuberculosis
Escherichia coli K12	VL	4.639.221	4288	Modelo genético gramnegativo
Escherichia coli O157:H7	VL	5.594.477	5361	Cepa enteropatógena de *E. coli*
Bacillus anthracis	VL	5.227.293	5738	Patógeno, agente de la guerra biológica
Rhodopseudomonas palustris	VL	5.459.213	4836	Fotótrofo anoxigénico metabólicamente versátil
Pseudomonas aeruginosa	VL	6.264.403	5570	Patógeno oportunista metabólicamente versátil
Streptomyces coelicolor	VL	8.667.507	7825	Cromosoma lineal, produce antibióticos
Bradyrhizobium japonicum	VL	9.105.828	8317	Fijación de nitrógeno, produce nódulos en la soja
Archaea				
Nanoarchaeum equitans	P	490.885	552	Genoma celular no simbiótico más pequeño
Thermoplasma acidophilum	VL	1.564.905	1509	Termófilo, acidófilo
Methanocaldococcus jannaschii	VL	1.664.976	1738	Metanógeno, hipertermófilo
Aeropyrum pernix	VL	1.669.695	1841	Hipertermófilo
Pyrococcus horikoshii	VL	1.738.505	2061	Hipertermófilo
Methanothermobacter thermautotrophicus	VL	1.751.377	1855	Metanógeno
Archaeoglobus fulgidus	VL	2.178.400	2436	Hipertermófilo
Halobacterium salinarum	VL	2.571.010	2630	Halófilo extremo, bacteriorrodopsina
Sulfolobus solfataricus	VL	2.992.245	2977	Hipertermófilo, quimiolitótrofo del azufre
Haloarcula marismortui	VL	4.274.642	4242	Halófilo extremo, bacteriorrodopsina
Methanosarcina acetivorans	VL	5.751.000	4252	Metanógeno acetótrofo

[a] La información sobre estos y otros cientos de genomas procarióticos se puede encontrar en la base de datos TIGR (**www.tigr.org/tdb**), un sitio web mantenido por el Institute for Genomic Reseach (TIGR), Rockville, MD, EE. UU., un instituto de investigación sin ánimo de lucro, y en **http://www.genomesonline.org**. Allí se pueden encontrar enlaces a otros sitios web relevantes.

[b] E, endosimbionte; P, parásito; VL, vida libre.

[c] Pautas de lectura abierta. El objeto de aportar las ORF es predecir el número total de proteínas que un organismo puede codificar. Por supuesto, se incluyen los genes que codifican proteínas conocidas, como son todas las ORF que pueden codificar una proteína mayor de 100 aminoácidos. Las ORF más pequeñas no están incluidas normalmente a menos que muestren similitudes con el gen de otro organismo o que el uso codónico sea el típico del organismo de estudio.

www.medilibros.com

mas modelo ampliamente estudiados. En la actualidad, sin embargo, la secuenciación genómica se ha hecho tan rutinaria y barata que los proyectos de secuenciación ya no siempre están dirigidos por aspectos médicos o biotecnológicos. En algunos casos se han secuenciado los genomas de varias *cepas* diferentes de la misma bacteria

para conocer el grado de variabilidad genética dentro de una especie.

Rango de tamaños de los genomas procarióticos

Los genomas de las especies de los dos dominios procarióticos, *Bacteria* y *Archaea*, muestran una gran correlación entre el tamaño del genoma y el contenido en ORF (**Figura 13.1**). Independientemente del organismo, cada megabase de DNA procariótico codifica unas 1.000 pautas de lectura abierta (ORF, Sección 7.13). A medida que aumenta el tamaño de los genomas procarióticos, también aumenta proporcionalmente su número de genes. Esto contrasta con los eucariotas, en los que el DNA no codificante puede ser una gran fracción del genoma, especialmente en organismos con genomas grandes (*véase* la Tabla 13.4).

El análisis de las secuencias genómicas puede proporcionarnos respuestas a preguntas biológicas fundamentales. Por ejemplo, ¿cuántos genes son necesarios para que exista la vida? Para las células de vida libre, los genomas más pequeños encontrados codifican aproximadamente 1.400 genes. Se sabe que los organismos de vida libre de bacterias y de arqueas tienen sus genomas dentro de este rango. El record actual lo tiene *Pelagibacter ubique*, un heterótrofo marino que tiene aproximadamente 1.350 genes (Sección 23.9). Este organismo es extremadamente eficiente en su uso del DNA; no posee intrones, inteínas ni transposones y tiene los espacios intergénicos más pequeños registrados hasta el momento. Los genomas más grandes de procariotas contienen más de 100.000 genes y se encuentran fundamentalmente en organismos del suelo, como las mixobacterias, procariotas que desarrollan un ciclo de vida complejo (Sección 15.17).

Sorprendentemente, o tal vez no tanto, los análisis genómicos han demostrado que los organismos autótrofos necesitan sólo algunos genes más que los heterótrofos. Por ejemplo, *Methanocaldococcus jannaschii* (arquea) es un autótrofo que contiene sólo 1.738 ORF. Esto le permite, no sólo ser un organismo de vida libre, sino también depender del dióxido de carbono como única fuente de carbono. *Aquifex aeolicus* (bacteria) también es autótrofo y contiene el genoma más pequeño conocido de todos los autótrofos, tan sólo 1,5 **pares de Megabases (Mbp**, un millón de pares de bases) (Tabla 13.1). Tanto *Methanocaldococcus* como *Aquifex* son también hipertermófilos, y crecen óptimamente a temperaturas por encima de los 80 °C. Por consiguiente, no es necesario un genoma grande para soportar un modo de vida extremo, ni siquiera el de los autótrofos que viven en el agua casi en ebullición.

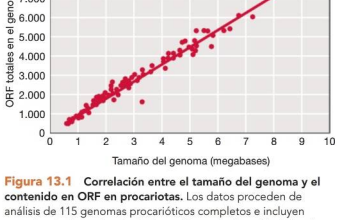


Figura 13.1 Correlación entre el tamaño del genoma y el contenido en ORF en procariotas. Los datos proceden de análisis de 115 genomas procarióticos completos e incluyen especies de *Bacteria* y de *Archaea*. Datos de *Proc. Natl. Acad. Sci. (EE..UU.)* 101: 3160-3165 (2004).

Genomas pequeños

Los genomas celulares más pequeños pertenecen a procariotas parásitos o endosimbiontes. Se ha secuenciado un número desproporcionado de estos genomas pequeños, en parte porque muchos de ellos son de importancia médica y en parte porque los genomas más pequeños son más fáciles de secuenciar. Los tamaños de los genomas de los procariotas que son parásitos obligados varían entre 490 kbp para *Nanoarchaeum equitans* (arquea), y 4.400 kbp para *Mycobacterium tuberculosis* (bacteria). Los genomas de *N. equitans* y algunas otras bacterias, incluyendo *Mycoplasma*, *Chlamydia* y *Rickettsia* son más pequeños que el genoma vírico más grande que se conoce, el de Mimivirus con 1,2 Mbp (Sección 19.10, Panel microbiano).

Excluyendo a los endosimbiontes, el genoma procariótico más pequeño conocido es el de la arquea *N. equitans*, que es unos 90 kbp más pequeño que el de *Mycoplasma genitalium* (Tabla 13.1). Sin embargo, en realidad el genoma de *N. equitans* contiene más ORF que el genoma de *M. genitalium*, más grande. Ello es debido a que el genoma de *N. equitans* es extremadamente compacto y no contiene prácticamente DNA no codificante. *N. equitans* es un hipertermófilo, parásito de un segundo hipertermófilo, la arquea *Ignicoccus* (Sección 17.8). Los análisis del contenido génico de *N. equitans* muestran que carece de prácticamente todos los genes que codifican proteínas para el anabolismo o el catabolismo.

Utilizando *Mycoplasma*, que tiene unos 500 genes, como punto de inicio, los investigadores han estimado que alrededor de 250 ó 300 genes son los mínimos para que una célula sea viable. Estas estimaciones descansan en parte en comparaciones con otros genomas pequeños. Además, se han realizado mutagénesis sistemáticas para identificar aquellos genes de *Mycoplasma* que son esenciales. No obstante, estas estimaciones tienen el problema de que *Mycoplasma* no es un organismo de vida libre, y no puede sintetizar componentes vitales, como purinas y pirimidinas.

Todavía más pequeños que los genomas de los parásitos procarióticos son los de los endosimbiontes. Las bac-

terias endosimbióticas viven en el interior de las células de sus hospedadores y son relativamente comunes entre los insectos. *Buchnera aphidicola*, por ejemplo, es un endosimbionte de áfidos que aporta a su hospedador aminoácidos esenciales a cambio de un hábitat protegido. Diferentes cepas de *B. aphidicola* que viven en diferentes especies de áfidos tienen genomas cuyo tamaño varía considerablemente, desde los 600 kbp hasta los 420 kbp. Aún más pequeño es el destacable genoma del endosimbionte de insectos *Carsonella rudii*. Este genoma tiene únicamente 160 kbp, lo que lo convierte con mucho en el genoma bacteriano más pequeño caracterizado. Este genoma tiene muchos genes de longitud reducida y muchos que se solapan entre sí. Aunque *Carsonella* retiene muchos genes para la biosíntesis de aminoácidos, carece de muchos otros genes que antes se consideraban esenciales para la vida. Se ha sugerido que *Carsonella* podría estar degenerando hacia un estatus similar al de los orgánulos.

Genomas grandes

Algunos procariotas tienen genomas muy grandes que son comparables en tamaño al de los microorganismos eucariotas. Como los eucariotas tienden a tener cantidades significativas de DNA no codificante y los procariotas, no, en realidad algunos genomas procarióticos tienen más genes que los de los eucariotas microbianos, a pesar de tener menos DNA. Por ejemplo, *Bradyrhizobium japonicum*, que forma nódulos radiculares fijadores de nitrógeno en la soja, tiene 9,1 Mbp de DNA y 8.300 ORF, mientras la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, un eucariota, tiene 12,1 Mbp de DNA pero sólo 5.800 ORF (*véase* la Tabla 13.4). *Myxococcus xanthus* también tiene 9,1 Mbp de DNA, mientras sus correspondientes entre las proteobacterias Delta tienen genomas de aproximadamente la mitad de su tamaño (Sección 15.17). Se ha sugerido que hubo muchos eventos de duplicación de segmentos sustanciales del DNA en la historia evolutiva de *M. xanthus*.

El mayor genoma procariótico conocido hasta el momento es el cromosoma de 12,3 Mbp de *Sorangium cellulosum*, una bacteria deslizante, que aún no ha sido secuenciado y registrado completamente. A diferencia de las bacterias, los genomas más grandes encontrados en *Archaea* hasta el momento están alrededor de los 5 Mbp (Tabla 13.1). En resumen, los tamaños de los genomas procarióticos varían entre los de los virus más grandes y los de los microorganismos eucariotas.

13.2 Minirrevisión

Los tamaños de los genomas procarióticos secuenciados varían entre 0,16 Mbp y 9,1 Mbp, e incluso se conocen genomas más grandes. Los genomas procarióticos más pequeños son más pequeños que los de los virus más grandes. Los genomas procarióticos más grandes tienen más genes que algunos eucariotas. En procariotas, el contenido génico es generalmente proporcional al tamaño del genoma.

- ¿Cuál es el tipo de vida de los organismos procariotas que tienen genomas más pequeños que los de algunos virus?
- ¿Cuántos genes que codifican proteínas tendrá, aproximadamente, un genoma bacteriano de 4 Mbp?
- ¿Qué organismo es más probable que tenga más genes, un procariota con 8 Mbp o un eucariota con 10 Mbp? ¿Por qué?

13.3 Genomas procarióticos: análisis bioinformáticos y distribuciones génicas

Después del ensamblaje y el registro de un genoma, un análisis genómico típico da paso a la etapa de comparación de genes. La cuestión básica aquí es cómo comparar el complemento génico de este organismo con el de otros organismos. Estos análisis ponen el genoma recién secuenciado en perspectiva al considerar los genomas de organismos similares así como los de organismos de parentesco más lejano. Estas actividades forman parte del campo de la **bioinformática**, la ciencia que aplica potentes herramientas informáticas a las secuencias de DNA y de proteínas con el objetivo de analizar, almacenar y acceder a las secuencias con fines comparativos.

Contenido génico de los genomas procarióticos

El complemento génico de un organismo concreto define su biología. Y a la inversa, los genomas están modelados por el estilo de vida de los organismos. Se podría imaginar, por ejemplo, que los parásitos obligados, como *Treponema pallidum* (Sección 16.16) requerirían relativamente pocos genes para la biosíntesis de aminoácidos, porque los aminoácidos que necesita pueden ser suministrados por su hospedador. Éste es, efectivamente, el caso, ya que el genoma de *T. pallidum* carece de genes reconocibles para la biosíntesis aminoacídica, si bien se han encontrado genes que codifican algunas proteasas, enzimas que pueden convertir péptidos tomados del hospedador en aminoácidos libres. Por otra parte, la bacteria de vida libre *Escherichia coli* tiene 131 genes para la biosíntesis y el metabolismo de los aminoácidos, y la bacteria del suelo *Bacillus subtilis* tiene más de 200.

Los análisis comparativos son útiles en la búsqueda de genes que codifican enzimas que deben de existir, con casi total seguridad, a causa de las propiedades conocidas de un organismo. *Thermotoga maritima* (bacteria), por ejemplo, es un hipertermófilo encontrado en sedimentos marinos calientes, y los estudios de laboratorio han demostrado que es capaz de catabolizar un gran número de azúcares. En la **Figura 13.2** se resumen algunas de las rutas metabólicas y sistemas de transporte de *T. maritima* que se han deducido del análisis de su genoma.

Tabla 13.2 Función génica en los genomas bacterianos

Categorías funcionales	Porcentaje de genes en el cromosoma en esa categoría		
	Escherichia coli (4,64 Mbp)[a]	*Haemophilus influenzae (1,83 Mbp)*[a]	*Mycoplasma genitalium (0,58 Mbp)*[a]
Metabolismo	21,0	19,0	14,6
Estructural	5,5	4,7	3,6
Transporte	10,0	7,0	7,3
Regulación	8,5	6,6	6,0
Traducción	4,5	8,0	21,6
Transcripción	1,3	1,5	2,6
Replicación	2,7	4,9	6,8
Otras, conocidas	8,5	5,2	5,8
Desconocidas	38,1	43,0	32,0

[a] Tamaño del cromosoma, en pares de megabases. Cada organismo listado contiene sólo un cromosoma circular.

ORF no caracterizadas

Aunque existen diferencias entre un organismo y otro, en la mayoría de los casos el número de genes cuya función puede identificarse claramente en un genoma determinado es del 70% o menos del número total de ORF detectadas. De las ORF no caracterizadas se dice que codifican *proteínas hipotéticas*, proteínas que es probable que existan, aunque su función se desconoce. Una ORF no caracterizada comparte con un gen conocido que codifica una proteína una pauta de lectura ininterrumpida de una longitud razonable, y codones de inicio y de parada, pero codifica una proteína que carece de la suficiente homología de secuencia con cualquier proteína conocida y, por lo tanto, no puede ser identificada como tal.

Las ORF no caracterizadas ponen de manifiesto que aún hay mucho que no sabemos sobre la función de los genes procarióticos. Por otra parte, a medida que se identifican las funciones de los genes en un organismo, se pueden asignar también las funciones de ORF homólogas en otros organismos. Incluso en el organismo mejor conocido del mundo, *E. coli*, hay más de 1.000 de sus casi 4.300 genes a los que todavía no se les ha asignado una función. No obstante, se han identificado la mayoría de los genes para la síntesis macromolecular y el metabolismo central, esenciales para el crecimiento de *E. coli*. Por lo tanto, a medida que se van identificando las funciones de las ORF restantes, es probable que la mayoría de ellas codifiquen proteínas no esenciales.

Probablemente, conforme se vaya progresando en la identificación de proteínas hipotéticas, el porcentaje relativo de genes de *E. coli* implicados en la síntesis macromolecular o el metabolismo central disminuirá. Se predice que muchos de los genes no identificados de *E. coli* codifican proteínas reguladoras o redundantes; entre ellas se deberían de incluir proteínas necesarias sólo en condiciones especiales, o como sistemas de seguridad de enzimas clave. Sin embargo, hay que recordar que la función precisa de muchos genes, incluso en organismos tan bien estudiados como *E. coli*, suelen ser impredecibles. Algunas identificaciones génicas simplemente asignan a un gen determinado una familia o una función general (como «transportador»). Por otra parte, hay genes completamente desconocidos que se han predicho usando la bioinformática, mientras algunos son, en realidad, incorrectos; se estima que nada menos que un 10% de los genes de las bases de datos se han registrado incorrectamente.

Categorías génicas en función del tamaño del genoma

Como muestran los datos de la Tabla 13.2, el porcentaje de genes de un organismo dedicados a una u otra función celular es, en cierta medida, una función del tamaño del genoma. Esto se resume para un gran número de genomas bacterianos en la Figura 13.3. Los procesos celulares fundamentales, como la síntesis de proteínas, la replicación del DNA y la producción de energía, muestran sólo pequeñas variaciones en el número de genes con respecto al tamaño del genoma (Figura 13.3). En consecuencia, el porcentaje relativo de genes dedicados a la síntesis proteica, por ejemplo, aumenta dramáticamente en los organismos con genoma pequeño. Por otra parte, los genes dedicados a la regulación de la transcripción aumentan significativamente en los organismos con genomas grandes.

Los datos que se resumen en la **Figura 13.3** sugieren que aunque muchos genes son prescindibles, los que codifican el aparato de síntesis de proteínas no lo son. Así, cuanto menor es el genoma, mayor es el porcentaje de genes que codifican procesos traduccionales (Tabla 13.2). Los genomas grandes, por otro lado, contienen más ge-

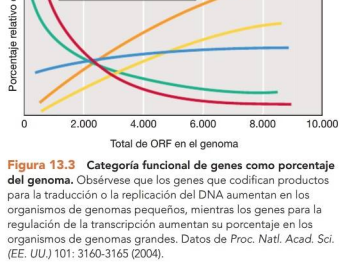


Figura 13.3 Categoría funcional de genes como porcentaje del genoma. Obsérvese que los genes que codifican productos para la traducción o la replicación del DNA aumentan en los organismos de genomas pequeños, mientras los genes para la regulación de la transcripción aumentan su porcentaje en los organismos de genomas grandes. Datos de *Proc. Natl. Acad. Sci. (EE. UU.)* 101: 3160-3165 (2004).

nes para la regulación que los pequeños. Estos sistemas reguladores adicionales permiten a la célula ser más flexible en diversas situaciones ambientales mediante el control adecuado de la expresión génica. En los procariotas de genoma pequeño, estos procesos reguladores son prescindibles, porque dichos organismos son, a menudo, parásitos y obtienen gran parte de lo que necesitan de sus hospedadores.

Los organismos de genomas grandes pueden permitirse codificar muchos genes reguladores y metabólicos especializados. Con ello consiguen ser mucho más competitivos en su hábitat que, para los procariotas de genomas muy grandes, suele ser el suelo. El suelo es un hábitat en el que el carbono y las fuentes de energía suelen escasear o están disponibles sólo de manera intermitente, y varían mucho (Sección 23.7). Un genoma grande que codifique múltiples opciones metabólicas sería fuertemente seleccionado en un hábitat así. Curiosamente, todos los procariotas de la Tabla 13.1 cuyos genomas exceden de los 6 Mbp habitan en el suelo.

Distribución génica en *Bacteria* y en *Archaea*

Se han realizado análisis de categorías génicas en diversos organismos pertenecientes a bacterias y a arqueas, y los resultados se comparan en la **Figura 13.4.** Obsérvese que estos datos reflejan el contenido génico medio de varios genomas independientes. Como media, las especies de *Archaea* dedican un porcentaje mayor de sus genomas a la producción de energía y de coenzimas que las bacterias (estos resultados están indudablemente un poco sesgados a causa de la gran cantidad de coenzimas nuevos producidos por las arqueas metanógenas, Sección 21.10). Por otra parte, las arqueas parecen contener menos genes que las bacterias para el metabolismo de los carbohidratos o las funciones de la membrana citoplasmática, como el transporte o la biosíntesis de membrana. Sin embargo, también este descubrimiento puede estar sesgado porque las rutas correspondientes son menos conocidas en *Archaea* que en *Bacteria*, y muchos de los genes arqueanos correspondientes sean, probablemente, aún desconocidos.

Ambos dominios de procariotas tienen una cantidad relativamente grande de genes cuyas funciones son desconocidas o bien codifican proteínas sólo hipotéticas, si bien en ambas categorías existe más incertidumbre en *Archaea* que en *Bacteria* (Figura 13.4). No obstante, este resultado podría estar distorsionado por la disponibilidad de menos secuencias genómicas de *Archaea* que de *Bacteria*.

13.3 Minirrevisión

Muchos genes se pueden identificar por la similitud de su secuencia con la de genes encontrados en otros organismos. No obstante, existe un porcentaje significativo de genes secuenciados cuya función se desconoce. De media, los complementos génicos de las bacterias y las arqueas están relacionados pero son distintos. La bioinformática juega un papel muy importante en los análisis genómicos.

- ¿Todas las ORF funcionales codifican proteínas?
- ¿Qué es una proteína hipotética?
- ¿Qué categoría de genes contienen en mayor porcentaje los procariotas?

www.libros.com

13.4 El genoma de los orgánulos eucarióticos

Las células eucariotas contienen orgánulos rodeados de membrana además del núcleo (Secciones18.1-18.5). La mitocondria y el cloroplasto contienen cada uno un pequeño genoma. Además, ambos orgánulos contienen la maquinaria necesaria para la síntesis proteica, los riboso-

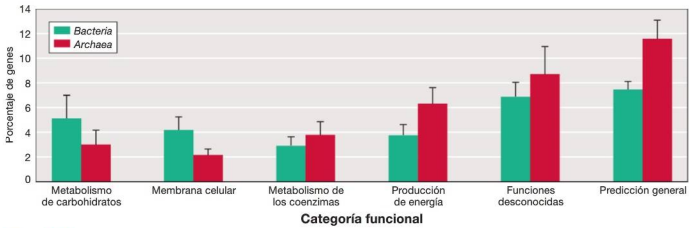


Figura 13.4 Variaciones en las categorías génicas en bacterias y arqueas. Los datos son las medias de 34 especies de *Bacteria* y 12 especies de *Archaea*. «Funciones desconocidas» representa a los genes cuyas funciones se desconocen. Los genes etiquetados como «Predicción general» codifican proteínas hipotéticas que pueden existir o no. Datos de *Proc. Natl. Acad. Sci. (EE.UU.)* 101: 3160-3165 (2004).

mas, los RNA de transferencia y todo el resto de componentes necesarios para la traducción y la formación de proteínas funcionales. Por supuesto, estos orgánulos comparten muchos rasgos con las células procariotas, con las que están relacionadas filogenéticamente (Secciones 14.4 y 18.4).

El genoma de los cloroplastos

Las células de las plantas verdes contienen cloroplastos, los orgánulos responsables de la fotosíntesis. Los genomas conocidos de cloroplastos son todos ellos moléculas circulares de DNA. Existen varias copias del genoma en cada cloroplasto, todas ellas idénticas. El genoma cloroplástico típico tiene entre 120 y 160 kbp, y contiene dos repeticiones invertidas de entre 6 y 76 kbp (**Figura 13.5**). Se han secuenciado por completo varios genomas cloroplásticos, y algunos de ellos se encuentran resumidos en la **Tabla 13.3.** El protozoo flagelado *Mesostigma viride* pertenece al linaje divergente más antiguo de plantas verdes. Su cloroplasto contiene más genes codificantes de proteínas y de tRNA que cualquier otro conocido hasta ahora y tiene la estructura genómica típica ilustrada en la Figura 13.5.

Muchos de los genes cloroplásticos codifican proteínas para la fotosíntesis y la autotrofía. No obstante, el genoma de los cloroplastos también codifica rRNA utilizado en los ribosomas cloroplásticos, tRNA utilizado en la traducción, algunas proteínas utilizadas en la transcripción y en la traducción y algunas otras proteínas. Algunas proteínas que desarrollan su función en el cloroplasto están codificadas por genes nucleares. Se cree que son genes que migraron hacia el núcleo a medida que el cloroplasto evolucionó de endosimbionte a orgánulo fotosintético. A diferencia de lo que ocurre con los procariotas de vida libre, los intrones son comunes en los genes de los cloroplastos, y son principalmente del tipo autoempalmantes (Sección 8.8).

Los análisis de los genomas cloroplásticos apoyan firmemente la hipótesis endosimbiótica (Secciones14.4 y 18.4). Por ejemplo, los genomas de los cloroplastos contienen genes que son homólogos a los de *Escherichia coli*, las cianobacterias y otras bacterias. Entre ellos hay genes que codifican proteínas para la división celular, lo que sugiere que el mecanismo de división de los cloroplastos se parece al de las células bacterianas. Además, los genes cloroplásticos para el transporte a través de membrana están estrechamente relacionados con los de las bacterias.

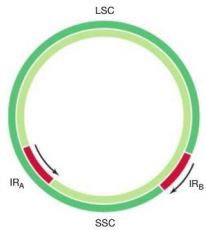


Figura 13.5 Mapa de un genoma de cloroplasto típico. Los genomas de los cloroplastos son moléculas circulares de DNA bicatenario. La mayoría contienen dos regiones de repeticiones invertidas (IR_A e IR_B), que forman los límites entre una pequeña región de copia (SSC) y una región grande de copia (LSC).

Genomas mitocondriales

Las mitocondrias son las responsables de la producción de energía mediante la respiración, y se encuentran en la mayoría de organismos eucariotas. Los genomas mitocondriales codifican principalmente proteínas para la fosforilación oxidativa y, al igual que los genomas de cloroplastos, también codifican rRNA, tRNA y proteínas implicadas en la síntesis proteica. No obstante, la mayoría de genomas mitocondriales codifican muchas menos proteínas que los genomas de los cloroplastos.

Tabla 13.3 Algunos genomas cloroplásticos[a]

			Genes que codifican			
Organismo		*Tamaño (bp)*	*Proteínas[b]*	*tRNA*	*rRNA[c]*	*Repeticiones invertidas[d]*
Chlorella vulgaris	Alga verde	150.613	77	31	1	Ausentes
Euglena gracilis	Protozoo	143.170	67	27	3	Ausentes
Mesostigma viride	Protozoo	118.360	92	37	2	Presentes
Pinus thunbergii	Pino negro	119.707	72	32	1	Presentes[e]
Oryza sativa	Arroz	134.525	70	30	2	Presentes
Zea mays	Maíz	140.387	70	30	2	Presentes

[a] Todos los genomas de cloroplasto son de DNA circular bicatenario (Secciones14.4 y 18.4).
[b] Se incluyen los genes que codifican proteínas de función conocida y ORF que deberían ser funcionales.
[c] Cada unidad es un operón de rRNA, que contiene genes para cada uno de los rRNA (Sección 7.12).
[d] Véase la Figura 13.5.
[e] Aunque hay repeticiones invertidas, están ampliamente truncadas.

Se han secuenciado varios cientos de genomas mitocondriales. El más grande de ellos tiene 62 genes que codifican proteínas, pero hay otros que codifican tan sólo 3 proteínas. Las mitocondrias de prácticamente todos los mamíferos, incluidos los humanos, codifican sólo 13 proteínas, más 22 tRNA y 2 rRNA. En la **Figura 13.6** se muestra un mapa del genoma mitocondrial humano, con 16.569 bp. El genoma mitocondrial de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es más grande (85.779 bp), pero tiene sólo 8 genes que codifican proteínas. Además de los genes que codifican el RNA y las proteínas, el genoma mitocondrial de la levadura contiene grandes fragmentos de DNA extremadamente rico en AT, sin función aparente.

Mientras los genomas cloroplásticos utilizan el código genético «universal», las mitocondrias usan códigos simplificados ligeramente diferentes (Sección 7.13) que parecen haber surgido por presión selectiva de genomas más pequeños. Por ejemplo, los 22 tRNA producidos en las mitocondrias son insuficientes para leer todo el código genético, incluso teniendo en cuenta el apareamiento con balanceo «estándar». Así pues, el apareamiento de bases entre el codón y el anticodón (Figura 7.25) es todavía más flexible que en las células.

A diferencia de los genomas de los cloroplastos, que son todos moléculas individuales de DNA circular, entre los genomas mitocondriales existe bastante diversidad. Por ejemplo, algunos son lineales, incluidos los de algunas especies de algas, protozoos y hongos. En otros casos, como en la levadura de panadería y de cerveza *S. cerevisiae*, aunque los análisis genéticos indican que el genoma mitocondrial es circular, parece que la principal forma *in vivo* es lineal. (Recordemos que el bacteriófago T4 tiene un genoma genéticamente circular pero que físicamente es lineal, Sección 10.9.)

Por último, cabe destacar que las mitocondrias de algunos organismos contienen pequeños plásmidos, lo que complica el análisis de los genomas mitocondriales. Un problema adicional al analizar los genomas de algunos orgánulos es que en ocasiones resulta difícil encontrar el gen para una proteína concreta, incluso cuando se conocen tanto la proteína como el DNA del orgánulo. Esto es debido a la **edición del RNA** (*véase* Información adicional «Edición del RNA»).

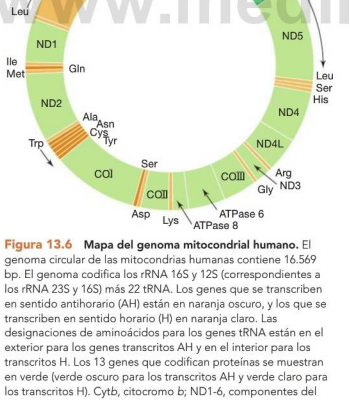


Figura 13.6 Mapa del genoma mitocondrial humano. El genoma circular de las mitocondrias humanas contiene 16.569 bp. El genoma codifica los rRNA 16S y 12S (correspondientes a los rRNA 23S y 16S) más 22 tRNA. Los genes que se transcriben en sentido antihorario (AH) están en naranja oscuro, y los que se transcriben en sentido horario (H) en naranja claro. Las designaciones de aminoácidos para los genes tRNA están en el exterior para los genes transcritos AH y en el interior para los transcritos H. Los 13 genes que codifican proteínas se muestran en verde (verde oscuro para los transcritos AH y verde claro para los transcritos H). Cytb, citocromo *b*; ND1-6, componentes del complejo NADH-deshidrogenasa; COI-III, subunidades del clomplejo citocromo-oxidasa; ATPasa 6 y 8, polipéptidos del complejo ATPasa mitocondrial. Los dos promotores están en la región llamada bucle D, una región que también está implicada en la replicación del DNA.

Los orgánulos y el genoma nuclear

Los cloroplastos y las mitocondrias necesitan muchas más proteínas de las que codifican. Por ejemplo, para la traducción en los orgánulos son necesarias muchas más proteínas de las que codifica el genoma del orgánulo; por tanto, muchas de las funciones de los orgánulos están codificadas por genes nucleares.

Se estima que la mitocondria de la levadura contiene unas 400 proteínas diferentes; sin embargo, sólo 8 de ellas están codificadas por el genoma mitocondrial; el resto proceden de genes nucleares. Si bien se podría predecir que las proteínas que funcionan en procesos específicos en el núcleo y en el citoplasma eucarióticos podrían tener el mismo uso en las mitocondrias, no es el caso. Aunque los genes de muchas proteínas de los orgánulos están presentes en el núcleo, se transcriben allí y se traducen en los ribosomas 80S del citoplasma eucariótico, las proteínas se utilizan específicamente en los orgánulos y deben transportarse hasta allí.

Las proteínas mitocondriales codificadas en el núcleo e implicadas en la traducción y la generación de energía están estrechamente relacionadas con sus correspondientes bacterianas, no con las que cumplen estas funciones en el citoplasma eucariótico. Así, inicialmente se pensó que la mayoría de los genes que codifican proteínas mitocondriales se habrían transferido de la mitocondria al núcleo durante la maduración del proceso endosimbiótico. Sin embargo, lo que se necesitaba para confirmar esta hipótesis eran las secuencias genómicas nuclear y mitocondrial de un eucariota, la secuencia genómica de una especie bacteriana filogenéticamente cercana al genoma mitocondrial, y los genomas de otras bacterias con fines comparativos. Todas esas exigencias

www.medil

Edición del RNA

La edición del RNA es el proceso de alterar la secuencia de bases de un RNA mensajero tras la transcripción. En consecuencia, la secuencia de nucleótidos del mRNA final no corresponde exactamente a la secuencia del DNA del que se ha transcrito. Existen dos formas de editar el RNA. En una de ellas, los nucleótidos son insertados o eliminados del mRNA. En la otra, una base del mRNA es modificada químicamente de modo que cambia su identidad. En cualquier caso, la edición del RNA puede alterar la secuencia de codificación de un mRNA con el resultado de que la secuencia de aminoácidos del polipéptido resultante diferirá de la predicha a partir de su secuencia génica.

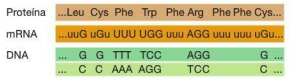


Figura 1 **Edición del RNA.** La primera fila muestra una porción de la secuencia de aminoácidos de la subunidad III de la enzima citocromo-oxidasa del protozoo *Trypanosoma brucei*. Esta proteína está codificada por el genoma mitocondrial. La secuencia de mRNA de esta región se muestra bajo la secuencia de aminoácidos. Las bases en mayúsculas son las transcritas a partir del gen, que se muestra debajo en verde. Las bases del mRNA (naranja) en minúsculas han sido insertadas en el transcrito por edición del RNA. Los espacios que se muestran entre los pares de bases de DNA son simplemente para facilitar la visualización; en realidad no hay huecos en la molécula de DNA.

La edición del RNA es muy rara en la mayoría de los organismos, especialmente en los animales superiores. Los mamíferos y las plantas sólo utilizan la edición por modificación química. Un importante ejemplo en los humanos es la edición de adenosina a inosina en el mRNA para algunas proteínas receptoras de neurotransmisores en el sistema nervioso. En este caso, la adenosina se convierte en inosina por desaminación, y la inosina generada funciona como una guanosina durante la traducción. Los fallos en esta edición pueden provocar síntomas neurológicos graves.

La edición del RNA es más habitual en las mitocondrias y los cloroplastos de las plantas superiores. En sitios específicos de algunos mRNA, una C se convertirá en una U por desaminación oxidativa (la modificación opuesta es más rara). Existen al menos 25 sitios de conversión de C a U en el cloroplasto del maíz. Según la ubicación de la edición, se puede formar un nuevo codón, lo que conduce a una secuencia proteica alterada.

La edición del mRNA por inserción o deleción de nucleótidos ocurre en algunos protozoos, especialmente en tripanosomas y organismos relacionados, y más a menudo en genes mitocondriales que en genes nucleares. La edición de algunos transcritos mitocondriales supone la adición de gran cantidad (cientos en algunos casos) de uridinas o, más raramente, su deleción. En la **Figura 1** se muestra un ejemplo de este tipo de edición del RNA. En estos casos, las secuencias codificadoras en el DNA suelen tener pautas de lectura incorrectas. Si el mRNA no fuera editado, las proteínas resultantes serían mutantes por desplazamiento de la pauta de lectura y, por tanto, defectivas.

La edición del RNA es controlada de manera precisa por secuencias cortas en el mRNA que «guían» a las enzimas de edición. En el caso de la edición insercional, las secuencias en el mRNA son reconocidas por pequeñas moléculas de mRNA guía, que son complementarias con el mRNA excepto por el hecho de que tienen una A adicional. Los residuos U se insertan en el mRNA opuestos a la A adicional en el RNA guía. Obviamente, este proceso debe tener un control riguroso. La inserción de demasiadas bases o demasiado pocas generaría errores en la pauta de lectura que darían lugar a proteínas no funcionales.

La edición del RNA, si bien es un fenómeno curioso, no supuso un obstáculo significativo en el análisis del genoma de los orgánulos, ya que el número de proteínas que codifican es pequeño, y las proteínas están altamente conservadas. Por otra parte, si la edición del RNA estuviera más extendida en los genomas nucleares o en los de las células procariotas, la genómica comparativa sería una tarea aún más complicada.

La función y el origen de la edición del RNA se desconocen. Pero algunos científicos han sugerido que este proceso podría ser otra reminiscencia más, junto con los ribozimas, de una era en la Tierra antes de la evolución de las células o el DNA: el mundo de RNA (Secciones 8.8 y 14.2).

www.marbooks.com

se cumplieron en el caso de la levadura *S. cerevisiae* y las bacterias necesarias, y los análisis han sido muy reveladores.

Sorprendentemente, de los 400 genes nucleares que codifican proteínas mitocondriales, sólo unos 50 están estrechamente relacionados con el linaje filogenético en bacterias que derivó en las mitocondrias (las alfaproteobacterias, Sección 15.1). Otros 150 están claramente relacionados con proteínas de *Bacteria*, pero no necesariamente de las alfaproteobacterias. Estas proteínas similares a las bacterianas son necesarias, principalmente, para la conversión de energía, la traducción y la biosíntesis. No obstante, las 200 proteínas mitocondriales restantes están codificadas por genes que no tienen homólogos identificables entre los genes de bacterias. Estas proteínas son necesarias, fundamentalmente, en las membranas, en la regulación y el transporte. Así, aunque la mitocondria muestra muchos indicios de haberse originado a partir de sucesos endosimbióticos (Secciones 14.4 y 18.4), los análisis genómicos han demostrado que su historia genética es más complicada de lo que se pensó inicialmente.

13.4 Minirrevisión

Todas las células eucariotas (excepto las de algunos parásitos) contienen mitocondrias. Además, las células vegetales contienen cloroplastos. Ambos orgánulos contienen genomas de DNA circular que codifican rRNA, tRNA y algunas proteínas implicadas en el metabolismo energético. Aunque los genomas de los orgánulos son independientes del genoma nuclear, los orgánulos en sí mismos no lo son. Muchos genes nucleares codifican proteínas necesarias para el funcionamiento de los orgánulos.

- ¿Qué hay de inusual en los genes que codifican las funciones mitocondriales en las levaduras?
- ¿Qué relación guardan el tamaño del genoma y el contenido génico de las mitocondrias de levadura con las humanas?
- ¿Qué es la edición del RNA? ¿En qué se diferencia del procesamiento del RNA?

13.5 Geneomas microbianos eucarióticos

Se conoce una gran cantidad de eucariotas, y se han secuenciado varios eucariotas microbianos y superiores (**Tabla 13.4**). Los genomas de los mamíferos, incluidos los humanos, los ratones y las ratas, tienen alrededor de los 25,000 genes —cerca del doble de los encontrados en los insectos y cuatro veces los de las levaduras—. Sin embargo, los genomas de las plantas superiores, como el arroz y *Populus trichocarpa*, contienen todavía más genes, aproximadamente el doble que los humanos. Se cree que la secuenciación del maíz y otros grandes genomas de plantas actualmente en curso revelarán cantidades de genes aún más grandes.

Curiosamente, los protozoos unicelulares *Paramecium* (40.000 genes) y *Trichomonas* (60.000 genes) tienen un número significativamente más alto de genes que los humanos (Tabla 13.4). De hecho, *Trichomonas* ostenta el record actual en número de genes de cualquier organismo. Es sorprendente, porque *Trichomonas* es un parásito humano y, como hemos visto, estos organismos tienen típicamente genomas pequeños en relación con los organismos de vida libre comparables.

De los eucariotas unicelulares, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es el más ampliamente utilizado como organismo modelo, ya que ha sido extensamente utilizado en la industria, de modo que nos centraremos en su genoma.

El genoma de la levadura

El genoma haploide de la levadura contiene 16 cromosomas, cuyo tamaño varía entre los 220 kbp y los cerca de 2.352 kbp. El genoma nuclear total de la levadura (excluyendo las mitocondrias y algunos plásmidos y elementos genéticos similares a los virus) es, aproximadamente, de 13.392 kbp. ¿Por qué se usan las palabras «cerca de» y «aproximadamente» para describir este genoma cuando se ha secuenciado completamente? La levadura, como muchos otros eucariotas, tiene una gran cantidad de DNA repetitivo (Sección 8.5). Cuando se publicó el genoma de levadura, en 1997, no se habían secuenciado todas las repeticiones «idénticas». Es difícil secuenciar un fragmento muy largo de secuencias idénticas o prácticamente idénticas y después ensamblar los datos en un marco coherente. Por ejemplo, el cromosoma XII de levadura contiene un fragmento de aproximadamente 1.260 kbp que contiene entre 100 y 200 repeticiones de genes de rRNA. Y a esta larga serie de repeticiones de genes de rRNA le sigue otra secuencia repetida. A causa de estas repeticiones idénticas, el tamaño de los genomas eucarióticos son, inevitablemente, sólo aproximaciones cercanas.

Además de tener múltiples copias de los genes de rRNA, el genoma nuclear de levadura tiene cerca de 300 genes de tRNA (sólo unos pocos de los cuales son idénticos) y alrededor de 100 genes de otros tipos de RNA no codificante. Al igual que con otros genomas eucarióticos, el número de ORF predichas en levadura ha cambiado un poco a medida que se han ido refinando los análisis de secuencia. Desde 2006, se han identificado aproximadamente 5.800 ORF más otras 800 posibles en el genoma de levadura; esto son menos ORF que las que hay en algunos genomas procarióticos (Tablas 13.1 y 13.4). De las ORF de levadura, unas 3.500 codifican proteínas de las que se desconoce su función. La gran variedad de técnicas genéticas y bioquímicas disponibles para estudiar este organismo han supuesto avances significativos también en la comprensión de la función del resto de proteínas (Sección 13.7).

Complemento génico mínimo de la levadura

¿Cuántos genes de levadura conocidos son realmente esenciales? Esta pregunta se puede intentar responder inactivando sistemáticamente cada gen con mutaciones de desactivación (mutaciones que hacen que un gen deje de ser funcional; Sección 12.9). Normalmente, las mutaciones por desactivación no se pueden obtener en genes esenciales para la viabilidad celular en un organismo haploide. Sin embargo, la levadura se puede cultivar en ambos estados, el diploide y el haploide (Sección 18.18). Generando mutaciones por desactivación en células diploides y después investigando si también pueden existir en células haploides, es posible determinar si un gen concreto es esencial para la viabilidad de la célula.

Mediante mutaciones por desactivación se ha demostrado que al menos 877 ORF de levadura son esenciales, y otras 3.121 claramente no lo son. Obsérvese que este número de genes esenciales es mucho más grande que los aproximadamente 300 genes (o posiblemente menos de 200, Sección 13.3) predichos como el número mínimo necesario en procariotas. No obstante, debido a que los eucariotas son mucho más complejos que los procariotas, es de esperar un complemento génico mínimo más grande.

Intrones de levadura

La levadura es un eucariota y contiene intrones (Sección 8.8). No obstante, el número total de intrones en los genes que codifican proteínas en la levadura es solamente de 225. La mayoría de genes de levadura con intrones tienen un solo intrón pequeño cerca del extremo 5′ del gen. Esta situación difiere radicalmente de la observada en los eucariotas superiores (Tabla 13.4). En el gusano *Caenorhabditis elegans*, por ejemplo, el gen medio posee 5 intrones, y en *Drosophila*, la mosca de la fruta, el gen medio tiene 4 intrones. Los intrones también son muy comunes en los genes de las plantas superiores. Así, la planta *Arabidopsis* tiene, como media, 5 intrones por gen, y cerca del 75% de los genes de *Arabidopsis* tienen intrones. En los humanos, casi todos los genes que codifican proteínas tienen intrones, y no es raro que un solo gen contenga 10 o más. Además, los intrones humanos son, típica-

Tabla 13.4 Algunos genomas nucleares eucarióticos[a]

Organismo	*Comentarios*	*Organismo/ Tipo de célula[b]*	*Tamaño del Genoma (Mbp)*	*Número haploide de cromosomas*	*Genes que codifican proteínas[c]*
Nucleomorfo de *Bigelowiella natans*	Núcleo endosimbiótico degenerado	E	0,37	3	331
Encephalitozoon cuniculi	Genoma eucariótico más pequeño conocido; patógeno humano	P	2,9	11	2.000
Cryptosporidium parvum	Protozoo parásito	P	9,1	8	3.800
Plasmodium falciparum	Malaria maligna	P	23	14	5.300
Saccharomyces cerevisiae	Levadura, modelo eucariótico	VL	13	16	5.800
Ostreococcus tauri	Alga verde marina; eucariota más pequeño de vida libre	VL	12,6	20	8.200
Aspergillus nidulans	Hongo filamentoso	VL	30	8	9.500
Giardia lamblia	Protozoo flagelado; causa gastroenteritis aguda	P	12	5	9.700
Dictyostelium discoideum	Ameba social	VL	34	6	12.500
Drosophila melanogaster	Mosca de la fruta; organismo modelo para estudios genéticos	VL	180	4	13.600
Caenorhabditis elegans	Gusano; organismo modelo para estudios sobre el desarrollo animal	VL	97	6	19.100
Arabidopsis thaliana	Planta modelo para estudios genéticos	VL	125	5	26.000
Mus musculus	Ratón, mamífero modelo	VL	2.500	23	25.000
Homo sapiens	Humano	VL	2.850	23	25.000
Oryza sativa	Arroz; la planta de cultivo más importante del mundo	VL	390	12	38.000
Paramecium tetraaurelia	Protozoo ciliado	VL	72	>50	40.000
Populus trichocarpa	Chopo	VL	500	19	45.000
Trichomonas vaginalis	Protozoo flagelado; patógeno humano	P	160	6	60.000

[a] Todos los datos son para los genomas nucleares haploides de estos organismos.
[b] E, endosimbionte; P, parásito; VL, vida libre.
[c] El número de genes que codifican proteínas es, en todos los casos, una estimación basada en los genes y las secuencias conocidos que parecen codificar proteínas funcionales.

www.medilibros.com

mente, más grandes que los exones. De hecho, los exones constituyen solamente el 1% del genoma humano, y los intrones el 24%.

Otros microorganismos eucariotas

Se han secuenciado los genomas de algunos otros microorganismos eucariotas, la mayoría de ellos de importancia médica. El genoma eucariótico celular más pequeño conocido pertenece a *Encephalitozoon cuniculi*, un patógeno intracelular de los humanos y otros animales que provoca infecciones pulmonares. *E. cuniculi* carece de mitocondrias y, aunque su genoma haploide contiene 11 cromosomas, el tamaño genómico es de sólo 2,9 Mbp, con aproximadamente 2.000 genes (Tabla 13.4); este tamaño es más pequeño que el de muchos genomas procarióticos (Tabla 13.1). Al igual que ocurre en procariotas, el genoma eucariótico más pequeño pertenece a un endosimbionte (Tabla 13.4). Conocido como *nucleomorfo*, es la reminiscencia degenerada de un endosimbionte eucariota encontrado en determinadas algas verdes que adquirieron la fotosíntesis por endosimbiosis secundaria (Sección 18.21). Los genomas de los nucleomorfos varían entre los 0,45 Mbp y los 0,85 Mbp.

Como hemos dicho anteriormente, el genoma eucariótico más grande pertenece a *Trichomonas*, que tiene unos 60.000 genes a pesar de su existencia parasitaria (Tabla 13.4). El ciliado de vida libre *Paramecium* tiene unos 40.000 genes, y la ameba social de vida libre *Dictyostelium*, unos 12.500 genes (pero obsérvese que *Dictyostelium* tiene fases unicelulares y multicelulares en su ciclo de vida; Sección 18.12). Compárense estos datos con los de la ameba patógena *Entamoeba histolytica*, la causante de la disentería amébica, que tiene aproximadamente 10.000 genes.

Aparte del extraño caso de *Trichomonas*, los microorganismos eucariotas patógenos tienen genomas que varían entre los 10 y los 30 Mbp de DNA, y entre 4.000 y 11.000 genes. Por ejemplo, el genoma de *Trypanosoma brucei*, el agente de la enfermedad africana del sueño, tiene 11 cromosomas, 35 Mbp de DNA y casi 11.000 genes. El parásito eucariota más importante es *Plasmodium*, que causa la malaria (Sección 35.5). El genoma de 25 Mbp de *Plasmodium falciparum* está formado por 14 cromosomas cuyo tamaño varía entre 0,7 y 3,4 Mbp. El número estimado de genes de *P. falciparum*, que infecta a los humanos, es de 5.300, y para la especie relacionada *Plasmodium yoelli*, que infecta a roedores, es de 5.900.

13.5 Minirrevisión

Se ha determinado la secuencia genómica completa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y de muchos otros eucariotas microbianos. La levadura puede codificar hasta 5.800 proteínas, de las cuales sólo 900 parecen esenciales para la viabilidad. De los genes que codifican proteínas en la levadura, relativamente pocos contienen intrones. El número de genes en los eucariotas unicelulares varía entre los 2.000 (menos que muchas bacterias) y los 60.000 (más del doble que los humanos).

- ¿Cómo podemos demostrar que un gen es esencial?
- ¿Qué hay de inusual en el genoma del eucariota *Encephalitozoon*?

II FUNCIÓN Y REGULACIÓN DEL GENOMA

A pesar del gran esfuerzo necesario para generar la secuencia registrada de un genoma, en cierto modo el resultado neto es, simplemente, un «listado de piezas». Para entender cómo funciona una célula, necesitamos saber algo más que los genes que están presentes. También es necesario investigar la expresión génica (transcripción) y la función del producto génico final.

En este apartado vamos a centrarnos en la expresión génica. Por analogía con el término «genoma», el complemento entero de RNA producido en determinadas condiciones se conoce como **transcriptoma**.

www.libros.com

13.6 Micromatrices y transcriptoma

Saber las condiciones en las que un gen se transcribe nos puede revelar la función de dicho gen. Ya hemos visto cómo la hibridación de los ácidos nucleicos pone de manifiesto la ubicación de los genes en fragmentos específicos del DNA (Sección 12.2). Las técnicas de hibridación también se pueden utilizar junto con los datos de la secuencia genómica para medir la expresión génica mediante la hibridación del mRNA con fragmentos específicos de DNA. Esta técnica se ha visto enormemente impulsada por el desarrollo de las micromatrices, o *chips génicos*, como también se los conoce.

Las micromatrices y el chip de sílice de DNA

Las **micromatrices** son pequeños soportes en estado sólido sobre los cuales se fijan y disponen espacialmente, según un patrón conocido, genes o, con más frecuencia, porciones de genes. Los segmentos génicos son sintetizados por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o, alternativamente, se diseñan oligonucleótidos para cada gen en función de la secuencia genómica. Una vez unidos al soporte sólido, estos segmentos de DNA se pueden hibridar con mRNA de células cultivadas en condiciones específicas, escanearse y analizarse por ordenador. La hibridación entre un mRNA específico y el DNA correspondiente en el chip indica que el gen se ha transcrito.

En la práctica, el mRNA está presente en cantidades demasiado bajas para su uso directo. Por lo tanto, las se-

cuencias de mRNA deben ser, previamente, amplificadas. La retrotranscriptasa (RT) se utiliza para generar DNA complementario (cDNA) a partir del mRNA. Después, el cDNA se puede amplificar por PCR (estos dos pasos constituyen el método RT-PCR; Sección 12.8). Como alternativa, el cDNA se puede utilizar como molde de la RNA-polimerasa de T7, que genera múltiples copias de RNA, llamadas *cRNA*. A continuación, el cDNA o el cRNA se aplican a la matriz.

En la **Figura 13.7** se muestra un método para elaborar y utilizar las micromatrices. La fotolitografía, un proceso utilizado para generar chips informáticos, se ha adaptado para producir chips de DNA de sílice de entre 1 y 2 cm de tamaño, cada uno de los cuales puede albergar miles de fragmentos diferentes de DNA. Las matrices con el genoma completo contienen segmentos de DNA que, en conjunto, representan el genoma entero de un organismo. Cada gen está representado más de una vez en la matriz con el fin de aumentar la fiabilidad. Por ejemplo, una empresa vende un chip del genoma humano que contiene el genoma humano completo (**Figura 13.8***a*). Este solo chip es capaz de analizar unos 47.000 transcritos humanos y tiene espacio para 6.500 oligonucleótidos adicionales para su uso en diagnóstico clínico.

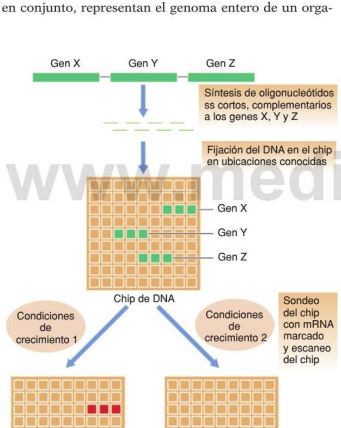
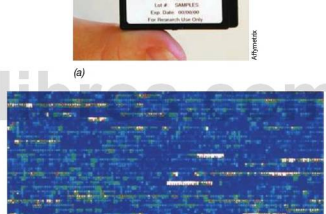


Figura 13.7 Elaboración y uso de chips de DNA. Se sintetizan individualmente oligonucleótidos cortos de cadena sencilla correspondientes a todos los genes de un organismo, y se fijan en ubicaciones conocidas para elaborar un chip de DNA (micromatriz). El chip de DNA se analiza hibridando mRNA marcados con fluorescencia, obtenidos de células cultivadas en condiciones específicas, a las sondas de DNA del chip, y después escaneando el chip con un láser.

(a)



(b)

Figura 13.8 Uso de chips de DNA para ensayar la expresión génica. *(a)* El chip del genoma humano contiene más de 40.000 fragmentos génicos. *(b)* Chip híbrido de levadura. La foto muestra fragmentos de un cuarto del genoma completo de la levadura de panadería, *Saccharomyces cerevisiae*, fijado a un chip génico. Cada gen está presente en varias copias y se ha explorado con cDNA marcado con fluorescencia derivado del mRNA extraído de células de levadura cultivadas en condiciones específicas. El fondo del chip es azul. Los sitios en los que el cDNA ha hibridado están indicados con una gradación de color hasta el máximo de hibridación, que se muestra con el color blanco. Al conocerse la ubicación de cada gen en el chip, cuando se escanea el chip se detecta cuáles son los genes expresados.

www.medilibros.com

En la Figura 13.8*b* se muestra un fragmento de un chip utilizado para ensayar la expresión del genoma de *Saccharomyces cerevisiae*. Este chip alberga fácilmente los 5.600 genes que codifican proteínas de *S. cerevisiae* (Sección 13.5), de modo que en un solo experimento se puede medir la expresión génica global de este organismo. Para ello, el chip se hibrida con cRNA o cDNA derivado del mRNA obtenido de las células de levadura cultivadas en condiciones específicas. Cualquier cRNA/cDNA se une sólo al DNA del chip de cuya secuencia es complementario. Para visualizar la unión, el cRNA/cDNA se marca con un pigmento fluorescente, y el chip se escanea con un detector de fluorescencia inducida por láser. Las señales son analizadas por ordenador. Se observan patrones de hibridación diferentes, en función de qué secuencias de DNA corresponden a cada uno de los mRNA (Figura 13.8*b*). Esto permite al ordenador elaborar una lista con los genes expresados y los grados de expresión. Así, utilizando los chips génicos, el transcriptoma del organismo de interés crecido en condiciones específicas se revela a partir del patrón y la intensidad de las manchas fluorescentes generadas.

Aplicaciones de los chips de DNA: Expresión génica

Los chips génicos se pueden usar de distintas maneras, en función de los genes unidos al chip. La expresión génica global se monitoriza fijando a la matriz un oligonucleótido complementario de cada gen del genoma y después utilizando la población completa de mRNA como muestra del análisis (Figura 13.8*b*). Alternativamente, se puede comparar la expresión de grupos específicos de genes en diferentes condiciones de crecimiento. La capacidad para analizar la expresión simultánea de miles de genes tiene un tremendo potencial para descubrir las complejidades del metabolismo y la regulación. Esto se aplica para organismos «simples» como las bacterias, o complejos como los eucariotas superiores.

El chip génico de *S. cerevisiae* (Figura 13.8*b*) se ha utilizado para estudiar el control metabólico en este importante organismo industrial (Secciones25.11 y 25.14). La levadura puede crecer por fermentación y por respiración. Los análisis transcriptómicos pueden demostrar qué genes se desactivan y cuáles se activan cuando las células de levadura cambian del metabolismo fermentativo (anaerobio) al respiratorio o viceversa. Los análisis transcriptómicos de esta expresión génica muestran que la levadura sufre una «reprogramación» metabólica fundamental durante el paso del crecimiento anaerobio al aerobio. Un grupo de genes que controlan la producción de etanol (un producto clave de la fermentación) son fuertemente reprimidos, mientras las funciones del ciclo del ácido cítrico (necesario para el crecimiento aerobio) son fuertemente activadas por el cambio. En general, unos 700 genes son activados y unos 1.000 desactivados durante esta transición metabólica. Además, utilizando una micromatriz se puede monitorizar también el patrón de expresión de genes de función desconocida, durante el cambio entre fermentación y respiración, lo que aportaría pistas sobre su posible papel. Actualmente ningún otro método puede darnos tanta información sobre la expresión génica como las micromatrices.

Otro uso importante de las micromatrices de DNA es la comparación de genes en organismos estrechamente relacionados. Por ejemplo, se ha utilizado para seguir la evolución de bacterias patógenas a partir de sus parientes inocuos. En la medicina humana, las micromatrices se utilizan para realizar el seguimiento de la pérdida o la duplicación de genes en las células cancerosas. En la microbiología ambiental se han utilizado para evaluar la diversidad microbiana. Los filochips, como se les llama, contienen oligonucleótidos complementarios de las secuencias de rRNA 16S de diferentes especies bacterianas. Tras extraer el DNA o el RNA a granel de un ambiente, se puede evaluar la presencia o ausencia de cada especie por la presencia o ausencia de hibridación en el chip (Sección 22.5 y Figura 22.15). **www.microbioloyplance.com. Tutorial online 13.1: Chips de DNA.**

Aplicaciones en identificación

Además de analizar la expresión génica, las micromatrices se pueden utilizar para identificar específicamente microorganismos. En este caso, la matriz contiene un grupo de secuencias características de DNA de cada uno de una serie de organismos o virus. Este método se puede utilizar para diferenciar entre cepas muy estrechamente relacionadas mediante diferencias en sus patrones de hibridación. Esto permite una identificación muy rápida de virus o bacterias patógenas a partir de muestras clínicas o la detección de estos organismos en otras sustancias, como alimentos. Por ejemplo, los chips de identificación (ID) se han utilizado en la industria alimentaria para detectar patógenos particulares, por ejemplo *Escherichia coli* O157:H7.

También hay disponibles chips génicos para identificar organismos superiores. Un chip disponible comercialmente llamado FoodExpert-ID contiene 88.000 fragmentos génicos de animales vertebrados, y se utiliza en la industria alimentaria para asegurar la pureza de los alimentos. Por ejemplo, el chip puede confirmar la presencia de la carne indicada en una etiqueta alimentaria, y también puede detectar carne de animales diferentes que pueden haberse añadido como suplementos o sustitutos de los ingredientes oficiales. El objetivo final es que cada producto cárnico reciba una «tarjeta de identidad» en la que se detallen todas las especies animales cuyos tejidos se han detectado en él. Se pretende que esto dé más confianza a los consumidores acerca de la integridad de los productos alimenticios. El FoodExpert-ID también puede utilizarse para detectar subproductos vertebrados en los alimentos para animales, una preocupación creciente desde la aparición de enfermedades priónicas como la de las vacas locas (Sección 10.15).

13.6 Minirrevisión

Las micromatrices (o *microarrays*) están formadas por genes o fragmentos de genes unidos a un soporte sólido siguiendo un patrón conocido. Estas matrices se utilizan para hibridar el mRNA con ellas y después analizarlas para determinar patrones de expresión génica. Las matrices son lo bastante grandes y densas para poder analizar con ellas el patrón de transcripción de un genoma completo (el transcriptoma).

- ¿Qué información nos dan las micromatrices que no obtenemos al ensayar una enzima particular para estudiar la expresión génica?
- ¿Por qué es útil saber cómo responde la expresión génica de todo el genoma a unas condiciones específicas?

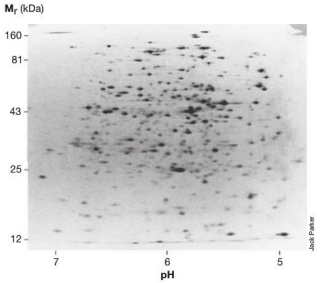


Figura 13.9 Electroforesis bidimensional de proteínas en gel de poliacrilamida. Autorradiograma de las proteínas de células de *Escherichia coli*. Cada mancha del gel es una proteína diferente. Las proteínas están marcadas radiactivamente para permitir la visualización y la cuantificación. En la primera dimensión (dirección X), las proteínas se separaron por isoelectroenfoque en condiciones desnaturalizantes. En la segunda dimensión (dimensión Y) las proteínas desnaturalizadas se separan por su masa (M_r, en kilodáltons), estando las proteínas más grandes en la parte superior del gel.

13.7 Proteómica

Otro de los objetivos de los estudios genómicos consiste en determinar qué genes expresados producen en realidad los productos proteicos y, después, determinar la función de dichas proteínas. El estudio de la estructura, la función y la regulación de las proteínas de un organismo utilizando todo el genoma recibe el nombre de **proteómica**.

La cantidad y el tipo de proteínas presentes en una célula están sometidos a cambios en respuesta al entorno del organismo o a otros factores, como sus ciclos de desarrollo. En consecuencia, el término **proteoma** es, lamentablemente, un término ambiguo. En su sentido más amplio, un proteoma incluye a *todas* las proteínas codificadas por el genoma de un organismo. En un sentido más restringido, sin embargo, se refiere a las proteínas presentes en una célula *en un momento determinado*.

Métodos en proteómica

El principal enfoque de la proteómica se desarrolló hace décadas con la llegada de la electroforesis bidimensional (2D) en gel de poliacrilamida. Esta técnica puede separar, identificar y medir todas las proteínas presentes en una muestra celular. En la **Figura 13.9** se muestra un gel 2D de separación de proteínas de *Escherichia coli*. En su primera dimensión (la dimensión horizontal de la figura), las proteínas se separan por diferencias en sus puntos isoeléctricos, el pH al que la carga neta de cada proteína es cero. En la segunda dimensión, las proteínas son desnaturalizadas de modo que cada aminoácido adquiere una carga fija. A continuación, las proteínas se separan por tamaño (en gran parte igual que sucede con las moléculas de DNA; Sección 12.1).

En estudios de *E. coli* y algunos otros organismos, se han identificado por medios bioquímicos o genéticos cientos de proteínas separadas en geles 2D, y su regulación se ha estudiado en diversas condiciones. Con los geles 2D se puede medir la presencia de una proteína concreta y relacionarla con las señales ambientales. Un método para conectar una proteína desconocida con un gen concreto utilizando el sistema de geles 2D es eluir la proteína del gel y secuenciar un fragmento de ella, normalmente desde su extremo N-terminal. Más recientemente, las proteínas eluidas se han identificado mediante una técnica llamada *espectrometría de masas* (Sección 13.8), normalmente tras una digestión preliminar para obtener un grupo característico de péptidos. Esta información sobre la secuencia puede ser suficiente para identificar completamente la proteína. Alternativamente, los datos de la secuencia parcial pueden permitir el diseño de sondas oligonucleotídicas o cebadores para localizar el gen que codifica la proteína en el DNA genómico por hibridación o reacción en cadena de la polimerasa. Después, tras la secuenciación del DNA se puede determinar la identidad del gen.

Actualmente, la cromatografía líquida se usa cada vez más para separar mezclas proteicas. En la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, de *High pressure liquid chromatography*), la muestra se disuelve en un líquido adecuado y se fuerza a pasar, mediante presión, por una columna empaquetada con un material que constituye la fase estacionaria, que separa las proteínas por variaciones en sus propiedades químicas, como el tamaño, la carga iónica o la hidrofobicidad. A medida que la mezcla viaja por la columna, se separa por interacción de las proteínas con la fase estacionaria. Las fracciones se recogen

Edilibros.com

a la salida de la columna. Las proteínas de cada fracción se digieren con proteasas y los péptidos se identifican por espectrometría de masas.

Genómica y proteómica comparativas

Si bien a menudo la proteómica requiere una experimentación intensa, las técnicas *in silico* también pueden resultar muy útiles. Una vez obtenida la secuencia del genoma de un organismo, se puede comparar con la de otros organismos para localizar e identificar genes similares a los que ya se conocen. La secuencia más importante en este caso es la de aminoácidos de las proteínas codificadas. Puesto que el código genético es degenerado (Sección 7.13), las diferencias en la secuencia del DNA no necesariamente comportan diferencias en la secuencia aminoacídica (**Figura 13.10**).

Las proteínas con más del 50% de identidad de secuencia, a menudo, tienen funciones similares. Las proteínas con similitudes por encima del 70%, es casi seguro que tienen funciones similares. Muchas proteínas están formadas por diferentes módulos estructurales, llamados *dominios proteicos*, cada uno de ellos con funciones características. Estas regiones incluyen dominios de unión a metales, dominios de unión a nucleótidos o dominios para determinadas clases de actividad enzimática, como helicasa o nucleasa. La identificación de dominios de función conocida dentro de una proteína nos dice mucho de sus funciones, incluso en ausencia de la homología completa de secuencia.

La proteómica estructural se refiere a la determinación a lo largo de todo el proteoma de las estructuras tridimensionales (3D) de las proteínas. En este momento, no es posible predecir directamente la estructura en 3D de las proteínas a partir de sus secuencias de aminoácidos. Sin embargo, a menudo se puede modelar la estructura de una proteína desconocida si está disponible la estructura en 3D de una proteína cuya secuencia proteica coincida con ella en un 30% o más.

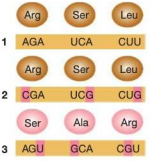


Figura 13.10 Comparación de secuencias de ácidos nucleicos y proteínas en busca de similitudes. Se muestran tres secuencias de nucleótidos diferentes (por conveniencia, son secuencias de RNA). La secuencia 2 y la 3 difieren de la secuencia 1 en sólo tres posiciones. No obstante, las secuencias de aminoácidos codificadas por 1 y 2 son idénticas, mientras la codificada por la secuencia 3 no guarda relación con las otras dos.

El acoplamiento de la proteómica con la genómica nos está dando importantes pistas sobre cómo la expresión génica en los diferentes organismos está relacionada con los estímulos ambientales. Esta información no sólo aporta grandes ventajas en investigación básica, también tiene aplicaciones potenciales en medicina, en agricultura y para el medio ambiente. En todas estas áreas, el conocimiento de la conexión entre el genoma y el proteoma y la regulación de esta conexión podría ofrecer a los seres humanos un control sin precedentes en la lucha contra las enfermedades y la contaminación, así como beneficios sin precedentes para la productividad agrícola.

13.7 Minirrevisión

La proteómica es el análisis de todas las proteínas presentes en un organismo. El fin último de la proteómica es entender la estructura, la función y la regulación de estas proteínas.

- ¿Por qué es ambiguo el término «proteoma», mientras el término «genoma» no lo es?
- ¿Cuáles son los métodos experimentales más frecuentes para estudiar el proteoma?

13.8 Metabolómica

Por analogía con los términos *genoma* y *proteoma*, el **metaboloma** es el conjunto completo de intermediarios metabólicos y otras moléculas pequeñas producidas en un organismo. La metabolómica ha ido a la zaga de otras «ómicas», en gran parte debido a la inmensa diversidad química de los pequeños metabolitos. Esto convierte el estudio sistemático en un desafío técnico. Los primeros intentos se hicieron utilizando análisis de resonancia magnética nuclear (RMN) de extractos celulares marcados con ^{13}C-glucosa. Sin embargo, este método está limitado por su sensibilidad, y el número de compuestos que se pueden identificar simultáneamente en una mezcla es demasiado pequeño para obtener la resolución de extractos celulares completos.

Análisis del metaboloma por espectrometría de masas

El enfoque más prometedor de la metabolómica es el uso de las nuevas técnicas desarrolladas por la espectrometría de masas. Este enfoque no se limita a tipos particulares de moléculas, y puede ser extremadamente sensible. La masa del carbono 12 se define exactamente como 12 unidades de masa molecular (Dáltons). Sin embargo, la masa de otros átomos, como el nitrógeno 14 o el oxígeno 16 no son valores exactos. La espectrometría de masas usando una resolución másica extremadamente alta, que ahora es posible gracias a instrumentos especiales, permite la determinación inequívoca de la fórmula molecular de cualquier molécula pequeña. Obviamente, los

www.medilibros.com

isómeros tendrán la misma fórmula molecular, pero se les puede distinguir por sus patrones de fragmentación diferentes durante la espectrometría de masas.

El análisis del metaboloma es especialmente útil en el estudio de las plantas, muchas de las cuales producen varios miles de metabolitos diferentes —más que la mayoría de organismos de otros tipos—. Esto es debido a que las plantas sintetizan muchos *metabolitos secundarios*, como aromas, sabores, alcaloides y pigmentos, muchos de los cuales son importantes comercialmente. Las investigaciones en metabolómica han monitorizado los niveles de varios cientos de metabolitos en la planta modelo *Arabidopsis*, y se han observado cambios significativos en las cantidades de muchos de estos metabolitos en respuesta a los cambios de temperatura. Las futuras directrices en metabolómica, actualmente en desarrollo, incluyen la evaluación del efecto de la enfermedad en el metaboloma de varios órganos y tejidos humanos. Los resultados podrían mejorar en gran medida nuestra comprensión de cómo combate el cuerpo humano las enfermedades infecciosas y no infecciosas.

13.8 Minirrevisión

El metaboloma es el conjunto completo de intermediarios metabólicos producidos por un organismo.

▮ ¿Qué técnicas se utilizan para estudiar el metaboloma?

www.medilibros.com

III LA EVOLUCIÓN DEL GENOMA

Además de entender cómo funcionan los genes y cómo interaccionan los organismos con el ambiente, la genómica comparativa también puede poner de manifiesto relaciones evolutivas entre los organismos. La reconstrucción de las relaciones evolutivas a partir de las secuencias genómicas ayuda a distinguir entre características principales y características derivadas, y puede resolver ambigüedades en los árboles filogenéticos basados en análisis de un solo gen, como el de la subunidad pequeña del rRNA (Secciones14.6-14.9). La genómica también es un enlace para entender las formas de vida primitivas y, finalmente, puede responder a la más fundamental de todas las preguntas de la biología: ¿Cómo surgió la vida?

13.9 Familias génicas, duplicaciones y deleciones

Los genomas de procariotas y de eucariotas contienen con frecuencia múltiples copias de genes que están relacionados entre sí en cuanto a secuencia, a causa de que comparten un ancestro evolutivo: estos genes reciben el nombre de **genes homólogos**. Los grupos de genes homólogos se llaman **familias génicas**. Como era de esperar, los genomas más grandes tienden a contener más miembros individuales de una familia génica concreta.

Parálogos y ortólogos

La genómica comparativa ha demostrado que muchos genes surgieron por duplicación de otros genes. Estos homólogos se pueden subdividir en función de sus orígenes. Los genes cuya similitud es el resultado de duplicación génica en algún momento de la evolución de un organismo se denominan **parálogos**. Los genes encontrados en un organismo que son similares a los genes de otro organismo, pero se diferencian a causa de la especiación o por eventos evolutivos más distantes, se llaman **ortólogos** (**Figura 13.11**). Un ejemplo de genes parálogos lo constituyen los genes que codifican diferentes isoenzimas de la lactatodeshidrogenasa (LDH) en humanos. Estas enzimas son estructuralmente distintas, aunque todas ellas están altamente reguladas y catalizan la misma reacción enzimática.

Por otra parte, la correspondiente LDH de *Lactobacillus* es ortóloga a todas las isoenzimas humanas de la

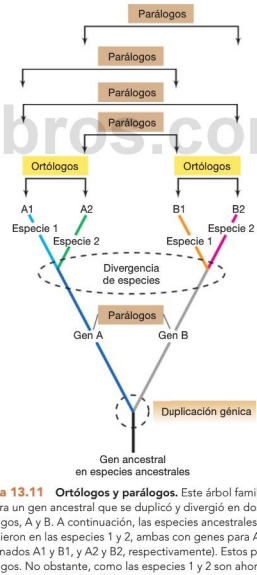


Figura 13.11 Ortólogos y parálogos. Este árbol familiar muestra un gen ancestral que se duplicó y divergió en dos genes parálogos, A y B. A continuación, las especies ancestrales divergieron en las especies 1 y 2, ambas con genes para A y B (designados A1 y B1, y A2 y B2, respectivamente). Estos pares son parálogos. No obstante, como las especies 1 y 2 son ahora especies independientes, A1 es un ortólogo de A2 y B1 es un ortólogo de B2.

LDH. Por lo tanto, las familias génicas contienen tanto parálogos como ortólogos.

Duplicación génica

Está ampliamente extendida la idea de que la duplicación génica es el mecanismo para la evolución de la mayoría de genes nuevos. Si un segmento de DNA duplicado es lo suficientemente largo para incluir un gen completo o un grupo de genes, el organismo con la duplicación contendrá varias copias de esos genes concretos. Después de la duplicación, uno de los duplicados es libre para evolucionar mientras la otra copia sigue aportando a la célula la función original. De este modo, la evolución puede «experimentar» con una copia del gen. Estos eventos de duplicación génica, seguidos de la diversificación de una copia, se consideran los acontecimientos principales que impulsan la evolución microbiana. Los análisis genómicos han puesto de manifiesto numerosos ejemplos de genes que codifican proteínas, claramente derivados de duplicaciones génicas.

Las duplicaciones que se producen en el material genético pueden incluir sólo un puñado de bases o incluso genomas enteros. Por ejemplo, la comparación de los genomas de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y otros hongos sugiere que el ancestro de *Saccharomyces* duplicó su genoma completo. A ello le siguieron deleciones extensas que eliminaron mucho del material genético duplicado. El análisis del genoma de la planta modelo *Arabidopsis* sugiere que hubo una o más duplicaciones del genoma completo en el ancestro de las plantas con flor.

¿Evolucionaron los genomas bacterianos por duplicación de genomas completos? La distribución de genes duplicados y familias génicas en los genomas de las bacterias sugiere que se produjeron duplicaciones muy frecuentes pero relativamente pequeñas. Por ejemplo, entre las *Deltaproteobacterias*, la bacteria del suelo *Myxococcus* tiene un genoma de 9,1 Mbp, que es aproximadamente el doble que los genomas de otras *Deltaproteobacterias* típicas, que van de los 4 a los 5 Mbp. Entre las *Alfaproteobacterias*, el tamaño del genoma varía entre 1,1 y 1,5 Mbp para los miembros parasitarios y 4 Mbp para la bacteria de vida libre *Caulobacter*, y hasta 7-9 Mbp para las bacterias asociadas a las plantas. Sin embargo, en todos estos casos, los análisis de distribución génica apuntan a frecuentes duplicaciones a pequeña escala más que a duplicaciones de genoma completo. Por el contrario, en las bacterias parasitarias, frecuentes deleciones sucesivas han eliminado genes que ya no eran necesarios para un estilo de vida parasitario, lo que conduce a sus genomas inusualmente pequeños (Sección 13.2).

Análisis génicos en diferentes dominios

La comparación de genes y familias génicas es un aspecto muy importante de la genómica comparativa. Como ya se han secuenciado los cromosomas de muchos microorganismos diferentes, las comparaciones son fáciles de hacer, y los resultados son, a menudo, sorprendentes. Por ejemplo, los genes de arqueas implicados en la replicación, transcripción y traducción del DNA son más parecidos a los de eucariotas que a los de bacterias. Sin embargo, contra todo pronóstico, otros muchos genes de *Archaea*, por ejemplo los que codifican funciones metabólicas diferentes del procesamiento de la información, son más similares a los de bacterias que a los de eucariotas. Las potentes herramientas analíticas de la bioinformática permiten deducir muy rápidamente relaciones genéticas entre cualesquiera organismos, a nivel de genes individuales, de grupos de genes o del genoma completo. Los resultados obtenidos hasta el momento no hacen sino confirmar el diseño filogenético de la vida deducido originalmente por análisis de secuencias de RNA ribosómico (Secciones 2.7 y 14.8), a la vez que sugieren que muchos genes en todos los organismos tienen raíces evolutivas comunes. No obstante, estos análisis también han revelado ejemplos de transferencia horizontal, un asunto importante sobre el que vamos a centrar nuestra atención.

13.9 Minirrevisión

La genómica se puede usar para estudiar la historia evolutiva de un organismo. Los organismos contienen familias génicas, genes con secuencias relacionadas. Si estas familias surgieron por duplicación génica, se dice que los genes son parálogos; si surgieron por especiación, se dice que son ortólogos.

- ¿Qué es una familia génica?
- Compare los genes parálogos con los genes ortólogos.

13.10 DNA móvil: transposones y secuencias de inserción

La evolución está basada en la transferencia de rasgos genéticos de una generación a la siguiente. No obstante, entre los procariotas también se da la **transferencia horizontal de genes**, y puede complicar los estudios evolutivos, en especial los que se ocupan de los genomas completos. La transferencia génica horizontal se produce cada vez que los genes son transferidos de una célula a otra de modo diferente al proceso habitual de herencia, de célula madre a célula hija. En procariotas se conocen al menos tres mecanismos de transferencia génica horizontal: *transformación*, *transducción* y *conjugación* (Capítulo 11).

El flujo horizontal de genes puede ser muy extenso en la naturaleza y, en ocasiones, puede traspasar incluso las fronteras filogenéticas. No obstante, para ser detectable por genómica comparativa, la diferencia entre los organismos debe ser bastante grande. Por ejemplo, se han encontrado varios genes de origen eucariótico en *Chlamydia* y *Rickettsia*, dos patógenos humanos. En concreto, se han

hallado dos genes que codifican proteínas similares a la histona H1 en el genoma de *Chlamydia trachomatis*, lo que sugiere transferencia horizontal desde una fuente eucariótica, posiblemente incluso el hospedador humano. Obsérvese que es la situación contraria a la de los genes del ancestro de las mitocondrias, transferidos al núcleo eucariótico (Sección 13.4).

Detección del flujo horizontal de genes

Las transferencias horizontales de genes se pueden detectar en los genomas una vez que se han registrado los genes. La presencia de genes que codifican proteínas típicamente localizadas sólo en especies relacionadas lejanamente es una señal de que los genes se originaron por transferencia horizontal. Sin embargo, otro indicio de transferencia horizontal es la presencia de un fragmento de DNA cuyo contenido en GC o cuya preferencia codónica difieran significativamente del resto del genoma. Con ayuda de estas pistas se han documentado muchos ejemplos de transferencia horizontal probable en los genomas de varios procariotas. Un ejemplo clásico es el que se da en el organismo *Thermotoga maritime*, una especie bacteriana de la que se ha visto que contiene unos 400 genes (más del 20% de su genoma) de origen arqueano. De estos genes, 81 se encontraron en grupos discretos, lo que sugiere que se obtuvieron por transferencia horizontal, probablemente de arqueas termófilas que comparten los ambientes calientes habitados por *Thermotoga*.

Los genes transferidos horizontalmente codifican típicamente funciones metabólicas diferentes de los procesos moleculares centrales de la replicación del DNA, la transcripción y la traducción, y pueden ser importantes para las similitudes previamente mencionadas entre los genes metabólicos entre arqueas y bacterias (Sección 13.9). Además, hay varios ejemplos de genes de virulencia de patógenos que han sido transferidos por transferencia horizontal. Es obvio que los procariotas se intercambian genes en la naturaleza, y este proceso funciona probablemente «afinando» el genoma de un organismo para una situación o un hábitat particular.

Advertencia al flujo horizontal

Es necesario ser cautos al invocar la transferencia horizontal para explicar la distribución de genes. Cuando el genoma humano se secuenció por primera vez, se identificaron unos doscientos genes como producto de la transferencia horizontal desde los procariotas. Sin embargo, cuando se dispuso de más genomas eucarióticos para su estudio, se encontraron homólogos de la mayoría de estos genes en muchos linajes eucarióticos. Por lo tanto, parece ser que la mayoría de estos genes, en realidad, tienen un origen eucariótico. Sólo una docena de genes humanos se aceptan hoy en día como fuertes candidatos a tener orígenes procarióticos relativamente recientes. La expresión «relativamente recientes» se refiere aquí a genes transferidos desde procariotas tras la separación de los principales linajes eucarióticos, no a genes de posible origen procariótico que se comparten entre todos los eucariotas.

13.10 Minirrevisión

Los organismos pueden adquirir genes de otros organismos de su entorno por un proceso llamado transferencia génica horizontal. Esta transferencia puede atravesar las fronteras entre los dominios, Bacteria, Archaea y Eukarya.

- ¿Qué clase de genes se transfiere raramente por vía horizontal? ¿Por qué?
- Enumere los mecanismos principales por los que se produce transferencia horizontal en procariotas?

13.11 Transferencia génica horizontal y estabilidad del genoma

Como se explicó en la Sección 11.16, el DNA móvil son los segmentos de DNA que se mueven de un sitio a otro en las moléculas de DNA hospedador. La mayoría de DNA móvil consiste en elementos transponibles, pero también hay genomas víricos integrados e integrones. Todos estos elementos móviles juegan papeles importantes en la evolución del genoma.

Evolución del genoma y transposones

Los transposones se pueden desplazar entre diferentes moléculas de DNA hospedador, incluyendo cromosomas, plásmidos y virus. Al hacer esto, pueden coger y transferir horizontalmente genes de una gran variedad de características, incluidas la resistencia a antibióticos y la producción de toxinas. No obstante, los transposones también pueden mediar una serie de cambios cromosómicos a gran escala. Las bacterias que están experimentando rápidos cambios evolutivos, a menudo contienen un gran número de elementos móviles, sobre todo secuencias de inserción. La recombinación entre elementos idénticos genera reordenaciones cromosómicas como deleciones, inversiones o translocaciones. Se considera que esto proporciona una fuente de diversidad al genoma sobre la que puede actuar la selección. Así, las reordenaciones cromosómicas que se acumulan en las bacterias durante las condiciones de crecimiento estresantes suelen estar flanqueadas por repeticiones o secuencias de inserción.

Por el contrario, una vez que una especie se establece en un nicho evolutivo estable, aparentemente la mayoría de elementos móviles se pierden. Por ejemplo, los genomas de las especies de *Sulfolobus* (arquea) tienen cantidades inusualmente altas de secuencias de inserción y muestra una alta frecuencia de translocación de genes. Por el contrario, *Pyrococcus (*arquea*)* presenta una ausencia casi total de secuencias de inserción, y un número correspondientemente bajo de translocación de genes. Esto

sugiere que, por alguna razón, quizás a causa de fluctuaciones en las condiciones de sus hábitats, el genoma de *Sulfolobus* es más dinámico que el de *Pyrococcus*.

Secuencias de inserción

Aparentemente, las reordenaciones cromosómicas debidas a las secuencias de inserción han contribuido a la evolución de varios patógenos bacterianos. En *Bordetella, Yersinia* y *Shigella*, las especies más patógenas muestran una frecuencia mucho más alta de secuencias de inserción. Por ejemplo, *Bordetella bronchiseptica* tiene un genoma de 5,34 Mbp y ninguna secuencia de inserción conocida. Su pariente más patógeno, *Bordetella pertussis*, tiene un genoma más pequeño (4,1 Mbp) pero más de 260 secuencias de inserción. La comparación de estos genomas sugiere que las secuencias de inserción son responsables de reordenaciones sustanciales del genoma, incluyendo las deleciones responsables de la reducción en el tamaño del genoma de *B. pertussis*.

Las secuencias de inserción también tienen una función en el ensamblaje de módulos genéticos para generar nuevos plásmidos. Así, el 46% del megaplásmido virulento de 220 kbp de *Shigella flexneri* consiste en DNA de secuencias de inserción. Además de las secuencias de inserción completas, hay muchos fragmentos en este plásmido que implican múltiples reordenaciones ancestrales.

Integrones y superintegrones

Los **integrones** son elementos genéticos que recogen y expresan genes transportados en segmentos móviles de DNA llamados *casetes*. Los casetes de genes adecuados para la integración están formados por una secuencia codificante que carece de promotor, pero contiene un sitio de reconocimiento de integrasa, el sitio *attC*. Los integrones contienen un sitio de integración, el sitio *attI*, en el que se pueden integrar los casetes génicos. El integrón también posee un gen que codifica una **integrasa**, la enzima responsable de la inserción de casetes. La integración se produce por recombinación entre el sitio *attI* y el sitio *attC*. Una vez que se ha insertado un casete génico en un integrón, el gen que contiene se puede expresar a partir de un promotor proporcionado por el integrón.

Ni los integrones ni los casetes génicos son elementos transponibles (no tienen repeticiones invertidas terminales, ni se transponen). No obstante, los casetes génicos pueden existir transitoriamente como DNA circular libre no replicativo incapaz de expresión génica, o se pueden encontrar integrados en el sitio *attI* de un integrón. Por lo tanto, los casetes génicos son una forma de DNA móvil que puede desplazarse de un integrón a otro. La mayoría de integrones se encuentran en plásmidos o en transposones y pueden agrupar múltiples casetes génicos. Se han encontrado algunos integrones en cromosomas bacterianos que pueden agrupar cientos de casetes génicos, en cuyo caso se llaman *superintegrones*. Por ejemplo, el segundo cromosoma de *Vibrio cholerae* (agente causante del cólera) tiene un superintegrón de aproximadamente 200 genes, la mayoría de ellos de función desconocida.

La mayor parte de los integrones conocidos portan genes de resistencia a antibióticos. No obstante, esto es debido, probablemente, a un sesgo en la observación, ya que la resistencia a antibióticos es de importancia clínica. Alrededor de 40 genes diferentes de resistencia a antibióticos se han identificado en los casetes génicos de los integrones, así como algunos genes asociados a la virulencia en determinadas bacterias patógenas. En la **Figura 13.12** se muestra la estructura de dos integrones de *Pseudomonas aeruginosa*, un patógeno potencialmente grave. Se han encontrado integrones en varias especies de bacterias, a menudo en muestras clínicas, y su selección por transferencia horizontal en ambientes ricos en antibióticos como son los hospitales y las clínicas es obvia. Lo que ya resulta menos obvio es el origen de los casetes génicos en sí mismos. No son simplemente genes al azar, ya que deben poseer secuencias específicas de DNA que sean reconocidas por la integrasa; son incapaces de expresarse hasta que pasan a formar parte de un integrón y se pueden transcribir a partir del promotor del integrón.

13.11 Minirrevisión

Los elementos móviles de DNA, incluyendo los transposones, los integrones y los virus, son importantes para la evolución del genoma. A menudo, el DNA móvil contiene genes que codifican resistencia a antibióticos o factores de virulencia. Los integrones son estructuras genéticas que agrupan y expresan genes sin promotor contenidos en casetes génicos.

- ¿Por qué los transposones son especialmente importantes en la evolución de las bacterias patógenas?
- ¿Qué son los integrones y en qué se diferencian de los transposones?

Figura 13.12 Estructura de dos integrones naturales de *Pseudomonas*. El integrón In0 tiene el grupo de genes básicos: *intI1*, integrasa; *attI*, sitio de integración; P, promotor; y *sulI*, un gen que confiere resistencia a la sulfonamida. El integrón In7 contiene todos estos más un casete génico integrado. Todos los casetes contienen un sitio (azul) para la recombinación específica de sitio. Este casete contiene el gen *aadB*, que confiere resistencia a determinados antibióticos aminoglicósidos.

www.medilib.com

13.12 Evolución de la virulencia: islas de patogenia

La comparación de los genomas de las bacterias patógenas con los de sus parientes cercanos inocuos revela a menudo bloques de material genético extra que contienen genes que codifican *factores de virulencia*, proteínas especiales u otras moléculas o estructuras necesarias para causar enfermedades (Sección 28.9).

Algunos genes de virulencia se encuentran en plásmidos o bacteriófagos lisógenos (Sección 10.10). No obstante, muchos otros están agrupados en regiones cromosómicas llamadas **islas de patogenia**. Por ejemplo, la identidad y ubicación en el cromosoma de la mayoría de los genes de las cepas patógenas de *Escherichia coli* corresponden a los de la cepa de laboratorio inocua *E. coli* K-12, como era de esperar. Sin embargo, la mayoría de las cepas patógenas contienen islas de patogenia de tamaño considerable que no se encuentran en *E. coli* K-12 (**Figura 13.13**). En consecuencia, dos cepas de la misma especie bacteriana pueden mostrar diferencias significativas en el tamaño de su genoma. Por ejemplo, como se puede ver en la Tabla 13.1, la cepa enterohemorrágica *E. coli* O157:H7 contiene un 20% más de DNA y genes que la cepa *E. coli* K-12.

Islas cromosómicas

Las islas de patogenia son, simplemente, el caso más conocido de **islas cromosómicas**. Las investigaciones hacen suponer un origen «extraño» para estas islas. En primer lugar, estas regiones extra suelen estar flanqueadas por repeticiones invertidas, lo que implica que la región entera se insertó en el cromosoma por transposición en algún período del pasado evolutivo reciente. En segundo lugar, la composición de bases y el uso codónico de las islas cromosómicas a menudo difiere del resto del genoma. En tercer lugar, las islas cromosómicas se encuentran con frecuencia en algunas cepas de una especie concreta, pero no en otras.

Algunas islas cromosómicas contienen un gen para una integrasa, y se cree que se mueven de forma análoga a los transposones conjugativos (Sección 11.16). Las islas cromosómicas se insertan normalmente en genes para tRNA; no obstante, como el sitio diana se duplica por la inserción, se regenera un tRNA durante el proceso de inserción. En algunos casos se ha demostrado en el laboratorio la transferencia de una isla cromosómica entera entre bacterias relacionadas; La transferencia puede proceder por cualquiera de los mecanismos de transferencia horizontal previamente explicados: transformación, transducción o conjugación. Se piensa que tras la inserción en el genoma de una nueva célula hospedadora, las islas cromosómicas acumulan mutaciones de una forma gradual —tanto mutaciones puntuales como pequeñas deleciones—, de modo que después de muchas generaciones, las islas cromosómicas tenderán a perder su capacidad para desplazarse.

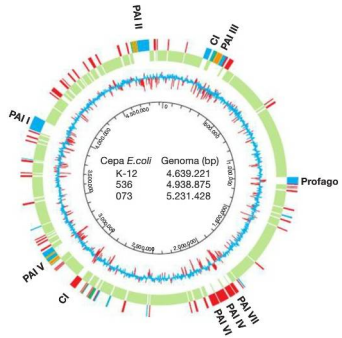


Figura 13.13 Islas de patogenia en *Escherichia coli*. Mapa genético de la cepa de *E. coli* 536, un patógeno del tracto urinario, comparado con una segunda cepa patógena (073) y el tipo salvaje K-12. Las cepas patógenas contienen islas de patogenia, de modo que sus cromosomas son más largos que el de K-12. En el círculo interior se muestran los pares de bases nucleotídicas. En el círculo irregular se indica la distribución de DNA GC; las regiones donde el contenido en GC varía bruscamente respecto a la media del genoma aparecen en rojo. El círculo más exterior muestra la comparación entre los tres genomas: en verde los genes comunes a las tres cepas; en rojo los genes presentes sólo en las cepas patógenas; en azul los genes presentes únicamente en la cepa 536; en naranja los genes de la cepa 536 presentes en otra ubicación en la cepa 073. Algunos insertos muy pequeños se han eliminado para mayor claridad. PAI, islas de patogenia; CI, islas cromosómicas. Profago, DNA de un bacteriófago atemperado. Obsérvese la correlación entre las islas cromosómicas y la variación en el contenido en GC. Datos adaptados de *Proc. Natl. Acad. Sci. (EE..UU.)* 103: 12879-12884 (2006).

Las islas cromosómicas aportan funciones especializadas que no son necesarias para la simple supervivencia. No es de extrañar que las islas de patogenia, con su gran importancia clínica, hayan suscitado el máximo interés. Además, se sabe que las islas cromosómicas también contienen genes para la biodegradación de algunos sustratos derivados de la actividad humana, como los hidrocarburos aromáticos y los herbicidas. También, muchos de los genes esenciales para la relación simbiótica de *Rhizobium* con las plantas en los nódulos radiculares (Sección 24.15) están en las islas de simbiosis insertas en el genoma de estas bacterias. Quizás la isla cromosómica más exclusiva sea la isla del magnetosoma de las bacterias *Magnetospirillum*; este fragmento de DNA contiene los genes necesarios para la formación de magnetosomas, partículas magnéticas intracelulares utilizadas para

orientar al organismo en un campo magnético e influir en la dirección de su motilidad (Secciones4.10 y 15.14).

La presencia o ausencia de islas cromosómicas, elementos transponibles, genomas víricos integrados y plásmidos significa que puede haber grandes diferencias en la cantidad total de DNA y en la batería de capacidades (virulencia, simbiosis, degradación) entre cepas de una especie bacteriana determinada. Esto ha conducido a la idea de que el genoma de una especie bacteriana está formado por dos componentes, el *genoma fundamental* y el *pangenoma*. El genoma fundamental es compartido por todas las cepas de la especie, mientras el pangenoma incluye todos los extras opcionales presentes en algunas, pero no en todas las cepas de la especie (**Figura 13.14**). En otras palabras, se podría decir que el genoma fundamental es típico de la especie en su conjunto mientras que en el pangenoma se incluyen también los elementos que son exclusivos de cada una de las cepas, porque es el genoma global.

13.12 Minirrevisión

Muchas bacterias contienen insertos cromosómicos relativamente grandes de origen exterior conocidos como islas cromosómicas. Estas islas contienen grupos de genes para funciones especializadas como la biodegradación, la simbiosis o la patogenia.

- ¿Qué es una isla cromosómica?
- ¿Por qué se cree que las islas cromosómicas tienen un origen exterior?

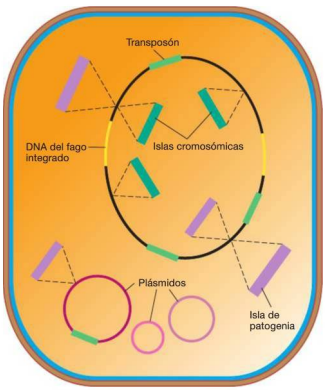


Figura 13.14 Pangenoma frente a genoma fundamental. El genoma fundamental está representado por las regiones de color negro del cromosoma, y está presente en todas las cepas de una especie. El pangenoma incluye elementos que están presentes en una o más cepas, pero no en todas. Cada cuña coloreada representa una sola inserción. Cuando dos cuñas salen del mismo punto, representan islas alternativas que se pueden insertar en ese punto. No obstante, sólo una inserción puede estar presente en una ubicación determinada.

IV GENÓMICA AMBIENTAL

Las comunidades microbianas contienen muchas especies de bacterias y de arqueas, la mayoría de las cuales nunca han sido cultivadas o identificadas formalmente. La **genómica ambiental**, también llamada *metagenómica*, se ocupa de los análisis de DNA recogido de una muestra ambiental sin haber aislado o identificado primero los organismos individuales (Sección 22.6). Los análisis de genómica ambiental han aportado valiosa información sobre la diversidad microbiana y los recursos genéticos totales de las comunidades microbianas.

13.13 Detección de microorganismos no cultivados

La mayoría de los microorganismos presentes en la naturaleza nunca han sido cultivados en el laboratorio (Secciones 22.5 y 22.6). Sin embargo, es posible obtener información sobre los organismos y sus actividades llevando a cabo análisis de DNA o RNA directamente extraído del ambiente. Al igual que el contenido génico total de un organismo es su genoma, el contenido génico total de los organismos que habitan un ambiente se conoce como **metagenoma**.

Se han investigado varios ambientes mediante proyectos de secuenciación del metagenoma a gran escala. Los ambientes extremos, como las aguas ácidas de escorrentía de las minas tienden a tener una diversidad limitada de especies. En estos ambientes ha sido posible aislar DNA comunitario y ensamblar mucho de éste en genomas prácticamente completos. Por el contrario los ambientes complejos, como los suelos fértiles, ofrecen demasiados datos de secuencia para permitir un ensamblaje satisfactorio en estos momentos.

Además de los análisis del metagenoma, las micromatrices (Sección 13.6) se han utilizado para explorar los patrones de la expresión génica en comunidades microbianas naturales. Estas técnicas han dotado a los microbiólogos de medios para poder preguntarse nuevas y complejas cuestiones sobre la estructura y el funcionamiento de las comunidades microbianas y medir las contribuciones de miembros específicos de una comunidad microbiana al funcionamiento global del ecosistema.

Un curioso descubrimiento reciente es que la mayoría del DNA en los hábitats naturales no pertenece a células vivas. En primer lugar, entre el 50% y el 60% del DNA de los océanos es DNA extracelular encontrado en los sedimentos del fondo marino, depositado allí cuando los organismos muertos de las capas superiores del océano se hunden hacia el fondo y se desintegran. Como los ácidos nucleicos son depósitos de fosfato, este DNA es un contribuyente fundamental al ciclo global del fósforo. En segundo lugar, como explicaremos en la siguiente sección, las partículas víricas superan en número a las células vivas en la mayoría de los ambientes.

13.13 Minirrevisión

La mayoría de microorganismos presentes en el ambiente nunca han sido cultivados. Sin embargo, el análisis de muestras de DNA ha puesto de manifiesto una diversidad de secuencia colosal en la mayoría de los hábitats. El concepto de metagenoma abarca el contenido genético total de los organismos de un hábitat concreto.

- ¿Qué es un metagenoma?
- ¿Cómo se analiza el metagenoma?

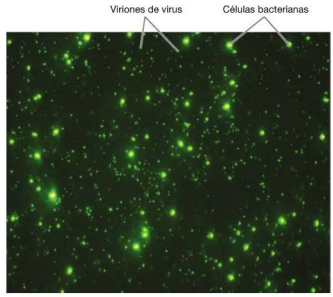


Figura 13.15 Virus y bacterias en el agua marina. Una fotomicrografía de epifluorescencia del agua marina teñida con el colorante SYBR Green pone de manifiesto las células procariotas y los virus. Aunque los virus son demasiado pequeños para verse al microscopio óptico, la fluorescencia de un virus teñido es visible.

www.medilibros.com

13.14 Genomas víricos en la naturaleza

El número de células procariotas en la Tierra es mucho mayor que el de células eucariotas; las estimaciones de la cantidad total de células procariotas son del orden de 10^{30}. No obstante, el número de virus en la Tierra aún es más grande —se estima en 10^{31}—. Las mejores estimaciones de la cantidad de células y de virus en el ambiente proceden de los análisis del agua del mar, ya que es mucho más fácil de analizar que el suelo o los sedimentos.

Metagenómica vírica

Existen millones de bacterias, y aproximadamente diez veces más de virus, presentes en cada mililitro de agua marina (**Figura 13.15**). No es de extrañar que la mayoría de estos virus sean bacteriófagos, y estas poblaciones se recambien con rapidez. Se ha calculado que cada día mueren entre un 5 y un 50% de las bacterias del mar por la acción de los bacteriófagos, y la mayoría del resto son devoradas por los protozoos.

En términos generales, se cree que la mayoría de la diversidad genética en la Tierra reside en los virus, especialmente en los bacteriófagos. Como analizamos en el Capítulo 10, muchos bacteriófagos pueden integrarse en el genoma de sus hospedadores bacterianos y pueden transferir genes bacterianos de una bacteria a otra. Por lo tanto, los virus tienen una influencia masiva en la evolución bacteriana, en parte por seleccionar diariamente las grandes poblaciones bacterianas, y en parte por catalizar la transferencia génica horizontal.

El *metagenoma vírico* es la suma de todos los genes víricos en un ambiente concreto. Se han llevado a cabo varios estudios metagenómicos en virus, y los resultados muestran invariablemente que existe una diversidad inmensa de virus sobre la Tierra. Por ejemplo, aproximadamente el 75% de las secuencias génicas encontradas en los estudios metagenómicos en virus no muestran semejanzas con ninguno de los genes presentes en las bases de datos víricas ni celulares. Si queremos comparar, las investigaciones con los metagenomas bacterianos revelan aproximadamente un 10% de genes desconocidos. Así, la mayoría de virus están esperando a ser descubiertos y la mayoría de genes víricos tienen funciones desconocidas.

13.14 Minirrevisión

Los virus son diez veces más numerosos que las células en la mayoría de los hábitats. En consecuencia, la mayor parte de la información genética global está contenida en los genomas víricos. La mayoría de los genes víricos están aún sin caracterizar, y muchos de ellos son diferentes de los encontrados en células de cualquiera de los dominios de la vida.

- ¿Cómo afectan los virus a la evolución de los genomas bacterianos?

Glosario de términos

Bioinformática: uso de herramientas informáticas para adquirir, analizar, almacenar y acceder a las secuencias de DNA y de proteínas.

Edición del RNA: cambios en la secuencia codificante de una molécula de RNA por alteración, adición o eliminación de bases.

Familia génica: genes cuyas secuencias están relacionadas entre sí como consecuencia de un origen evolutivo común.

Genoma: complemento total de información genética de una célula o un virus.

Genómica: disciplina que mapea, secuencia, analiza y compara genomas.

Genómica ambiental: análisis genómicos de DNA recogido de una muestra ambiental sin aislar previamente o identificar los organismos individuales.

Homólogo: relacionado en cuanto a secuencia en un grado que implica la presencia de un ancestro genético común; incluye a los ortólogos y a los parálogos.

Integrasa: enzima que inserta los casetes de genes en un integrón.

Integrón: elemento genético que acumula y expresa genes contenidos en los casetes.

Isla cromosómica: región del cromosoma bacteriano de origen externo que contiene genes agrupados para alguna propiedad extra como la virulencia o la simbiosis.

Isla de patogenia: región del cromosoma bacteriano de origen externo que contiene genes agrupados para virulencia.

Megapar de bases (Mpb): un millón de pares de bases.

Metaboloma: conjunto total de pequeñas moléculas e intermediarios metabólicos de una célula o de un organismo.

Metagenoma: conjunto genético total de todas las células presentes en un ambiente concreto.

Micromatriz: pequeño soporte en estado sólido al que se fijan genes o porciones de genes y se disponen espacialmente siguiendo un patrón conocido (también llamado chip génico o *microarray*).

Ortólogo: gen encontrado en un organismo que es similar al de otro organismo pero difiere a causa de la especiación (*véase* también parálogo).

Parálogo: gen cuya similitud con uno o más genes del mismo organismo es el resultado de la duplicación génica (*véase* también ortólogo).

Proteoma: conjunto total de proteínas codificadas por un genoma, o conjunto proteico total de un organismo.

Proteómica: estudio a través de todo el genoma de la estructura, función y regulación de las proteínas de un organismo.

Transcriptoma: complemento de mRNA producido por un organismo en unas condiciones específicas.

Transferencia horizontal de genes: transferencia de información genética entre organismos opuesta a la herencia vertical a partir de los organismos progenitores.

Transferencia lateral de genes: sinónimo de transferencia horizontal de genes.

Preguntas de repaso

1. ¿Cuál es la relación entre el tamaño del genoma y el contenido en ORF de los genomas procarióticos (Sección 13.2)?
2. Como proporción del genoma total, ¿qué clase de genes predomina en los organismos de genoma pequeño? ¿Y en los organismos de genoma grande (Sección 13.3)?
3. ¿Qué genomas son más grandes, los de los cloroplastos o los de las mitocondrias? Describa una característica inusual del genoma de un cloroplasto y del de una mitocondria (Sección 13.4).
4. ¿Cuánto más grande es nuestro genoma que el de la levadura (Sección 13.5)?
5. En bacterias y en aequeas, el acrónimo ORF es casi un sinónimo de la palabra «gen». Sin embargo, en eucariotas, esto no es cierto, estrictamente hablando. Explique por qué (Sección 13.5).
6. Distinga entre los términos *genoma*, *proteoma* y *transcriptoma* (Secciones 13.6 y 13.7).
7. ¿Por qué es ambiguo el término *proteoma* (Sección 13.7)?
8. ¿Qué muestra un gel de proteínas en 2D? ¿Cómo se pueden relacionar los resultados de dicho gel con la función de las proteínas (Sección 13.7)?
9. ¿Por qué la investigación del metaboloma está retrasada respecto a la del proteoma (Sección 13.8)?
10. ¿Cuál es la diferencia principal en la contribución de las duplicaciones a la evolución en los genomas eucarióticos y en los eucarióticos (Sección 13.9)?
11. Explique cómo se pueden detectar los genes transferidos horizontalmente en un genoma (Sección 13.11).
12. Explique cómo se esperaría que se movieran las islas genómicas entre diferentes hospedadores bacterianos (Sección 13.12).
13. ¿Cómo se puede medir la expresión génica en bacterias sin cultivar (Sección 13.13)?
14. La mayoría de la información genética en nuestro planeta no pertenece a los organismos celulares. Explique esta afirmación (Sección 13.14).

www.elsolucionario.com

Ejercicios prácticos

1. Aunque se ha publicado la secuencia del genoma nuclear de levadura, en realidad la secuencia entera nunca se ha determinado completamente. Describa las dificultades prácticas que se encontraron durante la secuenciación.
2. Describa cómo se podría determinar qué proteínas de *Escherichia coli* se reprimen cuando un cultivo se traslada de un medio mínimo (que contiene sólo una fuente de carbono) a un medio rico con gran cantidad de aminoácidos, bases y vitaminas. Describa cómo se podría estudiar qué genes se expresan en cada una de estas condiciones de crecimiento.
3. El gen que codifica la subunidad beta de la RNA-polimerasa de *Escherichia coli* se considera ortólogo del gen *rpoB* de *Bacillus subtilis*. ¿Qué nos dice esto sobre la relación entre los dos genes? ¿Qué proteína se supone que codifica el gen *rpoB* de *Bacillus subtilis*? Los genes de los diferentes factores sigma de *Escherichia coli* son parálogos. ¿Qué significa esto en cuanto a la relación entre los genes?

www.medilibros.com

14

Evolución y sistemática microbiana

I LA TIERRA PRIMITIVA Y EL ORIGEN Y DIVERSIFICACIÓN DE LA VIDA 406

14.1 Formación e historia primitiva de la Tierra **406**

14.2 Origen de la vida celular **408**

14.3 Diversificación microbiana: consecuencias para la biosfera terrestre **412**

14.4 Origen endosimbiótico de los eucariotas **413**

II EVOLUCIÓN MICROBIANA 416

14.5 El proceso evolutivo **416**

14.6 Análisis evolutivo: aspectos teóricos **417**

14.7 Análisis Evolutivo: métodos analíticos **419**

14.8 Filogenia microbiana **421**

14.9 Aplicaciones de los métodos filogenéticos basados en el SSU rRNA **423**

III SISTEMÁTICA MICROBIANA 426

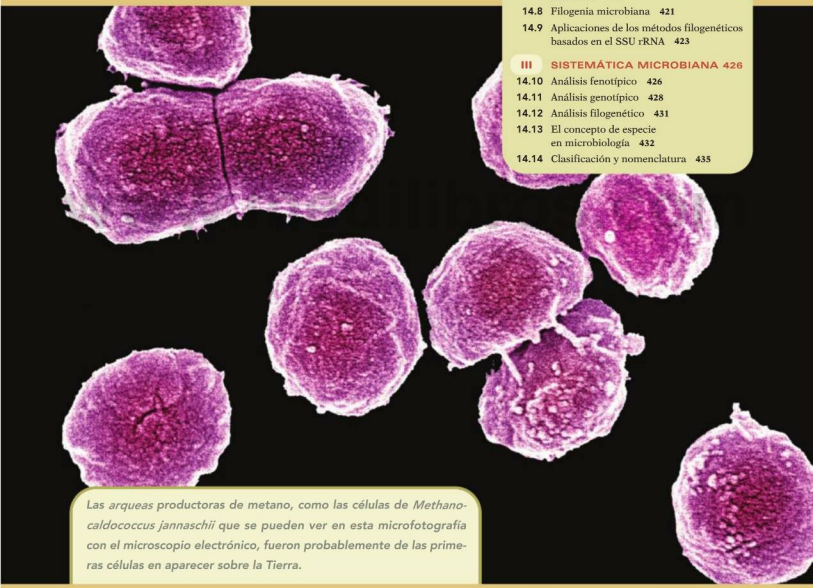
14.10 Análisis fenotípico **426**

14.11 Análisis genotípico **428**

14.12 Análisis filogenético **431**

14.13 El concepto de especie en microbiología **432**

14.14 Clasificación y nomenclatura **435**



Las arqueas productoras de metano, como las células de Methanocaldococcus jannaschii que se pueden ver en esta microfotografía con el microscopio electrónico, fueron probablemente de las primeras células en aparecer sobre la Tierra.

I LA TIERRA PRIMITIVA Y EL ORIGEN Y DIVERSIFICACIÓN DE LA VIDA

Un tema que unifica toda la biología es la **evolución**, cambios en la secuencia de DNA y la herencia de dichos cambios, a menudo bajo la presión selectiva de un entorno cambiante. Desde el momento de su origen hace aproximadamente 4.500 millones de años, la Tierra ha sufrido un proceso de continuos cambios físicos y geológicos. Dichos cambios crearon las condiciones que dieron lugar al origen de la vida hace aproximadamente 4.000 millones de años, y desde ese momento hasta el presente han proporcionado a los organismos vivos nuevas oportunidades y desafíos. De modo recíproco, y conforme el metabolismo y fisiología microbianas evolucionaron para soportar y aprovecharse de dichos cambios, los microorganismos han modificado continuamente la biosfera terrestre. Este capítulo se centra en la evolución de los microorganismos, desde los orígenes de las primeras células y la diversificación metabólica microbiana, hasta el origen de los eucariotas. También se discutirán los métodos utilizados para discernir las relaciones evolutivas entre los descendientes actuales de los linajes microbianos originarios, así como el moderno concepto de especie microbiana. El objetivo de este capítulo es proporcionar una base evolutiva y sistemática para el análisis de la diversidad microbiana que llevaremos a cabo durante los siguientes cuatro capítulos.

14.1 Formación e historia primitiva de la Tierra

En los primeros apartados discutiremos las condiciones más probables en las que surgió la vida, los procesos que podrían haber generado la primera célula, su diversificación en dos líneas evolutivas, ***bacterias*** y ***arqueas***, y el desarrollo posterior por endosimbiosis de una tercera línea evolutiva, los ***eucariotas***. Si bien la mayoría de estos procesos siguen siendo resultado de la especulación, los datos geológicos y moleculares están proporcionando una visión cada vez más clara sobre cómo la vida pudo surgir y diversificarse.

El origen de la Tierra

Se cree que la Tierra se formó hace aproximadamente 4.500 millones de años, según los datos obtenidos analizando la desintegración de isótopos radiactivos. Nuestro planeta, como el resto de planetas de nuestro sistema solar, se creó a partir de los materiales que componían una nube de polvo y gases generada por la supernova de una enorme estrella. Conforme nuestro Sol, la nueva estrella formada dentro de dicha nebulosa, empezó a comprimirse, comenzó un proceso de fusión nuclear generando una enorme cantidad de calor y luz. Los materiales restantes de la nebulosa empezaron a agruparse y fusionarse como consecuencia de colisiones y la energía gravitacional, dando lugar a agregados cada vez mayores que finalmente formaron los planetas. La energía liberada durante este proceso calentó la Tierra en formación, a lo que colaboró la desintegración radiactiva de los materiales en condensación, transformando la Tierra en un planeta de magma tremendamente caliente. El enfriamiento progresivo de la Tierra dio lugar al núcleo metálico, el manto rocoso y a la fina corteza terrestre de baja densidad.

Las violentas e inhabitables condiciones de la Tierra primigenia, caracterizadas por una superficie fundida bajo el intenso bombardeo de meteoritos procedente del espacio, se mantuvieron durante más de 500 millones de años. El agua en la Tierra se originó como consecuencia de las innumerables colisiones con cometas y asteroides helados, así como de los gases volcánicos procedentes del interior del planeta. En esta etapa y a consecuencia de las altas temperaturas el agua estaría presente en forma de vapor. Todavía no se han descubierto rocas que daten de los orígenes de nuestro planeta, posiblemente porque hayan sufrido metamorfosis geológica. Se han encontrado rocas sedimentarias muy antiguas, que se forman bajo agua en estado líquido, en múltiples lugares de la Tierra. Algunas de las rocas sedimentarias más antiguas descubiertas hasta el momento se encuentran en el complejo Itsaq Gneiss (*Itsaq Gneiss Complex*), en el suroeste de Groenlandia, y su edad se ha estimado en aproximadamente 3.860 millones de años. La naturaleza sedimentaria de estas rocas demuestra que para ese momento la Tierra se habría enfriado lo suficiente para que el vapor de agua se hubiera condensado, formando los primeros océanos.

Se han descubierto materiales todavía más antiguos, como cristales del mineral zirconio, que nos dan una idea de las condiciones de la Tierra en períodos aún más tempranos. Las impurezas atrapadas en dichos cristales junto a sus proporciones relativas de isótopos de oxígeno (Sección 22.8) demuestran que la Tierra se enfrió mucho antes de lo que se había estimado previamente, calculándose la formación de la corteza terrestre y la condensación del vapor de agua para formar océanos hace aproximadamente 4.400 a 4.300 millones de años. La existencia de agua en estado líquido implica que las condiciones ambientales debieron ser compatibles con el desarrollo de la vida unos pocos cientos de millones de años después de la formación de nuestro planeta.

Pruebas de vida microbiana en la Tierra primigenia

Los restos fosilizados de células, junto a la abundancia relativa de isótopos ligeros de carbono, encontrados en estas rocas (discutiremos el uso de análisis de isótopos de carbono y azufre como indicativos de procesos biológicos en la Sección 22.8) suministran pruebas de la primera vida microbiana. Algunas rocas antiquísimas contie-

nen lo que parecen ser microfósiles con aspecto de bacteria, habitualmente bacilos o cocos (**Figura 14.1**).

En rocas de hasta 3.500 millones de años son abundantes las formaciones microbianas denominadas estromatolitos. Los **estromatolitos** son masas microbianas fosilizadas compuestas por capas de procariotas filamentosos y sedimentos asociados (**Figura 14.2**); discutiremos algunas características de las películas microbianas en la Sección 22.7. ¿Qué tipo de organismos eran estas antiguas bacterias estromatolíticas? Al comparar estromatolitos fósiles con estromatolitos actuales que crecen en fondos marinos someros (**Figura 14.2*c*** y ***e***) o en fuentes termales (**Figura 14.2*d***; **Figura 22.19*b***), se ha concluido que los estromatolitos originarios estaban formados por bacterias filamentosas protótrofas, quizás relacionadas con *Chloroflexus*, una bacteria verde no del azufre. Pese a que la naturaleza microbiana de los más antiguos de estos fósiles es motivo de debate, nos dan una estimación de que la vida, en forma de microorganismos unicelulares, era ya abundante hace 3.500 millones de años.

La **Figura 14.3** muestra microfotografías de secciones delgadas de rocas más recientes que contienen estructuras parecidas a células muy semejantes a las de bacterias filamentosas y algas verdes modernas (Sección 18.21). En los estromatolitos más antiguos estos organismos eran probablemente bacterias protótrofas anoxigénicas (no productoras de oxígeno) más que las cianobacterias productoras de oxígeno que predominan en los estromatolitos actuales (**Figura 14.2*c*,*e***). En resumen, parece probable que tanto las bacterias como las arqueas habrían desarrollado una impresionante diversidad metabólica y morfológica desde los primeros momentos de la historia de la Tierra.

Figura 14.1 **Vida microbiana primitiva**. Micrografía electrónica de microfósiles de bacterias de rocas de 3.450 millones de años de antigüedad procedentes de Barberton Greenstone Belt, South Africa. Observe las bacterias tipo bacilo (flecha) unidas a partículas minerales. Las células miden unos 0,7 micrómetros de diámetro.

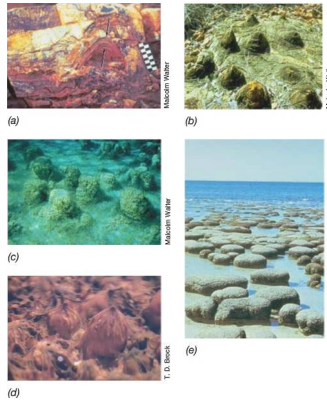


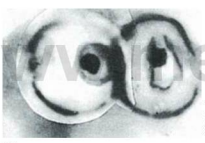
Figura 14.2 **Estromatolitos primitivos y actuales**. *(a)* El estromatolito más antiguo conocido se encontró en una roca de unos 3.500 millones de años de antigüedad, procedente de Warrawoona Group en el oeste australiano. Se muestra una sección vertical cortada a través de la estructura laminar preservada en la roca. Las flechas señalan las capas laminares. *(b)* Estromatolitos cónicos de una dolomita de 1.600 millones de años de antigüedad procedente de la cuenca McArthur en el territorio norte de Australia. *(c)* Estromatolitos modernos en una bahía cálida, Shark Bay, en el oeste de Australia. *(d)* Estromatolitos modernos compuestos por cianobacterias termófilas creciendo en un manantial termal en el parque nacional de Yellowstone. Cada estructura tiene unos 2 cm de altura. *(e)* Otra imagen de estromatolitos modernos de gran tamaño en Shark Bay. Las estructuras individuales tienen entre 0,5-1 metro de diámetro.

14.1 Minirrevisión

El planeta Tierra tiene aproximadamente 4.500 millones de años. Las primeras pruebas de vida microbiana se han encontrado en rocas de 3.860 millones de años. En rocas de 3.500 millones de años o más recientes las formaciones microbianas denominadas estromatolitos son abundantes.

- ¿Por qué no se han encontrado rocas formadas en los orígenes de la formación de la Tierra?
- ¿Qué nos enseñan los cristales del mineral zirconio acerca del momento de formación de los primeros océanos?
- ¿Qué nos sugiere acerca del origen de la vida en la Tierra la posible presencia de agua en estado líquido hace 4.300 o 4.400 millones de años?

(a)



(b)

Figura 14.3 Fósiles más recientes de bacterias y eucariotas. Las dos fotografías en *(a)* muestran bacterias fósiles procedentes de la Bitter Springs Formation, una formación rocosa en el centro de Australia de aproximadamente 1.000 millones de años de antigüedad. Estas formas presentan un enorme parecido a las modernas cianobacterias filamentosas, fotótrofos anoxigénicos o quimiolitótrofos del azufre filamentosos (Capítulos 15 y 16). Diámetros celulares de 5-7 micrómetros. *(b)* Microfósiles de células eucarióticas de la misma formación rocosa. La estructura celular es notablemente parecida a la de ciertas algas verdes modernas, como la especie *Chlorella*. Diámetros celulares de unos 15 micrómetros.

14.2 Origen de la vida celular

En este apartado examinaremos algunos de los posibles procesos por los que la vida podría haberse originado, desarrollándose a partir de materiales abióticos hasta formar células con capacidad de autorreplicarse. Como toda vida es celular, desde los organismos unicelulares a los animales y plantas pluricelulares, nos centraremos en las siguientes preguntas: ¿Cómo podrían haber surgido las primeras células? ¿Cómo serían las células primigenias?

Hipótesis del origen en superficie

Una de las hipótesis sobre el origen de la vida sostiene que las primeras células autorreplicativas y rodeadas de membrana surgieron de un «charco caliente», una sopa primordial rica en compuestos orgánicos e inorgánicos. Aunque existen pruebas experimentales que demuestran que los precursores orgánicos de las células pueden formarse espontáneamente en ciertas condiciones, actualmente se supone que el entorno en la superficie de la Tierra primigenia resultaba hostil tanto a la vida como a sus precursores orgánicos e inorgánicos. Las tremendas fluctuaciones de temperatura y la mezcla de materiales resultado de los impactos de meteoritos, nubes de polvo y tormentas, junto a la atmósfera intensamente oxidante hacen poco probable localizar el origen de la vida en la superficie de la Tierra.

Hipótesis del origen bajo la superficie

Una hipótesis alternativa considera que la vida se originó en chimeneas hidrotermales en el fondo de los océanos, muy por debajo de la superficie terrestre, en las cuales las condiciones habrían sido mucho más estables y menos hostiles. Un suministro de energía constante y abundante habría estado disponible en estas fuentes hidrotermales, en forma de compuestos inorgánicos reducidos tales como H_2 y H_2S (**Figura 14.4**).

Cuando el flujo de agua hidrotermal caliente (90-100 °C) y alcalina hubiera atravesado la corteza terrestre se mezclaría con el agua oceánica más fría, ligeramente ácida, rica en hierro y con mayor grado de oxidación, lo que daría como resultado la formación de precipitados de pirita coloidal (FeS), silicatos, carbonatos y arcilla montmorillonita rica en magnesio. Estos precipitados se habrían acumulado para formar montículos estructurados de superficie gelatinosa y absorbente, con cavidades porosas semipermeables (**Figura 14.5**). Estas superficies y poros serían ricos en minerales como sulfatos de Fe y Ni, que catalizarían la formación de aminoácidos, péptidos sencillos, azúcares y bases nitrogenadas, acumulando y concentrando dichos compuestos. Utilizando fosfatos procedentes del agua marina, se formarían nucleótidos como AMP y ATP, cuya polimerización para formar RNA habría sido catalizada por la montmorillonita, con capacidad demostrada para catalizar diversas reacciones químicas. El flujo de compuestos inorgánicos reducidos desde la corteza habría provisto una fuente constante de electrones para esta química prebiótica, alimentada a su vez por dióxido de carbono, fosfato, hierro y otros minerales procedentes del agua marina. La energía necesaria habría sido provista por los gradientes redox y de pH desarrollados a través de las superficies semipermeables de FeS, procurando una fuerza protón motriz prebiótica (Sección 5.12).

Un mundo de RNA y síntesis de proteínas

La síntesis y concentración de compuestos orgánicos a través de esta química prebiótica sentó las bases de los

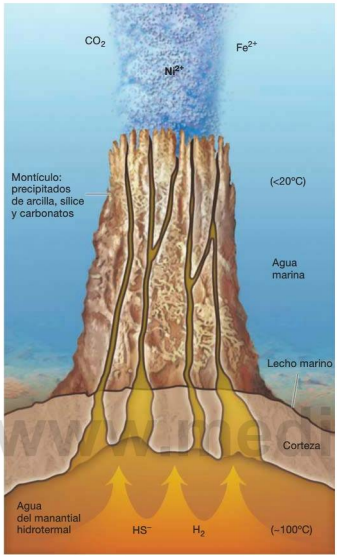


Figura 14.4 Montículos submarinos formados en fuentes hidrotermales en el océano de la Tierra primigenia. El fluido hidrotermal caliente, alcalino y reducido se mezcla con el agua oceánica más fría, ácida y oxidada, formando precipitados. El montículo está formado por precipitados de compuestos de Fe y S, arcillas, silicatos y carbonatos. La reacción entre el H_2 y el Co_2 actuando como un primitivo metabolismo prebiótico podría haber llevado a la generación de compuestos orgánicos.

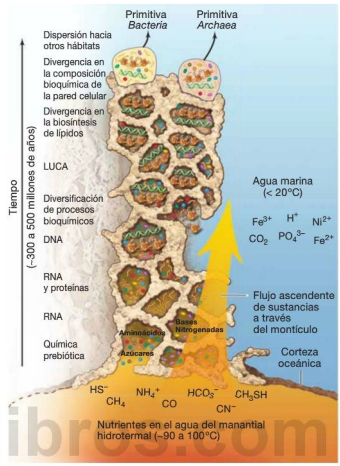


Figura 14.5 Modelo para el origen de la vida celular y su divergencia en las primitivas bacterias y arqueas. Se muestra una porción del montículo submarino de la Figura 14.4. Se ilustran las transiciones desde una química prebiótica hasta la vida celular. Elementos esenciales del modelo son el RNA autorreplicativo, la actividad enzimática de las proteínas y el DNA adquiriendo la función de codificar la información genética para llegar a la vida celular primitiva. A esto le sigue la evolución de las rutas bioquímicas y la divergencia en biosíntesis de lípidos y bioquímica de la pared celular para dar lugar a las bacterias y arqueas primitivas. LUCA (de Last Universal Common Ancestor), es el último de los ancestros comunes universales.

sistemas capaces de autorreplicarse, precursores de la vida celular. ¿Cómo podrían haber surgido los sistemas autorreplicativos? Una posibilidad es la aparición de un mundo originario de RNA, en el cual los primeros sistemas autorreplicativos fueran moléculas de RNA (**Figura 14.5**). Aunque frágil, el RNA podría haber sobrevivido a las bajas temperaturas de los precipitados gelatinosos formados en las fuentes del fondo del océano. El RNA puede unirse a pequeñas moléculas como ATP y otros nucleótidos y tiene actividad catalítica (ribozimas, Sección 8.8), de modo que podría haber catalizado su propia síntesis a partir de los azúcares, bases y fosfatos disponibles.

El RNA también puede unirse a otras moléculas como los aminoácidos, catalizando de ese modo la síntesis de las proteínas primitivas. Conforme se formaran las diferentes proteínas y se fueran acumulando en la Tierra primigenia podrían haber tapizado la superficie interna de los cúmulos estructurados de FeS, tomando para sí algunas de las funciones de su membrana semipermeable. Posteriormente, y conforme surgieran nuevas proteínas, éstas habrían sustituido la actividad catalítica desarrollada por el RNA (**Figura 14.5**). En algún momento debió surgir el DNA, que siendo más estable que el RNA y por tanto un soporte más eficiente para mantener la información genética codificante, asumió el papel de molde para la síntesis de RNA. Este sistema tripartito —DNA, RNA y

www.elibro.com

proteína— quedó establecido muy pronto en la evolución celular como la mejor solución para procesar la información biológica (**Figura 14.5**). Siguiendo estos pasos se puede vislumbrar un período de extensa innovación y experimentación bioquímica, durante el cual se desarrolló y refinó bajo la selección natural gran parte de la maquinaria estructural y funcional de los sistemas autorreplicativos originarios.

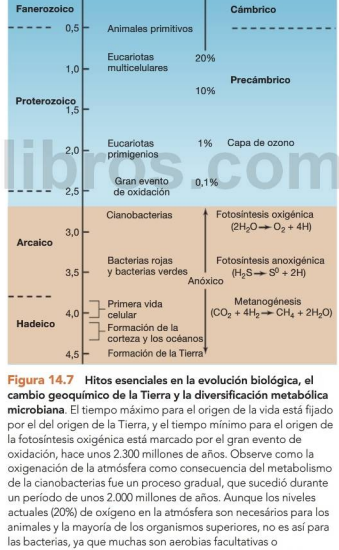
Membranas lipídicas y vida celular

Otros pasos importantes en el desarrollo de vida celular fueron la aparición de los lípidos y la síntesis de vesículas de membrana fosfolipídica que envuelven la maquinaria bioquímica y de replicación celular. Proteínas intercaladas entre los lípidos habrían mantenido las vesículas en un estado semipermeable, transportando nutrientes y residuos a través de la membrana lipídica, sentando las bases para la evolución de procesos de mantenimiento de energía y síntesis de ATP. Estas vesículas lipoproteicas, quizás parecidas a las vesículas formadas por la montmorillonita (**Figura 14.6**), podrían haber constituido las primeras células con capacidad de autorreplicarse al atrapar en su interior DNA y RNA, ganando de este modo una cierta independencia de los cúmulos estructurados de precipitados de FeS que habían facilitado su aparición.

A partir de esta población de células primigenias, que se pueden considerar el último de los ancestros comunes universales (LUCA o *Last Universal Common Ancestor*), la vida celular ha desarrollado por evolución diferencias en la síntesis de lípidos y en la bioquímica de la pared celular, divergiendo en los ancestros de las actuales bacterias y arqueas (**Figura 14.5**). Una muestra de dicha divergencia temprana se puede observar en la estereoquímica de la base glicerol-fosfato de los fosfolípidos. Mientras que en bacterias los fosfolípidos contienen glicerol-3-fosfato, en arqueas contienen glicerol-1-fosfato, y las enzimas implicadas en la síntesis de estos distintos glicerol-fosfatos parece haber surgido independientemente en las bacterias y arqueas ancestrales.

Metabolismo primigenio

Desde el momento de su formación tanto el océano como el resto de la Tierra primigenia eran anóxicos. El oxígeno molecular no apareció en cantidades significativas hasta mucho más tarde, tras la evolución de la fotosíntesis oxigénica por las cianobacterias (**Figura 14.7**). Por tanto, el metabolismo para la generación de energía de las células



www.elibros.com

Figura 14.6 Vesículas lipídicas creadas en el laboratorio a partir del ácido mirístico y RNA. La vesícula en sí está teñida en verde, y el RNA en el interior de la vesícula está teñido en rojo. La síntesis de vesículas está catalizada por las superficies de partículas de la arcilla montmorillonita.

Figura 14.7 Hitos esenciales en la evolución biológica, el cambio geoquímico de la Tierra y la diversificación metabólica microbiana. El tiempo máximo para el origen de la vida está fijado por el del origen de la Tierra, y el tiempo mínimo para el origen de la fotosíntesis oxigénica está marcado por el gran evento de oxidación, hace unos 2.300 millones de años. Observe como la oxigenación de la atmósfera como consecuencia del metabolismo de la cianobacterias fue un proceso gradual, que sucedió durante un período de unos 2.000 millones de años. Aunque los niveles actuales (20%) de oxígeno en la atmósfera son necesários para los animales y la mayoría de los organismos superiores, no es así para las bacterias, ya que muchas son aerobias facultativas o microaerófilas (Sección 6.17 y Tabla 6.4). Por tanto las bacterias respirando a niveles reducidos de O_2 podrían haber dominado la Tierra durante un período de más o menos mil millones de años hasta que la atmósfera terrestre alcanzara los niveles actuales de oxígeno. Compare esta figura con la introducción a la antigüedad de la vida en la Tierra que se muestra en la Figura 1.6.

primitivas debe de haber sido exclusivamente anaeróbico. Es probable que también fuera autótrofo, ya que el consumo de compuestos orgánicos de origen abiótico como fuentes de carbono para la formación de material celular habría probablemente agotado dichos compuestos de un modo relativamente rápido. La posibilidad de que la autotrofía fuese la fisiología predominante en etapas primigenias está respaldada por el descubrimiento de bacterias autótrofas como *Aquifex*. Este miembro de bacterias es un hipertermófilo, con un genoma muy pequeño, que diverge muy pronto en el árbol evolutivo (*véase* **Figura 14.16**). Todas estas propiedades podrían considerarse correspondientes a un estadio «primitivo». Estas ideas, junto a la abundancia de H_2 y CO_2 en la Tierra primigenia (**Figuras 14.4** y **14.5**), sugieren que las primeras células podrían haber sido autótrofos anaerobios que obtenían su carbono del CO_2 y su energía en forma de electrones utilizados para reducir dióxido de carbono a material celular, del H_2, según la siguiente fórmula:

$$2H_2 + CO_2 \rightarrow H_2O + [CH_2O]$$

Si la vida surgió de este modo, debe de haber requerido una fuente abundante y constante de H_2, así como de nitrógeno, fósforo y diversos minerales, y debe de haber poducido grandes cantidades de productos residuales, posiblemente en forma de acetato. Una situación similar se produce con las arqueas termofílicas, muchas de las cuales oxidan H_2 y reducen S^0, y divergen muy pronto en el árbol evolutivo.

Reacciones que utilizan el ion ferroso como sustrato, muy abundante en la Tierra primigenia, también se han propuesto como reacciones productoras de energía utilizadas por organismos primigenios. Por ejemplo, la reacción

$$FeS + H_2S \rightarrow FeS_2 + H_2 \qquad \Delta G^{0\prime} = -42\text{kJ}$$

se desarrolla de modo exergónico dando como resultado la liberación de energía. Esta reacción produce H_2, y las células primigenias podrían haber usado este potente donador de electrones para generar fuerza protón-motriz. El H_2 podría haber alimentado a una ATPasa primitiva para producir ATP (**Figura 14.8**). Otras fuentes de H_2 podrían haberse obtenido del ion ferroso en la Tierra primigenia. Por ejemplo, el Fe^{2+} puede reducir protones a hidrógeno en presencia de radiación ultravioleta como fuente de energía (**Figura 14.8**). Se cree que los océanos primigenios estabán cargados con ion ferroso, y que sus aguas superficiales estaban sometidas a intensa radiación UV.

Además de H_2 actuando como donante de electrones, se requeriría un aceptor de electrones para formar una pareja redox (Sección 5.6); el azufre elemental (S^0) podría haber sido dicho aceptor. Como muestra la **Figura 14.8**, la oxidación del H_2 para producir H_2S hubiera requerido pocas enzimas. Lo que es más, debido a la abundancia de H_2 y de compuestos de azufre en la Tierra primigenia, las células habrían dispuesto de una fuente de energía casi inagotable.

Estas formas originarias de metabolismo quimiolitótrofo podrían haber mantenido la producción de grandes cantidades de compuestos orgánicos provenientes de la fijación de CO_2. Con el tiempo estos materiales orgánicos se habrían acumulado, proporcionando una fuente abundante, variada y continuamente renovada de carbono orgánico reducido, disparando la evolución de diversas bacterias quimioorganótrofas que emplean compuestos orgánicos como donadores de electrones en su metabolismo energético.

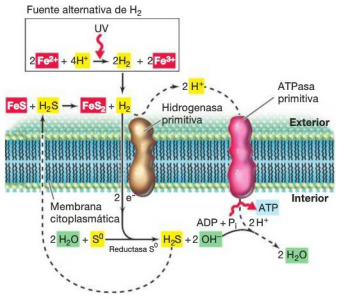


Figura 14.8 Un posible sistema de generación de energía de las células primitivas. La formación de pirita produce H_2 y lleva a la reducción de S^0, que alimenta una primitiva ATPasa. Observe cómo el H_2S juega tan sólo un papel de catalizador; los sustratos netos serían FeS y S^0. Observe también qué pocos tipos de proteínas serían necesarias. El $\Delta G^{0\prime}$de la reacción FeS + + $H_2S \rightarrow FeS_2 + H_2 = -42$ kJ. Una fuente alternativa de H_2 podría haber sido la reducción de H^+ por el Fe^{2+} catalizada por UV, como se muestra.

14.2 Minirrevisión

La vida podría haber surgido en fuentes hidrotermales en los fondos del océano primigenio. Las primeras formas de vida podrían haber sido RNA autorreplicativos con capacidad de catalizar la síntesis de proteínas. Finalmente, el DNA asumió el papel de molde para la síntesis de RNA, y el sistema tripartito de DNA, RNA y proteína se impuso universalmente en las células primigenias. El metabolismo microbiano primigenio era anaeróbico y probablemente quimiolitótrofo, aprovechando las abundantes fuentes de H_2, FeS, y H_2S disponibles. El metabolismo del carbono podría haber sido autótrofo en un principio, pasando a ser heterótrofo conforme se fueran formando y acumulando los distintos compuestos orgánicos.

▮ ¿Qué papel jugaron en el origen de la vida los acúmulos de materiales ricos en minerales de las fuentes hidrotermales?

www.elcalibros.com

- ¿Qué importante estructura celular fue necesaria para que la vida evolucionara desde un mundo de RNA hasta la vida celular?
- ¿Cómo pudieron las células obtener energía a partir de FeS y H_2S?

14.3 Diversificación microbiana: consecuencias para la biosfera terrestre

A partir del origen de las primeras células y del desarrollo de los sistemas primigenios de metabolismo del carbono y de producción de energía, la vida microbiana sufrió un proceso de diversificación metabólica, aprovechando las fuentes de energía variadas y abundantes disponibles en la Tierra. Sin duda alguna, conforme ciertos nutrientes específicos eran consumidos y se hacían limitantes, la competición y la selección natural estimularon la evolución de nuevos tipos de metabolismo más eficientes. Por otro lado, la vida microbiana alteró la composición química del entorno a través de su propia actividad metabólica, agotando ciertos recursos y creando otros nuevos mediante la producción de productos residuales y de material celular. Estos cambios y los nuevos recursos presentaron a su vez tanto desafíos para la supervivencia como oportunidades para su aprovechamiento. En las siguientes secciones examinaremos el abanico general de diversificación metabólica y nos centraremos en un producto metabólico residual, el oxígeno, que tendría una enorme influencia en el curso de la evolución.

Diversificación metabólica

Datos geológicos y de biología molecular nos permiten viajar en el tiempo para ampliar nuestro conocimiento sobre la diversificación microbiana. Los datos moleculares son indirectos, en contraposición con los materiales geológicos que pueden ser examinados directamente; la filogenia molecular se basa en la comparación de secuencias de DNA permitiéndonos estimar cuándo aparecieron los ancestros de las bacterias modernas. En la Sección 14.5 describiremos los relojes moleculares y el análisis de secuencia de DNA, mientras que aquí usaremos la información del DNA para estimar en una escala temporal la aparición de algunos de los principales grupos metabólicos bacterianos.

LUCA, el último de los ancestros comunes universales podría haber existido hace 4.250 millones de años (**Figura 14.7**). Por otro lado, las pruebas moleculares sugieren que los ancestros de las bacterias y arqueas actuales divergieron hace aproximadamente 4.100-3.900 millones de años. Con su divergencia, estos dos linajes desarrollaron sus correspondientes metabolismos característicos. Las primeras bacterias podrían haber utilizado H_2 y CO_2 para producir acetato, o compuestos ferrosos para la generación de energía, como se ha comentado previamente. Simultáneamente, las primeras arqueas desarrollaron la capacidad de utilizar H_2 y CO_2, y posiblemente acetato conforme se iba acumulando, como sustratos para la metanogénesis (producción de metano), de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$$

$$H_3C{-}COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$$

La prototrofía (Secciones 20.1-20.5) surgió algo más tarde, hace aproximadamente 3.200 millones de años, y tan solo en bacterias. La capacidad de utilizar la radiación solar como fuente de energía permitió una notable diversificación de los protótrofos. Con la excepción de las más antiguas de las bacterias hipertermófilas, *Aquifex*, y *Thermotoga*, el ancestro común de todas las demás bacterias parece haber sido un protótrofo anaerobio, posiblemente similar a *Chloroflexus*. Hace alrededor de 2.700 millones de años, el linaje de las cianobacterias desarrolló un fotosistema que permitía usar H_2O en lugar de H_2S para la reducción fotosintética del CO_2, liberando O_2 en lugar de S^0 como producto residual (Sección 20.5). El desarrollo de la fotosíntesis oxigénica cambió dramáticamente el curso de la evolución.

La aparición del oxígeno: formaciones bandeadas de hierro

Las pruebas químicas y moleculares demuestran que las cianobacterias generadoras de oxígeno aparecieron por primera vez en la Tierra hace aproximadamente 2.700 millones de años. Los datos geológicos demuestran que la acumulación de oxígeno atmosférico a niveles significativos tardó otros 300 millones de años. Los niveles de oxígeno subieron hasta una parte por millón hace aproximadamente 2.400 millones de años, una cantidad minúscula pero suficiente para iniciar lo que ha venido a denominarse la Gran Oxidación (*Great Oxidation Event*) (**Figura 14.7**). ¿Qué pudo haber retrasado la acumulación de oxígeno durante tanto tiempo?

El O_2 producido por las cianobacterias no empezó a acumularse en la atmósfera hasta que hubo reaccionado en los océanos con materiales reducidos, fundamentalmente hierro (en forma de FeS y FeS_2); estos materiales reaccionan espontáneamente con O_2 para producir H_2O. El Fe^{3+} producido durante la oxidación de la pirita (FeS_2) se convirtió en un marcador preeminente en el registro geológico. Gran parte del hierro en rocas de origen precámbrico (hace > 500 millones de años, ver **Figura 14.7**) aparece en formaciones bandeadas de hierro (**Figura 14.9**), rocas sedimentarias laminadas formadas por la deposición en las profundidades marinas de capas alternas de minerales ricos en hierro y de materiales silíceos pobres en hierro. El ion férrico formó diversos óxidos de hierro que se acumularon para formar las formaciones bandeadas de hierro (**Figura 14.9**). Una vez que el abundante Fe^{2+} presente en la Tierra fue consumido, todo estaba listo para que el O_2 comenzara a acumularse en la atmósfera, lo que disparó notables cambios evolutivos (**Figura 14.7**).

Figura 14.9 **Formaciones bandeadas de hierro**. Un acantilado expuesto de unos 10 metros de altura que contiene capas de óxidos de hierro intercalados con capas de silicatos de hierro y otros compuestos silíceos. Brockman Iron Formation, Hammersley Basin, Oeste de Australia. Los óxidos de hierro contienen hierro en forma férrica (Fe^{3+}) producido a partir de hierro ferroso (Fe^{2+}) principalmente por el oxígeno liberado por la fotosíntesis llevada a cabo por cianobacterias.

www.medilibros.com

Los nuevos metabolismos y la capa de ozono

La evolución de la fotosíntesis oxigénica tuvo enormes consecuencias para la Tierra, ya que conforme el O_2 fue acumulándose la atmósfera pasó de ser anóxica a óxica (**Figura 14.7**). Aquellas bacterias y arqueas incapaces de adaptarse a este cambio se vieron restringidas progresivamente a hábitats anóxicos cómo consecuencia de la toxicidad del oxígeno y también por la oxidación de las substancias reducidas de las que dependía su metabolismo. Sin embargo esta atmósfera óxica también generó las condiciones que llevaron a la evolución de nuevas rutas metabólicas, como la reducción de sulfato, la nitrificación y la oxidación del hierro (Secciones 21.8, 20.12, y 20.11, respectivamente). Aquellas bacterias que desarrollaron la capacidad de respirar oxígeno, de modo obligado o facultativo, consiguieron una enorme ventaja en la obtención de energía y se diversificaron rápidamente, ya que mediante la oxidación de compuestos orgánicos fueron capaces de obtener más energía que los organismos anaerobios. Con el desarrollo de mayores poblaciones celulares se incrementaron también las posibilidades para la evolución de nuevos tipos de organismos y estrategias metabólicas.

Durante este tiempo evolucionaron los microorganismos eucariotas dotados de orgánulos (Sección 14.4), y el incremento del nivel de oxígeno también favoreció su rápida evolución. El microfósil eucariota más antiguo que se conoce tiene alrededor de 2000 millones de años. Microfósiles multicelulares de complejidad creciente están presentes desde hace 1.900 a 1.400 millones de años. Hace unos 600 millones de años el nivel de oxígeno estaba ya cerca del actual, y en el mar ya existían grandes organismos multicelulares, la fauna del Ediacaran (**Figura 14.7**). En un plazo de tiempo relativamente corto los eucariotas multicelulares se diversificaron en los ancestros de las algas, plantas, hongos y animales actuales (Sección 14.8).

Una consecuencia importante del O_2 para la evolución de la vida fue la formación del ozono, una substancia que constituye la barrera que evita que la intensa radiación solar ultravioleta alcance la Tierra. Cuando se somete el O_2 a radiación ultravioleta se convierte en O_3, que absorbe radiaciones de longitud de onda hasta los 300 nm. Hasta que la capa de ozono se desarrolló en la atmósfera terrestre superior, la evolución sólo habría podido continuar bajo la superficie marina y en entornos terrestres protegidos donde el DNA de los organismos no se viera expuesto a una dosis letal de radiación solar ultravioleta. Sin embargo, después de la producción fotosintética de O_2 y el desarrollo subsecuente de la capa de ozono, los distintos organismos fueron capaces de extenderse sobre la superficie terrestre, colonizando nuevos hábitats y evolucionando hacia una mayor diversidad. La **Figura 14.7** resume algunos de los eventos principales en la evolución biológica y los cambios en la geoquímica terrestre, desde un planeta de ambiente muy reductor hasta uno de ambiente muy oxidante.

14.3 Minirrevisión

Las primeras bacterias y arqueas podrían haber divergido a partir de un ancestro común hace unos 4.100-3.900 millones de años. El metabolismo microbiano se diversificó en la Tierra primigenia con el desarrollo de la metanogénesis y de la fotosíntesis anoxigénica. La fotosíntesis oxigénica llevó al desarrollo de un ambiente óxico, la formación de formaciones bandeadas de hierro y grandes explosiones de evolución biológica.

- ¿Por qué se considera a la aparición de las cianobacterias un paso crítico en la evolución biológica?
- ¿En qué forma se encuentra el hierro en las formaciones bandeadas de hierro?
- ¿Qué papel llevó a cabo el ozono en la evolución biológica y cómo hicieron posible las cianobacterias la producción de dicho ozono?

14.4 Origen endosimbiótico de los eucariotas

A la divergencia de linajes que dio lugar a bacterias y arqueas siguieron muchos millones de años de diversificación metabólica conforme los miembros de dichos linajes

evolucionaban y se diversificaban. La biosfera de la Tierra sufrió grandes cambios como consecuencia de dicha diversificación, entre los que destaca la generación de una atmósfera cada vez más oxigenada. Hasta cierto punto durante la evolución de la vida parece ser que las células carecían tanto de un núcleo envuelto por membrana como de orgánulos, como sucede con las bacterias y arqueas actuales. Los eucariotas por el contrario se caracterizan por su núcleo envuelto por una membrana y por sus orgánulos. El Capítulo 2 nos ha dado una idea somera de la diversidad de los microorganismos eucariotas (Sección 2.11), y el Capítulo 18 examinará dichos microorganismos en mayor detalle. Aquí consideraremos el origen de los eucariotas preguntándonos cuándo y cómo surgió este tercer dominio de la vida, caracterizado por un núcleo rodeado de membrana y orgánulos.

Origen de los eucariotas

Los indicios geológicos obtenidos de microfósiles (**Figura 14.3**) demuestran que los eucariotas unicelulares surgieron en la Tierra hace unos 2.000 millones de años (**Figura 14.7**). Así que los linajes que dieron lugar a las bacterias y arqueas actuales ya existían como las únicas formas de vida sobre nuestro planeta desde al menos 2.000 millones de años antes de que se desarrollaran los eucariotas. El momento de esta aparición nos indica que los eucariotas se originaron después del incremento del oxígeno atmosférico, el desarrollo del metabolismo respiratorio en bacterias y el desarrollo de enzimas como la superóxido dismutasa (Sección 6.18), mediante las cuales las células pueden detoxificar radicales de oxígeno generados como subproducto de la respiración aerobia. ¿Cómo podrían haber surgido los eucariotas y de qué manera pudo influir en la evolución la disponibilidad de oxígeno?

Endosimbiosis

Una hipótesis muy sólida sobre el origen de las células eucariotas es la de la **endosimbiosis**, que propone que las mitocondrias y los cloroplastos de los eucariotas actuales surgieron de la incorporación estable dentro de otro tipo de célula de una bacteria quimiorganótrofa con un metabolismo aeróbico facultativo, y una cianobacteria capaz de fotosíntesis oxigénica. El oxígeno fue un factor en la endosimbiosis debido a su consumo en el metabolismo energético del ancestro mitocondrial y a su producción mediante fotosíntesis por el ancestro del cloroplasto. La mayor cantidad de energía liberada por la respiración aeróbica sin duda contribuyó a la rápida evolución de los eucariotas, como también contribuyó su capacidad para aprovechar la luz solar como fuente de energía.

La fisiología y el metabolismo de mitocondrias y cloroplastos así como la secuencia y estructura de sus genomas apoyan la hipótesis de la endosimbiosis. Por ejemplo, tanto las mitocondrias como los cloroplastos contienen ribosomas de tipo procariota (70S, Tabla 7.4) y tienen secuencias génicas de RNA ribosomal 16S (Sección 14.6) características de ciertas bacterias. Lo que es más, los mismos antibióticos que afectan a la función ribosomal en bacterias de vida libre también inhiben la función ribosomal en estos orgánulos. La mitocondria y el cloroplasto también contienen una pequeña cantidad de DNA en forma circular covalentemente cerrada, típica de bacterias (Sección 18.4). Es un hecho que numerosas particularidades de bacterias están presentes en los orgánulos de las actuales células eucariotas (Sección 18.4). Con todo, hay más cosas a tener en cuenta al respecto de cómo surgieron las células eucariotas, incluyendo la naturaleza de la célula que asimiló mitocondrias y después cloroplastos, y cómo se formó la membrana nuclear.

Formación de la célula eucariota

Se han propuesto dos hipótesis para explicar la formación de las células eucariotas (**Figura 14.10**). En una de ellas los eucariotas comenzaron a partir de células ya en posesión de un núcleo y que adquirieron *a posteriori* mitocondrias y cloroplastos por endosimbiosis (**Figura 14.10a**). En esta propuesta, la línea celular poseedora de núcleo habría surgido a partir de algún tipo de célula preexistente, cuyo núcleo se propone que había surgido espontáneamente, probablemente como respuesta al creciente tamaño del genoma.

La segunda hipótesis, denominada la hipótesis del hidrógeno, propone que la célula eucariota surgió de la asociación intracelular entre una bacteria consumidora de oxígeno y productora de hidrógeno que actuaría como simbionte y que dio lugar a la mitocondria, y un miembro de las arqueas actuando como hospedador (**Figura 14.10b**). Se cree que la necesidad del hospedador de utilizar como fuente de energía el H_2 generado como producto residual del metabolismo del simbionte fue lo que dio lugar a esta asociación. En esta propuesta, el núcleo habría surgido después de que estos dos organismos hubiesen establecido su asociación y de que los genes de síntesis de lípidos fueran transferidos desde el simbionte al cromosoma del hospedador. La transferencia de estos genes al cromosoma del hospedador podría haber llevado a la síntesis de lípidos del simbionte por el hospedador, finalmente formando un sistema interno de membranas correspondiente al retículo endoplásmico (Sección 18.5), y a los inicios del núcleo eucariota. El tamaño creciente del genoma del hospedador dio lugar a la compartimentalización de la información genética codificante, que quedó aislada del citoplasma mediante una membrana para su protección y para permitir una replicación y expresión génica más eficiente. Posteriormente, esta línea celular nucleada y poseedora de mitocondrias habría adquirido cloroplastos mediante endosimbiosis (**Figura 14.10b**).

Naturaleza quimérica de la célula eucariota

Ambas hipótesis para explicar el origen de los eucariotas proponen que la célula eucariota es una quimera, una célula constituida con los atributos tanto de bacterias como

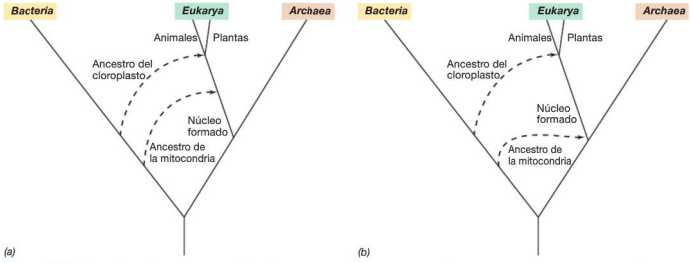


Figura 14.10 **Modelos sobre el origen de la célula eucariota**. *(a)* La línea nucleada diverge a partir de las arqueas y posteriormente adquiere por endosimbiosis al ancestro bacteriano de la mitocondria y al ancestro del cloroplasto con origen en las cianobacterias, momento en el cual la línea nucleada diverge en varios linajes que darán lugar a plantas y animales. *(b)* En contraposición, el ancestro bacteriano de la mitocondria es asimilado endosimbióticamente por un miembro de las arqueas, y de esta asociación surge posteriormente el núcleo, seguido por la asimilación endosimbiótica del ancestro del cloroplasto con origen en las cianobacterias. Observe la posición de la mitocondria y el cloroplasto en el árbol filogenético universal que se ilustra en la Figura 14.16.

de arqueas. En efecto, este parece ser el caso. Los eucariotas tienen el tipo de lípidos presentes en bacterias, pero tienen un sistema de transcripción y traducción más parecido al de arqueas que al de bacterias (**Tabla 14.1**; Capítulo 8). Sin embargo, su metabolismo energético —esto es, las rutas de producción de ATP de la mitocondria, los hidrogenosomas (mitocondrias degeneradas, Sección 18.2) y el citoplasma, así como las enzimas glicolíticas citoplásmicas —son más parecidas a las bacterias que a las arqueas.

El desarrollo de la célula eucariota constituyó un paso enorme en la evolución, creando células complejas y de contenido genético químérico, con nuevas capacidades, alimentadas por mitocondrias respiradoras de oxígeno y por cloroplastos protótrofos capaces de generarlo. Al igual que con el desarrollo de las primeras células a partir de componentes abióticos y con la diversificación de bacterias y arqueas, el proceso evolutivo que dio lugar a las células eucarióticas y cada uno de sus componentes individuales se prolongó durante largos períodos de tiem-

Tabla 14.1 **Aspectos más relevantes que asocian bacterias o arqueas con eucariotas**[a]

Características	*bacterias*	*arqueas*	*eucariotas*
Lípidos de membrana	Unidos por enlace ester	Unidos por enlace ester	Unidos por enlace ester
Fotosíntesis con clorofila	Sí	No	Sí (en cloroplastos)
Presencia de proteínas Histonas	No[b]	Sí	Sí
Pared celular	Contiene ácido murámico	No contiene ácido murámico	No contiene ácido murámico
tRNA iniciador	Formilmetionina	Metionina	Metionina
Sensibilidad de sus ribosomas a la toxina diftérica[c]	No	Sí	Sí
Polimerasa de RNA (Figura 8.14)	Una (4 subunidades)	Una (8-12 subunidades cada una)	Tres (12-14 subunidades cada una)
Requieren factores de transcripción (Secciones 7.10, 8.2, y 8.9)	No	Sí	Sí
Estructura de sus promotores (Secciones 7.9, 7.10, 8.2, y 8.9)	Secuencias –10 y –35 (Caja Pribnow)	Caja TATA	Caja TATA
Sensibilidad al cloranfenicol, estreptomicina, y kanamicina	Sí	No	No

[a] Ver también Tabla 14.2 para encontrar aspectos adicionales de los tres dominios.

[b] La proteína de unión al DNA, HU, está presente en bacterias (Sección 17.5).

[c] Secciones 8.9 y 34.3.

po y probablemente sufrió numerosos arranques en falso y se encontró con callejones evolutivos sin salida. Por otro lado, con cada paso se crearon nuevas oportunidades para la aparición de nuevas variantes y para la actuación de la selección natural, descartándose algunas funciones y atributos mientras otros eran refinados, y generando capacidades completamente nuevas como consecuencia de la integración progresiva de las genéticas de hospedador y simbiontes. El origen de las células eucariotas supone el punto de partida de una explosión en la diversidad biológica, que sigue y toma como base la ya enorme diversificación de bacterias y arqueas. El período desde hace unos 2.000 millones de años hasta el presente ha visto la aparición y diversificación de organismos eucariotas unicelulares, el origen de los organismos multicelulares, y la aparición de vida animal, vegetal y fúngica estructuralmente compleja (**Figuras 14.7**, **14.10**, y ver **14.16**).

14.4 Minirrevisión

Los eucariotas unicelulares surgieron hace unos 2.000 millones de años. La célula eucariota podría haber surgido de la endosimbiosis entre bacterias aerobias facultativas productoras de H_2 y arqueas consumidoras de H_2. Se cree que la célula eucariota es una quimera con las propiedades de bacterias y arqueas.

- ¿Qué datos apoyan la idea de que tanto las mitocondrias como los cloroplastos fueron originalmente miembros independientes del dominio bacterias?
- ¿Cómo podría haber aparecido el núcleo eucariota?
- ¿En qué sentido son los eucariotas actuales una combinación de los atributos de bacterias y arqueas?

II EVOLUCIÓN MICROBIANA

14.5 El proceso evolutivo

La evolución implica descendencia con modificación, cambio en la secuencia del DNA genómico del individuo y la herencia de dicho cambio por la siguiente generación. En esta visión claramente darwiniana de la vida, todos los organismos se encuentran relacionados por su descendencia a partir de un ancestro común. Hemos esbozado una hipótesis sobre el origen del más lejano de dichos ancestros, LUCA (Sección 14.2). Desde aquel momento hace unos 4.000 millones de años la vida ha sufrido un amplio proceso de cambio conforme nuevos tipos de organismos surgían de otros preexistentes. La evolución también implica la desaparición de formas de vida, con la extinción de aquellos organismos con menor éxito evolutivo. La evolución explica no sólo la tremenda diversidad de los organismos actuales, sino también su elevado nivel de complejidad. En efecto, ningún organismo vivo actual es primitivo. Todas las formas de vida existentes son organismos modernos, bien adaptados y muy eficientes en sus respectivos nichos ecológicos, al haber surgido mediante un proceso de cambio evolutivo bajo la presión de la selección natural.

Mutaciones y selección

La variación en la secuencia de DNA puede aparecer de varias formas. El principal método de evolución son las mutaciones, cambios en la secuencia nucleotídica del genoma de un organismo (Secciones 11.4-11.8). Las mutaciones se producen como consecuencia de errores en la replicación, por radiación UV u otros factores, y son esenciales para que la vida sea susceptible al cambio y pueda adaptarse por selección natural. Las mutaciones adaptativas son aquellas que mejoran la **capacidad** de un organismo, mejorando su supervivencia o reproducción en comparación con los demás organismos competidores. En contraposición las mutaciones deletéreas disminuyen la capacidad de un organismo. Sin embargo la mayoría de las mutaciones son neutrales, y ni benefician ni dañan a la célula, de modo que pueden ir acumulándose en el genoma de dicho organismo.

Hay otros procesos que generan cambios heredables en la secuencia genómica de un organismo. Estos procesos incluyen la duplicación génica, que puede ser la base del desarrollo evolutivo de nuevas funciones conforme la secuencia de los genes duplicados cambia con el tiempo; la **transferencia génica horizontal** (Sección 13.11), que puede atraer genes desde linajes poco relacionados, y la pérdida de genes, que lleva a los genomas mínimos que se encuentran a menudo en simbiontes y parásitos obligados. También puede contribuir a la variación la recombinación homóloga entre secuencias de DNA provenientes de cepas cercanas dentro de la misma especie.

Independientemente de si la mutación o cualquier otro proceso de cambio genético es neutral, beneficioso, o deletéreo, estos cambios permiten la selección de los organismos afectados. Conforme aparecen nuevos hábitats al cambiar el ambiente, las células encuentran nuevas condiciones ambientales en las que deben sobrevivir compitiendo de modo eficaz por los nutrientes disponibles o bien extinguirse. La variación de secuencia presente en una población proporciona el material base para que se favorezca la multiplicación de aquellos individuos portadores de mutaciones beneficiosas bajo las nuevas circunstancias. Más tarde volveremos sobre estos conceptos al discutir la especiación bacteriana, pero ahora analizaremos cómo rastrear la historia evolutiva de un organismo.

14.5 Minirrevisión

La evolución implica descendencia con modificación. La selección natural trabaja favoreciendo la supervivencia y reproducción de aquellos organismos que por azar sean

www.medilib.ir

portadores de mutaciones que mejoren su capacidad bajo nuevas condiciones ambientales.

- De acuerdo a la visión darwiniana de la vida, todos los organismos están relacionados por _____.
- ¿Qué tipo de mutaciones —beneficiosas, neutrales o deletéreas— son las más comunes?
- ¿Cómo prepara la acumulación de mutaciones el camino de la selección?

14.6 Análisis evolutivo: aspectos teóricos

Se denomina **Filogenia** a la historia evolutiva de un grupo de organismos, y la comprensión de dicha historia es un objetivo esencial del análisis evolutivo. Como carecemos de un conocimiento directo del camino seguido por la evolución, excepto en el caso de poblaciones experimentales de bacterias en el laboratorio, la filogenia se deduce indirectamente de la secuencia nucleotídica. Nuestra premisa es que las bacterias (y el resto de los organismos) están relacionados por herencia, y que la secuencia de un genoma bacteriano es un registro explícito si bien algo difuso de los ancestros de dicha bacteria. Como la evolución es un proceso de herencia del cambio nucleotídico, analizar las diferencias en la secuencia de DNA de distintas bacterias debe permitirnos reconstruir su historia filogenética. Aquí analizaremos algunos de los métodos para este análisis.

Genes utilizados en el análisis filogenético

Para estudiar la filogenia molecular de los microorganismos se emplean una serie de genes. Los genes más útiles y más usados para definir relaciones entre organismos son los que codifican el rRNA 16S (**Figura 14.11**) y sus equivalentes en eucariotas, los genes del rRNA 18S. Estos **genes de la subunidad pequeña del RNA ribosómico** (*small subunit ribosomal* RNA o SSU rRNA) se han utilizado ampliamente para el análisis evolutivo basado en secuencias porque (1) están distribuidos universalmente, (2) son estables en su función, (3) están lo suficientemente conservados (es decir, cambian lentamente) y (4) tienen la longitud adecuada, de tal modo que proporcionan una visión de la evolución que abarca todos los organismos vivos.

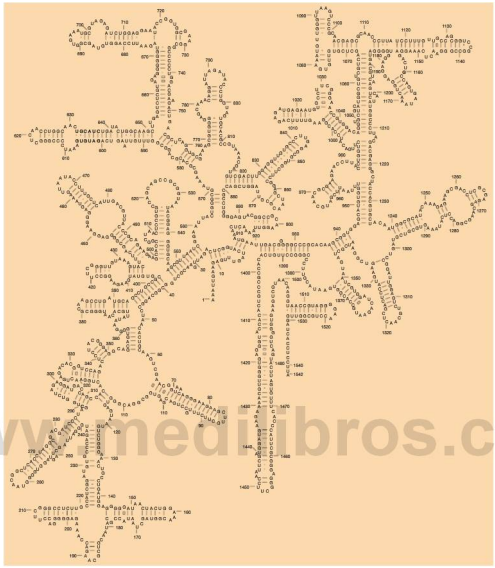
Carl Woese de la Universidad de Illinois fue el pionero en el uso de los SSU rRNA para estudios filogenéticos al principio de los 1970. Su trabajo estableció los tres dominios de la vida en bacterias, arqueas, y eucariotas, y proporcionó por vez primera una filogenia unificada para las bacterias. En reconocimiento a sus logros, Woese recibió en 2003 el Crafoord Prize concedido por la Real Academia Sueca de Ciencias, el más alto reconocimiento en Biología.

Hay una extensa y siempre creciente base de datos de secuencias génicas de rRNA. Por ejemplo, el **Ribosomal Database Project II** (RDP-II; **http://rdp.cme.msu.edu**) contiene una colección de tales secuencias, que actualmente supera las 440.000 y proporciona una variedad de programas de análisis. El gen de la subunidad grande del 23S rRNA (LSU-rRNA) también es muy informativo filogenéticamente, en tanto que su secuencia más larga proporciona información adicional, si bien es más cara y lenta de secuenciar. Además de estos genes, aquellos que codifican algunas proteínas muy conservadas también se han empleado con éxito en análisis filogenético, por ejemplo el del factor de elongación Tu de la síntesis de proteínas (Sección 7.15), el de la proteína de choque térmico Hsp60 (Sección 9.11) y los de varias sintetasas de tRNA (Sección 7.15).

Los genes SSU y LSU están muy conservados y han cambiado muy lentamente, proporcionando una visión de la evolución que abarca todos los organismos vivos. Esta fortaleza es a la vez una debilidad, en tanto que las funciones esenciales del rRNA aparentemente han limitado el rango de cambio que estos genes han experimentado durante su evolución. En consecuencia, el rango de variación de los genes del SSU rRNA puede no ser suficiente para proporcionar una buena resolución entre especies bacterianas. Otro posible problema de usar un solo gen para el estudio de las relaciones evolutivas entre bacterias es que un determinado gen puede no estar presente en todos los organismos. Un ejemplo de esto es el gen *recA*, que codifica una recombinasa que permite recombinación en bacterias (Sección 11.9). No existen en arqueas ni en eucariotas genes homólogos a *recA*, es decir que compartan un ancestro con *recA*, y por tanto este gen no resulta apropiado para estudios evolutivos que pretendan incluir organismos fuera de bacterias. Más tarde discutiremos (Sección 14.8) formas evitar estos problemas en filogenia y taxonomía, mediante el uso de genes cuyas secuencias hayan divergido más que las del gen del 16S rRNA, y como consecuencia revelen diferencias entre bacterias muy relacionadas y mediante el uso de múltiples genes para el análisis evolutivo.

Relojes moleculares

Una cuestión por resolver en estudios filogenéticos es si las secuencias de DNA (y de aminoácidos) cambian o no a un ritmo constante. Si lo hicieran, entonces el número de cambios entre dos secuencias homólogas podría servir como un **reloj molecular** aproximado de la evolución, a modo de cronómetro, permitiéndonos estimar el tiempo transcurrido desde la divergencia entre ambas a partir de una secuencia ancestral común. Las principales premisas que se asumen al aplicar el método del reloj molecular son que los cambios nucleotídicos se acumulan en la secuencia proporcionalmente al tiempo transcurrido, que dichos cambios son por lo general neutrales y no interfieren con la función génica y que suceden al azar. El reloj molecular se ha empleado para estimar en unos 120-140 millones de años el tiempo desde la divergencia entre *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium*, dos miembros muy próximos de las gammaproteobacterias a partir de



www.medilibros.com

Figura 14.11 **RNA ribosómico**. Estructuras primaria y secundaria del 16S rRNA de *Escherichia coli* (bacterias) . El 16S rRNA de arqueas es parecido en el conjunto de su estructura secundaria (plegamiento) pero presenta numerosas diferencias en su estructura primaria (secuencia). El equivalente en eucariotas del 16S rRNA es el 18S rRNA, que está presente en los ribosomas citoplásmicos.

un ancestro común (Sección 15.11). Estos datos se han combinado con otros basados en el registro geológico, en isótopos, y con marcadores biológicos específicos para proximar cuando emergieron los distintos patrones metabólicos en bacterias (Sección 14.3)

Con todo, el principal problema del método del reloj molecular es que las secuencias de DNA cambian a ritmos distintos, lo que dificulta establecer una correlación directa y fiable con la escala temporal. De todos modos gran parte del análisis filogenético se centra en establecer relaciones relativas entre organismos, ilustradas por el orden de su ramificación en los árboles evolutivos. Generalmente estas relaciones pueden establecerse independientemente de que las diferentes secuencias cambien o no a ritmos parecidos, de modo que la precisión del método del reloj molecular no se considera un gran problema.

14.6 Minirrevisión

La historia evolutiva de la vida, también denominada filogenia, puede ser reconstruida a partir del análisis de secuencias de DNA. El trabajo de Carl Woese estableció la existencia de los tres dominios de la vida. Dos de estos dominios carecen de núcleo, bacterias y arqueas, mientras que el tercer dominio, eucariotas, sí que lo posee.

- ¿Por qué son apropiados los genes del SSU rRNA para el análisis filogenético?
- ¿Qué información proporciona el RDP-II?
- ¿Qué valor tienen los relojes moleculares en el análisis filogenético?

14.7 Análisis evolutivo: métodos analíticos

Los estudios filogenéticos modernos se basan en comparaciones de secuencias de nucleótidos, para las cuales se han desarrollado métodos específicos. En este apartado analizaremos dichos métodos.

Obtención de secuencias de DNA

El análisis filogenético empleando secuencias de DNA requiere el uso intensivo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR de *Polymerase Chain Reaction*) para obtener las suficientes copias de un gen necesarias para su secuenciación (Sección 12.8). Para ello se diseñan oligonucleótidos de secuencia específica que actúan como cebadores al unirse a los extremos del gen de interés, o bien a DNA flanqueante a dicho gen, permitiendo la unión de la polimerasa y la copia del gen. La fuente de DNA portadora del gen de interés es normalmente DNA genómico purificado de las cepas bacterianas correspondientes. El producto de la PCR se visualiza por electroforesis en gel de agarosa (**Figura 14.12**), del que se extrae y purifica para ser secuenciado, a menudo utilizando los mismos oligonucleótidos empleados como cebadores en la PCR.

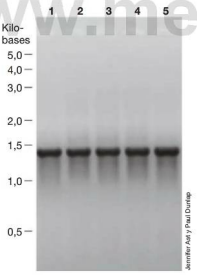


Figura 14.12 Amplificación por PCR del gen del 16S rRNA. Cebadores estándar complementarios a los extremos del gen del 16S rRNA 27f (5′—AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3′) y 1492r (5′-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3′) se emplearon para amplificar por PCR el gen del 16S rRNA a partir del DNA genómico de cinco cepas bacterianas desconocidas distintas (carriles 1-5), y los productos de la PCR se separaron por electroforesis en gel de agarosa (en el cebador que se muestra Y puede ser bien una C o bien una T). Las bandas de DNA amplificadas tienen una longitud de aproximadamente 1.465 nucleótidos. Las posiciones del marcador de tamaños de DNA se indican a la izquierda en kilobases. Los productos de PCR se extraen del gel, se purifican y se secuencian (Secciones 12.5 y 22.6), para analizarse e identificar las bacterias.

En el Capítulo 12 se puede encontrar más información sobre la PCR, electroforesis en gel y secuenciación de DNA. Un aspecto muy importante de la amplificación por PCR es el diseño de los cebadores, es decir la decisión de qué secuencia seleccionar para los oligonucleótidos que se utilizarán para amplificar un determinado gen. Existen cebadores estándar para muchos de los genes más conservados, entre otros los cebadores 27f y 1492r para el gen bacteriano del 16S rRNA (**Figuras 14.11** y **14.12**). Estos cebadores estándar permiten la amplificación de los genes de 16S rRNA de muchas bacterias distintas para su secuenciación. La amplificación de genes recientemente caracterizados o con mayor divergencia requiere a menudo el uso de un programa de ordenador, así como algún ensayo de prueba y error, para identificar los cebadores que amplifican el gen de interés de modo específico y eficiente.

Alineamiento de secuencias

El análisis filogenético está basado en homología, esto es, el análisis de secuencias de DNA que están relacionadas por un ancestro común. Genes homólogos en distintos organismos pueden ser bien ortólogos, que difieren como consecuencia de la divergencia generada en su secuencia conforme los organismos siguen distintos caminos evolutivos, o bien parálogos, que surgen por duplicación génica (véanse **Figura 13.11** y Sección 13.9 para más explicación sobre estos términos). Un vez que se obtiene la secuencia de DNA de un gen, el siguiente paso para desarrollar una filogenia consiste en alinear dicha secuencia con la secuencia de genes homólogos (ortólogos) de otras cepas o especies. De este modo se pueden identificar las diferencias entre secuencias que puedan aportar información filogenética, es decir los desapareamientos, las inserciones o las deleciones (huecos).

La **Figura 14.13** nos muestra un ejemplo de alineamiento de secuencia. El programa BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool* o herramienta básica de búsqueda

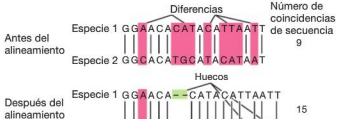


Figura 14.13 Alineamiento de secuencias de DNA. Se muestran las secuencias de dos organismos para una región hipotética de un gen, antes de su alineamiento y después de la inserción de huecos para mejorar el emparejamiento de nucleótidos, indicado por las líneas verticales que muestran nucleótidos idénticos en las dos secuencias. La inserción de huecos en ambas secuencias mejora el alineamiento significativamente.

de alineamiento) accesible en la web (**http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST**) y desarrollado por el National Institutes of Health realiza alineamientos de modo automático y ayuda a identificar genes homólogos a una nueva secuencia entre los muchos miles de genes ya secuenciados. Las secuencias homólogas pueden descargarse del GenBank (**http://www.ncbi.nih.gov/Genbank**), una colección (base de datos) anotada de todas las secuencias de DNA accesibles de modo público, y alinearse. El alineamiento es esencial para el análisis filogenético, porque la asignación de desapareamientos y huecos constituye una hipótesis sobre cómo han divergido las secuencias desde una única secuencia ancestral. Los genes que codifican proteínas se alinean habitualmente con la ayuda de su secuencia deducida de aminoácidos. Otros genes, como aquellos que codifican 16S RNA pueden ser alineados a ojo o mediante el uso de programas de ordenador diseñados para minimizar el número de desapareamientos y huecos. La estructura secundaria, como por ejemplo el plegado del **16S RNA** (**Figura 14.11**), es también útil para la obtención de alineamientos precisos.

Árboles filogenéticos

Reconstruir la historia evolutiva a partir de diferencias en la secuencia de nucleótidos implica la construcción de un *árbol filogenético*, que ilustra gráficamente las relaciones entre secuencias de los organismos objeto de estudio, al estilo de un árbol genealógico. Un árbol filogenético está compuesto de ramas y nodos (**Figura 14.14**). Los nodos internos representan a los ancestros, mientras que los extremos de las ramas, que también se denominan nodos, representan las distintas cepas de las especies bacterianas existentes en la actualidad de las cuales se obtuvieron las secuencias. Los nodos internos representan los puntos en el curso de la evolución donde se produjo la divergencia del ancestro en dos nuevas entidades, cada una de las cuales comenzó a acumular diferencias durante su subsiguiente evolución independiente. Las ramas definen (1) el orden de la descendencia y (2) los ancestros de los nodos, y la longitud de cada rama corresponde al número de cambios que se han sucedido a lo largo de dicha rama. Los árboles pueden carecer de raíz, mostrando las relaciones entre las cepas analizadas pero no el camino evolutivo que lleva desde el ancestro a cada cepa (**Figura 14.14*a***), o bien estar enraizados, en cuyo caso está definido el camino evolutivo específico desde el ancestro (nodo interno) a cada una de las cepas (**Figura 14.14*b-d***). A un árbol se le asigna una raíz mediante la inclusión de un grupo externo, es decir, una bacteria más alejada respecto a los organismos analizados que lo que ellos lo están entre sí, pero que comparte con ellos homólogos de los genes que se están estudiando.

Un árbol filogenético es una representación de las líneas de descendencia, y la relación entre dos organismos se debe interpretar en términos de un parentesco común. Es decir, cuanto más reciente sea el ancestro común compartido entre dos especies, más cercanas se considerarán dichas especies. El árbol de la **Figura 14.14*d*** ilustra este concepto. La especie B está más cercana a la especie C que a la especie A, porque B y C comparten un ancestro común más reciente (nodo 2) que B y A (nodo 1).

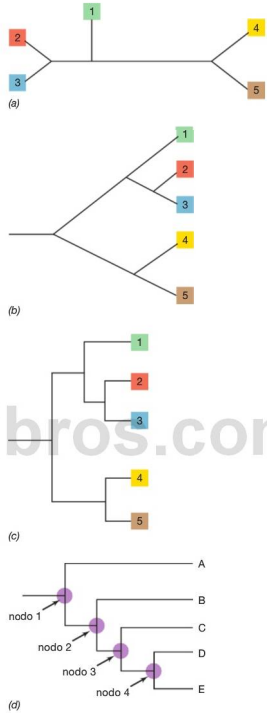


Figura 14.14 **Árboles filogenéticos**. Se ilustran las formas sin enraizar *(a)* y enraizadas *(b-d)* de un árbol filogenético. Los nodos en los extremos representan especies (o cepas) y los nodos internos representan ancestros. Las relaciones ancestrales quedan reflejadas por el orden de bifurcación de las ramas en los árboles enraizados *(d)*.

ilibros.com

Construcción de árboles

El análisis evolutivo moderno emplea métodos *character-state*, también llamados *cladísticos*, para la reconstrucción de árboles. La cladística define las relaciones filogenéticas analizando cambios nucelotídicos en posiciones específicas de la secuencia, empleando aquellos caracteres que proporcionan información filogenética. Estos caracteres son aquellos que definen un grupo **monofilético**. La **Figura 14.15** ilustra cómo se reconocen los caracteres informativos filogenéticamente. El análisis informático de dichos cambios da lugar a un árbol filogenético o cladograma.

Un método cladístico muy utilizado es el análisis de *parsimonia*, que se basa en el supuesto de que la evolución probablemente haya progresado por aquella vía que implique el menor número de cambios. Los algoritmos informáticos basados en la parsimonia proporcionan un modo de identificar el árbol que incluya el número mínimo de cambios de carácter. Otros métodos cladísticos como el de *máxima similitud* o el *análisis Bayesiano* se desarrollan como el de parsimonia pero difieren al asumir un modelo distinto de evolución, como por ejemplo que ciertos cambios nucleotídicos son más comunes que otros (por ejemplo es más habitual un cambio de una A por una C que un cambio de una A por una T o una G). Para el aprendizaje de los procedimientos básicos del análisis cladístico y la construcción de árboles están disponibles en la red aplicaciones informáticas gratuitas como PAUP (*Phylogenetic Analysis Under Parsimony* o análisis filogenético mediante parsimonia) y otros métodos, así como guías y tutoriales.

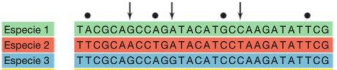


Figura 14.15 Identificación de sitios informativos filogenéticamente. Se muestran las secuencias alineadas de cuatro especies. Los sitios sin variación están sin marcar, y los sitios neutrales filogenéticamente están marcados por puntos. Los sitios informativos filogenéticamente, que varían en al menos dos de las secuencias, están marcados por flechas.

14.7 Minirrevisión

Entre los métodos analíticos para el análisis evolutivo se incluyen alineamientos de secuencias y la construcción de árboles filogenéticos, que deben interpretarse en términos de parentesco a partir de un ancestro común. Los métodos *character-state* como la parsimonia se emplean para la construcción de árboles filogenéticos.

- ¿Cómo se obtienen las secuencias de DNA para el análisis filogenético?
- ¿Qué se representa en un árbol filogenético?
- ¿Por qué es esencial el alineamiento de secuencias para el análisis filogenético?

14.8 Filogenia microbiana

Los biólogos solían agrupar a los organismos vivos en cinco reinos: plantas, animales, hongos, protistas y bacterias. Por otro lado, el análisis filogenético basado en las secuencias de DNA ha descubierto que los cinco reinos no representan cinco líneas evolutivas primordiales. Más bien, y como ha sido esbozado previamente en el Capítulo 2, la vida celular en la Tierra ha evolucionado a través de tres linajes principales, denominados dominios, las bacterias, las arqueas, y las eucariotas. Dos de estos **dominios**, las bacterias y las arqueas, están formados exclusivamente por microorganismos con células que carecen de un núcleo envuelto por una membrana (es decir células procariotas). El tercer linaje lo constituyen los eucariotas (**Figura 14.16**), es inicialmente microbiano (es decir, unicelular) e incluye a los cinco reinos clásicos con la excepción de las bacterias. Los términos bacterias, arqueas y eucariotas designan los tres dominios de la vida, siendo el dominio el más alto taxón biológico. Por tanto las plantas, animales, hongos y protistas constituyen todos ellos reinos dentro del dominio eucariotas.

Una filogenia de la vida basada en el Gen del SSU rRNA

El **árbolo filogenético** basado en los genes del SSU rRNA (**Figura 14.16**) representa una genealogía de toda la vida sobre la Tierra. Ilustra la historia evolutiva de las células de todos los organismos y deja ver claramente los tres dominios. La raíz del árbol universal representa un punto en la historia evolutiva en el que toda la vida existente sobre la Tierra compartió un ancestro común, LUCA, el último de los ancestros comunes universales.

Las secuencias de DNA de genomas completos han confirmado el concepto de las arqueas, una serie de especies que contienen grandes grupos de genes sin equivalente en bacterias o eucariotas. El concepto de los tres dominios de la vida también es respaldado por el análisis de ciertos genes compartidos por todos los organismos. El análisis de más de 30 genes presentes en más de 190 especies de bacterias, arqueas y eucariotas cuyos genomas están completamente secuenciados confirma la clara e inequívoca separación entre estas tres líneas evolutivas. El análisis de numerosos genes obtenidos a partir de estudios genómicos apoyan la estructura básica de la vida propuesta por Woese a partir del análisis de secuencia de los genes del SSU rRNA, aunque conforme se obtengan nuevos datos serán revisados el orden de ramificación y las relaciones de parentesco entre algunos linajes dentro de las bacterias, arqueas, y eucariotas.

UNIDAD 3

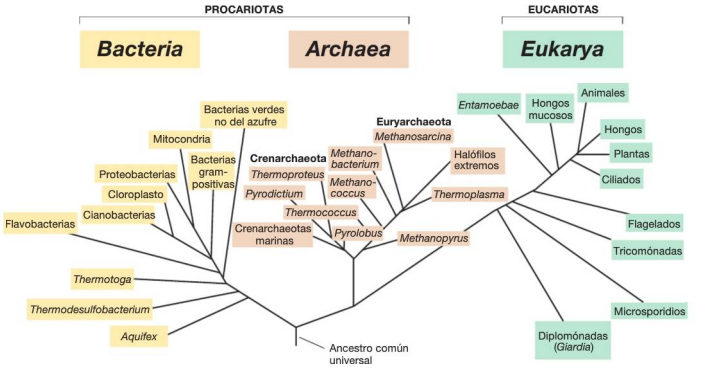


Figura 14.16 **Árbol filogenético universal generado a partir del análisis comparativo de secuencias de genes del rRNA**. Para cada dominio se muestran tan solo unos cuantos organismos clave. De los tres dominios, dos (bacterias y arqueas) incluyen tan sólo organismos que carecen de un núcleo delimitado por membrana (células procariotas, Sección 2.5).

www.medilibros.com

La existencia de genes comunes en bacterias, arqueas, y eucariotas plantea una pregunta interesante. Si estos linajes divergieron hace tanto tiempo a partir de un ancestro comun, ¿cómo es que comparten tantos genes? Una hipótesis es que muy pronto en la historia de la vida, y antes de que los dominios principales se hubieran separado, se produjo una extensa actividad de transferencia horizontal de genes (Sección 13.11). Durante todo este tiempo aquellos genes codificadores de proteinas que representaban una importante adaptación, como por ejemplo los genes implicados en las funciones celulares de transcripción y traducción, se distribuyeron promiscuamente entre las poblaciones de organismos derivados de la célula ancestral común. Si esta hipótesis fuera cierta explicaría por qué toda célula, independientemente del dominio al que pertenezca, posee numerosos genes en común responsables de funciones básicas como han demostrado los análisis genómicos, como se esperaría si toda célula proveniera de un ancestro común (**Figura 14.16**).

Pero ¿qué pasa entonces con todas las diferencias genéticas que se observan al analizar genomas completos? La hipótesis continúa proponiendo que con el paso del tiempo se desarrollaron barreras frente a la transferencia horizontal, quizás como resultado de la colonización selectiva de ciertos hábitats (con el consecuente aislamiento reproductivo) o como resultado de barreras estructurales o enzimáticas (por ejemplo, las endonucleasas de restricción) que de alguna manera evitaban el libre intercambio de genes. Como consecuencia, las poblaciones iniciales genéticamente promiscuas iniciales fueron separándose lentamente en las líneas principales de progreso evolutivo, las bacterias y arqueas (**Figura 14.16**). Conforme cada linaje fue evolucionando, ciertas características biológicas quedaron fijadas en cada uno de los grupos. Actualmente y después de unos 4.000 millones de años de evolución microbiana (**Figura 14.7**) podemos admirar el resultado: tres dominios de vida celular que por un lado comparten numerosas características comunes pero a la vez muestran sus propias historias evolutivas distintivas.

Bacterias

Hasta el momento se han descubierto entre las bacterias al menos 80 grupos evolutivos principales (denominados *filums*, en singular *filum*, o divisiones); algunos de los más importantes aparecen en el árbol universal de la **Figura 14.16.** Muchos grupos se han definido exclusivamente a partir de secuencias medioambientales de campo (Sección 14.9). Algunos de los linajes dentro del dominio bacterias son aquellos definidos previamente por alguna característica fenotípica de tipo morfológico o fisiológico; las espiroquetas (Sección 16.16) y las cianobacterias (Sección 16.7) son buenos ejemplos de esta circunstancia. Pero la mayoría de los grupos principales en bacterias están formados por especies que, si bien están claramente relacionadas desde el punto de vista filogenético, carecen de una notable homogeneidad fenotípica. Las proteobacterias son un buen ejemplo de esta circuns-

tancia; la mezcla de fisiologías que se puede ver en este grupo incluye todas las formas conocidas de fisiológía microbiana. Esto muestra claramente que fisiología y filogenía no están necesariamente asociadas.

Los orgánulos eucariotas sin duda se originaron a partir del dominio bacterias. Como queda reflejado en el árbol universal las mitocondrias surgieron de las proteobacterias, uno de los grupos principales dentro de bacterias (**Figura 14.16**), más específicamente de un pariente de *Rhizobium* y de las rickettsias. Es interesante resaltar que al igual que las mitocondrias estos organismos pueden vivir intracelularmente en las células de plantas (Secciones 24.14 y 24.15) o animales (Secciones 15.13 y 35.3). Los cloroplastos provienen del filum de las cianobacterias (**Figuras 14.10** y **14.16**), como era previsible ya que tanto las cianobacterias como el cloroplasto llevan a cabo fotosíntesis oxigénica (Sección 20.5).

Arqueas

Desde una perspectiva filogenética el dominio arqueas está formado por dos grupos, las Crenarchaeotas y las Euryarchaeotas (**Figura 14.16**). Las Crenarchaeotas hipertermófilas como *Thermoproteus*, *Pyrolobus*, y *Pyrodictium* se ramifican del árbol universal muy cerca de su raíz (**Figura 14.16**). Les siguen las Euryarchaeotas, las arqueas productoras de metano (metanogénicas) y los halófilos extremos; *Thermoplasma*, un miembro de las arqueas termófilo y acidófilo y que carece de pared celular está relacionado de modo lejano con este último grupo (**Figura 14.16**).

Algunas ramas del linaje de las crenarchaeotas (**Figura 14.16**, y **Figura 17.1**) están definidas exclusivamente a partir de secuencias de genes ribosómicos obtenidas en muestreos de campo (Secciones 14.9, 13.13, y 22.6). Resulta interesante que estas secuencias se hayan obtenido de organismos que habitan en el océano, incluyendo las aguas antárticas donde las temperaturas son mucho más frías que en las fuentes hidrotermales del fondo marino u otros manantiales termales, que son los hábitats característicos del resto de las crenarchaeotas (Sección 17.9). Otras secuencias de las crenarchaeotas se han obtenido de muestreos de campo de suelo o aguas lacustres. Hablaremos con más detalle de las crenarchaeotas adaptadas al frío en la Sección 17.12.

Eucariotas

Los árboles filogenéticos de las especies del dominio eucariotas se generan mediante el análisis comparativo de secuencias del gen del 18S rRNA, que es el equivalente funcional del gen del 16S rRNA. eucariotas incluye una enorme diversidad de organismos. En un extremo encontramos a los microsporidios y diplomónadas unicelulares, parásitos obligados que viven en asociación con representantes de varios grupos de eucariotas (por ejemplo el patógeno *Giardia* del que se habla en el Capítulo 18 es un miembro del grupo de las diplomónadas) y disponen de mitocondrias degeneradas (hidrogenosomas y mitosomas, Sección 18.4). En el otro extremo están los organismos pluricelulares, incluyendo las plantas y los animales, los mayores y estructuralmente más complejos de los eucariotas.

Cuando se compara el registro fósil con el árbol filogenético de los eucariotas, puede identificarse el inicio de una rápida radiación evolutiva hace unos 2.000 millones de años. Los datos geoquímicos sugieren que este es el período en la historia de la Tierra en el que se habrían acumulado niveles significativos de oxígeno en la atmósfera (Figura 14.7). Por tanto, es probable que el inicio de las condiciones aerobias y el subsecuente desarrollo de la capa de ozono (que habría expandido notablemente el número de hábitats colonizables) fuese el desencadenante de la rápida diversificación de los eucariotas. Analizaremos los grupos principales de eucariotas y su biología en el Capítulo 18.

Características diferenciales de los dominios de la vida

Aunque los dominios principales (bacterias, arqueas, y eucariotas) se establecieron en base a la comparación de las secuencias de sus RNA ribosómicos —criterios genéticos— cada uno de estos dominios puede también caracterizarse conforme a diversas características fenotípicas. La **Tabla 14.1** enumera características que asocian a los eucariotas bien con bacterias o bien con arqueas. Algunas características que diferencian a los eucariotas de bacterias y arqueas están enumeradas en la **Tabla 14.2**. Los Capítulos 4, 8, y 18 proporcionan información adicional sobre dichas características.

14.8 Minirrevisión

La vida en la Tierra ha evolucionado a lo largo de tres líneas fundamentales, los dominios bacterias, arqueas, y eucariotas. Cada dominio incluye varios grupos evolutivos principales.

- ¿En qué se diferencia el árbol de la vida basado en el SSU rRNA de la división en cinco reinos?
- ¿Qué tipo de pruebas apoyan el concepto de los tres dominios de la vida?
- ¿De qué manera apoya el árbol universal de la vida la hipótesis de la endosimbiosis? (Figura 14.10)?

14.9 Aplicaciones de los métodos filogenéticos basados en el SSU rRNA

La secuenciación de genes de SSU rRNA ha dado lugar a numerosas herramientas de investigación que aplican esta tecnología. Estas herramientas incluyen las secuencias firma (signature sequences) y las sondas de rRNA

Tabla 14.2 Aspectos fundamentales que diferencian bacterias y arqueas de eucariotas[a]

Características	*bacterias*	*arqueas*	*eucariotas*
Morfológicas y Genéticas			
Estrutura celular procariota	Si	Si	No
DNA presente en forma circular covalentemente cerrada	Si	Si	No
Núcleo rodeado de membrana	Ausente	Ausente	Presente
Ribosomas (masa)	70S	70S	80S
Intrones en la mayoría de los genes	No	No	Si
Operones	Si	Si	No
mRNA con CAP y poli-A	No	No	Si
Plásmidos	Si	Si	Raramente
Fisiológicas/estructuras especiales			
Reducción de S^0 o SO_4^{2-} de H_2S, o Fe^{3+} de Fe^{2+}	Si	Si	No
Nitrificación	Si	No[b]	No
Desnitrificación	Si	Si	No
Fijación de nitrógeno	Si	Si	No
Metabolismo energético basado en la rodopsina	Si	Si	No
Quimiolitotrófia (Fe, S, H_2)	Si	Si	No
Vesículas gaseosas	Si	Si	No
Síntesis de gránulos de almacenamiento de carbono compuestos de poli-β-hidroxialcanoatos	Si	Si	No
Crecimiento por encima de 70°C	Si	Si	No

[a] Obsérvese que para muchas de estas características sólo algunos representantes del dominio muestran dicha propiedad.

[b] Estudios de genómica ambiental en aguas marinas de bacterias y arqueas sugieren que existen las arqueas nitrificantes (Sección 22.6).

www.medilibros.com

para su uso en ecología microbiana y diagnostico médico, y los métodos de tipificación bacteriana basados en el gen del SSU rRNA.

Secuencias firma

El análisis informático de las secuencias de rRNA han descubierto las **secuencias firma**, secuencias oligonucleotídicas específicas de ciertos grupos de organismos, por ejemplo para cada uno de los dominios de la vida celular. Además, mediante el análisis informático de alineamientos de secuencia pueden definirse secuencias firma características de grupos específicos dentro de un determinado dominio y en algunos casos hasta de un género o especie en particular. Grácias a su especificidad, las secuencias firma resultan muy útiles. Pueden, por ejemplo, ayudar a clasificar organismos aislados recientemente o previamente mal clasificados en su grupo filogenético correspondiente. De todos modos el uso más habitual de las secuencias firma es el diseño de sondas de ácidos nucleicos específicas.

Sondas filogenéticas y FISH

Hay que recordar que una sonda es una cadena de ácido nucléico que una vez marcada puede utilizarse para que se hibride con su cadena complementaria en una mezcla de ácidos nucléicos (Sección 12.2). Las sondas pueden ser generales o específicas. Por ejemplo, las sondas universales de SSU rRNA están diseñadas para unirse a secuencias conservadas en el rRNA de cualquier organismo, independientemente del dominio al que pertenezca. Por el contrario, pueden diseñarse sondas específicas que reconozcan exclusivamente especies del dominio bacterias, gracias a secuencias firma que sólo se encuentran en su RNA. Del mismo modo pueden obtenerse sondas específicas que sólo reconozcan especies del dominio arqueas o eucariotas. También pueden diseñarse sondas **filogenéticas** que reconozcan grupos específicos dentro de un dominio, como determinadas familias, géneros o especies.

La unión de una sonda a los ribosomas de una célula puede observarse por microscopía si dicha sonda ha sido marcada con un marcador fluorescente. Si se tratan las células con los reactivos apropiados sus membranas se vuelven permeables y permiten la entrada de la mezcla de sonda-marcador. Al hibridar la sonda con el rRNA de los ribosomas las células se vuelven fluorescentes y pueden observarse bajo el microscopio de fluorescencia (**Figura 14.17**). Esta técnica se ha denominado **FISH** (*Fluorescence* In Situ *Hybridization* o hibridación fluorescente *in situ*) y puede aplicarse directamente a células en cultivo o en su medio ambiente natural (el término *in situ* significa «en su ambiente»). Básicamente, FISH es una tinción filogenética.

La tecnología FISH se emplea habitualmente en ecología microbiana y diagnóstico clínico. En ecología, el FISH se puede utilizar para la identificación y seguimiento microscópico directo de organismos en su medio

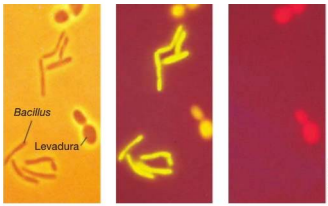


Figura 14.17 Sondas de rRNA marcadas por fluorescencia: tinciones filogenéticas. *(a)* Microfotografía de contraste de fase de células de *Bacillus megaterium* (bacilo, miembro de las bacterias) y la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (células ovales, eucariotas). *(b)* Mismo campo; células teñidas con una sonda rRNA amarilla verdosa universal (la sonda reacciona con especies de cualquier dominio) *(c)* El mismo campo: células teñidas con una sonda para eucariotas (solo reaccionan las células de S. *cerevisiae*). Las células de B. *megaterium* tienen un diámetro aproximado de 1,5 μm, y las de S. *cerevisiae* tienen un diámetro aproximado de 6 μm.

ambiente natural. El FISH también proporciona un método para estimar la composición de comunidades microbianas mediante la observación directa con el microscopio (Sección 22.4). En diagnóstico clínico el FISH se ha utilizado para la identificación rápida de patógenos específicos de muestras clínicas. Esta técnica obvia la necesidad de hacer crecer el organismo en cultivo puro. En su lugar, el análisis microscópico de una muestra puede confirmar la presencia de un determinado patógeno. Desde un punto de vista clínico puede agilizar el diagnóstico y tratamiento de un paciente que sufra una infección microbiana. En contraposición, las técnicas de aislamiento e identificación suelen tardar un mínimo de 24 horas, y en ocasiones mucho más.

Análisis de comunidades microbianas

Los genes de rRNA amplificados por PCR no necesitan proceder de un cultivo puro crecido en el laboratorio. Utilizando las técnicas descritas en detalle en el Capítulo 22 se puede obtener una instantánea filogenética de una comunidad microbiana natural mediante el uso de la PCR para amplificar los genes de SSU rRNA de los miembros de dicha comunidad. Dichos genes pueden ser fácilmente separados, secuenciados y alineados. A partir de estos datos puede generarse un árbol filogenético de estas muestras «ambientales» que nos muestre los distintos genes de rRNA presentes en la comunidad. A partir de este árbol podremos deducir los organismos presentes en la muestra sin necesidad de que hayan sido cultivados o identificados de otro modo. Este tipo de análisis de comunidades microbianas, como han venido a llamarse, constituyen un notable avance en la investigación actual sobre ecología microbiana, y han permitido descubrir numerosas características esenciales sobre estructura de las comunidades microbianas y sus correspondientes interacciones.

Ribotipado

La información proveniente del análisis filogenético basado en secuencias de rRNA también ha encontrado aplicación en la técnica de identificación bacteriana denominada **ribotipado**. A diferencia de los métodos de comparación de secuencias, el ribotipado no requiere secuenciación. En su lugar, analiza los patrones específicos de bandas, o huella de DNA (*DNA fingerprint*), que se obtienen cuando el DNA de un organismo se digiere con una enzima de restricción, y los fragmentos resultantes se separan y se hibridan con la sonda correspondiente a un gen de rRNA (**Figura 14.18**). Las diferencias en la secuencia del 16S rRNA de los distintos organismos se traducen en la presencia o ausencia de sitios de corte reconocidos por las distintas enzimas de restricción (la Sección 12.1 incluye información sobre enzimas de restricción). El patrón de bandas de DNA, o ribotipado, de una especie bacteriana cualquiera es por tanto único y de valor diagnóstico, ya que permite la distinción entre especies (**Figura 14.18**) y también entre cepas de una misma especie, siempre y cuando haya diferencias entre las secuencias de sus correspondientes genes de SSU rRNA.

En la práctica, el ribotipado implica la digestión del DNA de la bacteria con una o más enzimas de restricción y la separación de los fragmentos resultantes mediante electroforésis en gel. Los fragmentos separados de DNA se transfieren a una membrana de nylon y se hibridan con una sonda marcada de rRNA (Sección 12.2). El patrón generado por los fragmentos de DNA en el gel se digitaliza, y se lleva a cabo una comparación por ordenador de dicho patrón con los patrones de referencia de otros microorganismos disponibles en base de datos (Figura 14.18). El ribotipado es muy específico y muy rápido (ya que evita la necesidad de secuenciación, alineamiento y otros requisitos para el análisis filogenético). Por estas razones el ribo-

Figura 14.18 Ribotipado. Resultados del ribotipado de cuatro bacterias lácticas diferentes. Cada especie presenta un patrón distintivo de los fragmentos de DNA generados por la digestión con enzimas de restricción del DNA obtenido de una colonia de cada bacteria y hibridado con una sonda del gen del 16S rRNA. Las variaciones tanto en la posición como en la intensidad de las bandas son importantes para la identificación.

tipado ha encontrado muchas aplicaciones en la identificación bacteriana para diagnóstico clínico y para el análisis microbiológico de alimentos, agua, y otras bebidas.

14.9 Minirrevisión

El análisis filogenético de genes de SSU rRNA ha llevado al desarrollo de herramientas de investigación muy útiles en ecología y medicina.

- ¿Qué son las secuencias firma?
- Cómo se hacen visibles al microscopio las sondas de oligonucleótidos? ¿Cómo se llama esa tecnología?
- ¿Qué tipo de preguntas podemos hacernos respecto al análisis de comunidades microbianas?
- ¿Cómo pueden distinguirse diferentes bacterias mediante ribotipado?

III SISTEMÁTICA MICROBIANA

La **sistemática** es el estudio de la diversidad de los organismos y sus relaciones mutuas. Asocia la filogenia, que acabamos de discutir, con la **taxonomía**, en la que los organismos son caracterizados, nombrados y agrupados conforme a sus relaciones naturales. La taxonomía bacteriana tradicionalmente ha estado centrada en aspectos prácticos de identificación y descripción, y ambas actividades se han basado fundamentalmente en comparaciones fenotípicas. Actualmente, el uso creciente de información genética, especialmente información de secuencia de DNA, está permitiendo a la taxonomía reflejar cada vez más las relaciones filogenéticas. Como Charles Darwin comentó en su famosa monografía *El origen de las especies*, idealmente «Nuestras clasificaciones llegarán a ser, hasta aquel punto en el que puedan serlo, genealogías». En las siguientes secciones, consideraremos elementos básicos de taxonomía bacteriana —la identificación de las bacterias, el concepto de especie, y la clasificación y nomenclatura bacterianas.

La taxonomía bacteriana ha cambiado substancialmente en las últimas décadas, incorporando nuevos métodos de identificación de bacterias y criterios adicionales para la descripción de nuevas especies. Este acercamiento polifásico a la taxonomía utiliza tres tipos de métodos, fenotípicos, genotípicos y filogenéticos, para la identificación y descripción de las bacterias. El análisis fenotípico examina las características morfológicas, metabólicas, fisiológicas y químicas de la célula. El análisis genotípico considera aspectos comparativos de las células al nivel de su genoma. Estos dos tipos de análisis agrupan a los organismos según sus parecidos. Se complementan con el análisis filogenético, que intenta colocar a los organismos en el marco de sus relaciones evolutivas. La taxonomía polifásica también considera cada vez más la importancia de la información sobre el hábitat de cada bacteria y su ecología.

14.10 Análisis fenotípico

Las características observables de una bacteria proporcionan numerosos rasgos que pueden utilizarse para diferenciar entre especies. Habitualmente, al describir una nueva especie o al intentar identificar una bacteria en particular, se analizan varios de estos rasgos de la cepa o cepas de interés. Los resultados se comparan con los de organismos control conocidos, bien analizados en paralelo con los organismos a determinar o bien consultando información ya publicada. Los rasgos específicos a considerar dependen normalmente del tipo de organismo, y cuáles de estos rasgos se seleccionan para su ensayo puede depender de los propósitos del investigador o de conocimientos previos relativos al grupo bacteriano al que se supone puede pertenecer el organismo en cuestión.

Por ejemplo, en cuestiones aplicadas como el diagnóstico clínico microbiológico, donde la identificación puede ser un fin en sí mismo y la velocidad puede ser un elemento esencial, se suele emplear un subgrupo de rasgos bien definidos que discrimina rápidamente entre las identificaciones más probables. La **Tabla 14.3** enumera categorías generales y ejemplos de rasgos fenotípicos que se utilizan en la identificación y descripción de especies, y examinaremos aquí uno de estos ejemplos.

Análisis de ácidos grasos: FAME (Técnica del ester metílico de los ácidos grasos)

Los tipos y las proporciones relativas de ácidos grasos presentes en la membrana citoplásmica y los lípidos de la membrana externa (bacterias gramnegativas, Secciones 4.3 y 4.7) de las células son rasgos fenotípicos esenciales. La técnica empleada para caracterizar estos ácidos grasos se denomina **FAME** (*Fatty Acid Methyl Ester*, técnica del éster metílico de los ácidos grasos) y su uso está muy extendido en laboratorios clínicos, de salud pública, y de análisis de agua y alimentos, en los que la identificación de patógenos u otros riesgos relacionados con bacterias deben llevarse a cabo de manera rutinaria. También se emplea habitualmente en la caracterización de nuevas especies bacterianas.

La composición de ácidos grasos puede variar tremendamente entre las distintas bacterias, lo que incluye diferencias en la longitud de cadena, presencia o ausencia de dobles enlaces, anillos, cadenas ramificadas, o grupos hidróxilo (**Figura 14.19a**). Por tanto, un perfil de ácidos grasos puede a menudo identificar una especie bacteriana. Para su análisis, los ácidos grasos extraidos de cultivos bacterianos cultivados en condiciones estándar se modifican para formar sus ésteres metílicos correspondientes. Estos derivados volátiles se identifican por cromatografía de gases. El cromatograma que muestra los tipos y cantidades de ácidos grasos de la bacteria desco-

Tabla 14.3 Algunas características fenotípicas de valor taxonómico

Categoría principal	*Componentes*
Morfología	Morfología de la colonia; reacción a tinción Gram; tamaño y forma de la célula; patrón de distribución flagelar; presencia de esporas, cuerpos de inclusión (e.j. gránulos de PHBa, vesículas gaseosas; magnetosomas); pedúnculos o apéndices; formación de cuerpo fructificante
Movilidad	No móvil; movilidad por deslizamiento; movilidad natatoria por flagelos; en enjambre (*swarming*); movilidad por vesículas gaseosas
Metabolismo	Mecanismos de conservación de la energía (fotótrofo, quimioorganótrofo, quimiolitótrofo); utilización de compuestos de carbono, nitrógeno, o azufre; fermentación de azucares; fijación de nitrógeno; requerimiento de factores de crecimiento
Fisiología	Rangos de temperatura, pH, y sales para su crecimiento; respuesta al oxígeno (aeróbico, facultativo, anaeróbico); presencia de catalasa u oxidasa; producción de enzimas extracelulares
Química celular	Ácidos grasos; lípidos polares; quinonas respiratorias
Otros aspectos	Pigmentos; luminiscencia; sensibilidad a antibióticos

[a] PHB, poli-β-hidroxibutírico (Sección 4.10).

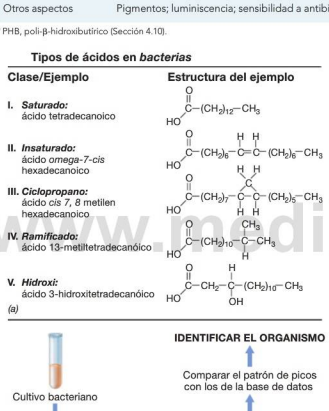


Figura 14.19 Análisis FAME (*Fatty Acid Methyl Ester*) para la identificación de bacterias. *(a)* Clases de ácidos grasos en bacterias. Se da un solo ejemplo para cada clase, pero de hecho se han descubierto más de 200 ácidos grasos distintos de origen bacteriano. Un éster metílico se compone de un grupo metilo (CH_3) en lugar del protón en el grupo carboxilo (COOH) del ácido graso. *(b)* Método. Cada pico de la cromatografía de gases representa un éster metílico de ácido graso específico, y la altura del pico es proporcional a su cantidad.

nocida se compara con la base de datos de perfiles de ácidos grasos de miles de bacterias de referencia cultivadas en las mismas condiciones. Son seleccionados los perfiles más parecidos al perfil problema (**Figura 14.19b**).

Como rasgo fenotípico para la identificación y descripción de especies, FAME presenta algunos inconvenientes. Particularmente, el análisis FAME requiere una estricta estandarización porque el perfil de ácidos grasos de cualquier organismo, como tantos otros rasgos fenotípicos, puede variar en función de la temperatura, fase de crecimiento (exponencial frente a estacionaria), y a menor nivel con el medio de cultivo. Por tanto para conseguir resultados repetitivos es necesario cultivar el organismo a determinar en un medio y una temperatura específicos para poder comparar su perfil de ácidos grasos con los de los organismos de la base de datos que se han cultivado en las mismas condiciones. Por supuesto esto no es posible para muchos organismos, y por tanto el uso del análisis FAME se limitan a aquellos organismos que pueden crecer en las condiciones estandarizadas. Además, todavía no está bien documentado el grado de variación entre los perfiles FAME de cepas individuales en una misma especie, una información importante en aquellos estudios que pretendan discriminar entre especies.

14.10 Minirrevisión

La sistemática es el estudio de la diversidad y de las relaciones de parentesco entre organismos vivos. La taxonomía polifásica se basa en información fenotípica, genotípica y filogenética. Algunos rasgos fenotípicos con valor taxonómico incluyen morfología, movilidad, metabolismo y química de la célula, especialmente el análisis de lípidos.

- ¿Qué es el análisis FAME?
- ¿Cuáles son algunos de las desventajas del análisis FAME?
- ¿Son estas desventajas comunes a otros tipos de rasgos fenotípicos?

www.medil

14.11 Análisis genotípico

El análisis comparativo de genomas también proporciona numerosos rasgos que permiten discriminar distintas especies bacterianas. El análisis genotípico presenta un especial atractivo para la taxonomía microbiana porque proporciona una visión a nivel del DNA. Se emplean diversos métodos para el análisis genotípico (enumerados en la **Tabla 14.4**) según las preguntas planteadas, siendo la hibridación DNA-DNA y el uso de perfiles de DNA las técnicas de uso más habitual en taxonomía microbiana

Hibridación DNA-DNA

Cuando dos organismos comparten muchos genes muy parecidos (o idénticos), es de esperar que sus DNA se hibriden el uno con el otro en proporción equivalente a la similitud entre sus secuencias genómicas. De este modo, la medida de la **hibridación DNA-DNA** entre los genomas de dos organismos proporciona un índice aproximado de su parecido mutuo. La hibridación DNA-DNA es por tanto una útil técnica para diferenciar organismos, complementaria a la secuenciación de los genes de SSU rRNA.

Discutimos la teoría y metodología de la hibridación de ácidos nucléicos en las Secciones 7.2 y 12.2. En un experimento de hibridación el DNA genómico aislado de un organismo se marca radioactivamente con ^{32}P o ^{3}H, se fragmenta en pequeños trozos, se calienta para separar las dos cadenas complementarias y se mezcla con un exceso de DNA del segundo organismo, preparado de modo similar al del primero pero sin marcar (**Figura 14.20**). La mezcla de DNA se deja enfriar para que las cadenas simples se reasocien por complementariedad. El DNA de doble cadena se separa del DNA restante sin hibridar.

Tabla 14.4 Algunos métodos genotípicos utilizados en taxonomía bacteriana

Método	*Descripción/Aplicación*
Hibridación DNA–DNA	Comparación de similitud de genomas. Útil para diferenciar especies dentro de un genero
Perfil de DNA	Ribotipado (Sección 14.9), AFLP, rep-PCR. Métodos rápidos para diferenciar entre especies y entre cepas dentro de una misma especie
MLST	Tipado de cepas utilizando las secuencias de DNA de múltiples genes. Alta resolución, útil para diferenciar cepas muy cercanas dentro de una misma especie
Contenido GC	Porcentaje de pares de bases de guaninas más citosinas en el genoma. Es menos común en taxonomía porque tiene una resolución pobre. Si el porcentaje de GC de dos organismos difiere en más de un 5%, estos no pueden estar muy emparentados, pero organismos con porcentajes GC muy similares o incluso idénticos pueden no tener relación alguna

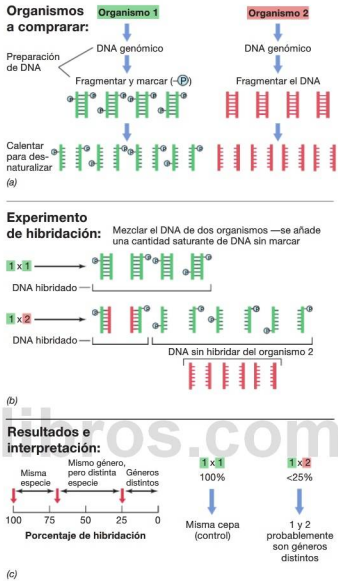


Figura 14.20 Hibridación genómica como herramienta taxonómica. *(a)* Se aísla DNA genómico de los organismos analizados. Uno de los DNA se marca (aquí mostrado con un fosfato radioactivo en el DNA del organismo 1). *(b)* Se añade DNA sin marcar en exceso para evitar que el DNA marcado se empareje consigo mismo. Después de la hibridación el DNA hibridado se separa del DNA sin hibridar, para medir tan solo la radiactividad del DNA que ha hibridado. *(c)* La radiactividad en el control (DNA del organismo 1 hibridándose consigo mismo) se toma como el valor 100% de hibridación.

Después de todo este proceso, se mide la cantidad de radiactividad en el DNA de cadena doble y se compara con el control, cuya medida de radiactividad se toma como el 100% (Figura 14.20).

La hibridación DNA-DNA es un método sensible para revelar diferencias sutiles entre los genomas de dos organismos y por tanto a menudo resulta útil para distinguir organismos muy parecidos. Aunque no hay un acuerdo sobre que nivel de hibridación entre dos DNAs es necesa-

rio para asignar a dos organismos al mismo grupo taxonómico, se recomiendan valores de hibridación iguales o mayores del 70% para considerar que dos cepas son de la misma especie. Por el contrario, se requieren valores de cómo mínimo un 25% para proponer que dos organismos pertenecen al mismo género. Los DNAs de organismos menos emparentados como por ejemplo *Clostridium* (grampositivo) y *Salmonella* (gramnegativo) hibridan a niveles que se consideran ruido de fondo, iguales o menores al 10% (**Figura 14.21**).

Métodos de perfiles de DNA

Se pueden emplear diversos métodos para generar patrones de fragmentos de DNA para el análisis de similaridad genotípica entre cepas bacterianas. Uno de estos métodos, el ribotipado, se ha descrito en la Sección 14.9 entre las aplicaciones del análisis de secuencias de SSU rRNA. Otros métodos utilizados habitualmente para el genotipado rápido de bacterias incluyen la rep-PCR (*repetitive extragenic palindromic* PCR o secuencias palindrómicas extragénicas repetitivas) y el AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism* o polimorfismo en la longitud de fragmentos amplificados). A diferencia del ribotipado, que se centra en un solo gen, la rep-PCR y el AFLP analizan las variaciones en la secuencia de DNA en el genoma completo.

El método de la rep-PCR se basa en la existencia de elementos muy conservados de DNA repetitivo distribuidos aleatoriamente en el cromosoma bacteriano. El número y la posición de dichos elementos difiere entre cepas de especies cuyas secuencias han divergido. Usando cebadores oligonucleotídicos diseñados para que sean complementarios a la secuencia de dichos elementos repetitivos es posible la amplificación por PCR de distintos fragmentos genómicos, generando un patrón de bandas de DNA genómico. Este patrón es diferente en distintas cepas, produciendo una huella de DNA específica para cada cepa (**Figura 14.22**)..

El AFLP se basa en la digestión de DNA genómico con una o dos enzimas de restricción y la amplificación selectiva de los fragmentos resultantes, que posteriormente se separan por electroforesis en gel de agarosa. De este modo se generan patrones de bandas específicos de cepa del estilo de los obtenidos por rep-PCR o culaquier otro

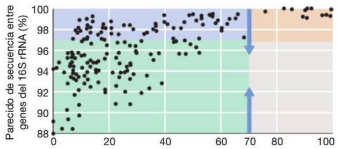


Figura 14.21 Relación entre el parecido en secuencia de los genes del 16S rRNA y la hibridación de DNA genómicos para distintas parejas de organismos. Estos datos son el resultado de varios experimentos independientes entre varias especies del dominio bacterias. Los puntos en la caja naranja representan combinaciones para las cuales tanto el parecido de secuencia de los genes del 16S rRNA como la hibridación genómica son ambos muy altos; así que en cada uno de estos casos los dos organismos ensayados pertenecen claramente a la misma especie. Los puntos en la caja verde representan combinaciones que muestran especies diferentes según ambos métodos. La caja azul muestra ejemplos de organismos que parecen especies diferentes según la hibridación DNA-DNA entre genomas, pero no por sus secuencias de los genes del 16S rRNA. Observe que por encima de una hibridación DNA-DNA del 70% no se encuentra un parecido menor del 97% entre genes del 16S rRNA.
Tomado de Roselló-Mora R. y R. Amann, 2001. *FEMS Microbiol. Revs.* 25:39-67.

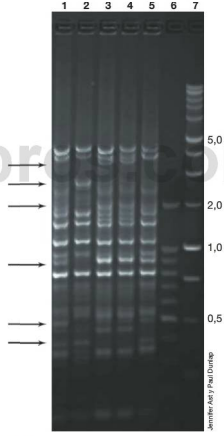


Figura 14.22 Huella de DNA utilizando Rep-PCR. Los DNA genómicos de cinco cepas (1-5) de una misma especie bacteriana se amplificaron por PCR utilizando los cebadores REP (*Secuencias palindrómicas extragénicas repetitivas*) REP1R-I (5'-IIIICGICGICATCIGGC-3') y REP2-I (5'-ICGICTTATCIGGCCTAC-3'), y los productos de PCR se separaron según su tamaño mediante electroforésis en gel para generar sus huellas de DNA (en los cebadores que se muestran «I» puede ser cualquier nucleótido). Las flechas marcan algunas de las distintas bandas en cada cepa. Las cepas 3 y 4 tienen perfiles de DNA muy parecidos. Los carriles 6 y 7 muestran marcadores de tamaño de DNA que marcan incrementos de 100-pb y 1-Kpb respectivamente, y que se utilizan para estimar los tamaños de los fragmentos de DNA.

www.elibro.com

método de huella de DNA (*DNA fingerprinting*), cuyo elevado número de bandas proporciona un grado muy elevado de discernimiento entre cepas de una misma especie. Una técnica similar al AFLP denominada T-RFLP se emplea habitualmente en el análisis filogenético de comunidades microbianas naturales (Sección 22.5)

Análisis de secuencias multilocus

Una de las limitaciones del análisis de secuencias de genes de RNA ribosomal y del ribotipado (limitación que no comparten las técnicas de tipificación de cepas por rep-PCR o AFLP) es que estos análisis se centran en un solo gen, por lo que la información obtenida podría no ser suficiente para discriminar de modo inequívoco entre cepas bacterianas. El **análisis de secuencias multilocus** (**MLST**) evita este problema y constituye una técnica muy poderosa para caracterizar distintas cepas dentro de una misma especie.

El MLST implica la secuenciación de varios genes de mantenimiento básico celular de un determinado organismo, y comparar sus secuencias con los genes equivalentes de otra cepa del mismo organismo. Hay que recordar que los genes de mantenimiento básico codifican funciones esenciales de las células y se localizan más en el cromosoma que en los plásmidos (Sección 7.4). De cada gen se amplifican por PCR aproximadamente 450-bp, que luego se secuencian. Las secuencias de nucleótidos obtenidas se comparan y se toma nota de las diferencias. Cada diferencia, o variante de secuencia, es considerada como un **alelo** del gen y se le asigna un número. Por tanto a cada cepa se le asignan una serie de números que constituyen su perfil alélico, en otras palabras su tipificación de secuencia *multilocus*. En la técnica del MLST dos cepas con secuencias idénticas en un determinado gen tendrán asignado el mismo número alélico para dicho gen, y dos cepas con secuencias idénticas en todos sus genes tendrán el mismo perfil alélico (y por tanto se considerarán idénticas según este método). El grado de relación entre los distintos perfiles alélicos se representa en forma de un dendrograma expresando las distancias entre cepas que varía desde 0 (cepas idénticas) hasta 1 (cepas poco relacionadas) (**Figura 14.23**).

El MLST tiene resolución suficiente para distinguir incluso entre cepas muy cercanas. En la práctica, dos cepas pueden distinguirse en base a un único cambio nucleotídico en uno sólo de los distintos genes analizados. Sin embargo, el MLST no es útil para comparar organismos más allá del nivel de especie; su nivel de resolución es excesivo para proporcionar información significativa respecto a grupos de mayor nivel, es decir, genero o familia.

El MLST ha tenido un gran impacto en la microbiología. En microbiología clínica ha permitido diferenciar entre cepas de un mismo patógeno. Esto es algo muy importante porque ciertas cepas de una misma especie —por ejemplo, *Escherichia coli K*-12—pueden ser inofensivas, mientras que otras, como la cepa O157:H7, pueden causar enfermedades muy graves e incluso mortales (Sección 37.8). El MLST también es muy útil para estudios epidemiológicos, para rastrear una cepa virulenta de un determinado patógeno conforme se extiende por una población, y para estudios medioambientales, para definir la distribución geográfica de distintas cepas.

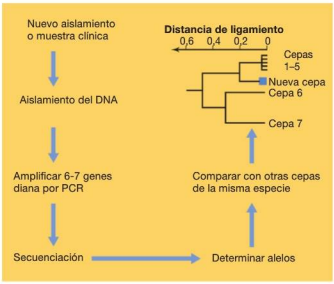


Figura 14.23 **MLST**. Se muestran los distintos pasos que se siguen en un MLST para conseguir un fenograma de similaridad. Las cepas 1-5 son virtualmente idénticas, mientras que las cepas 6 y 7 son diferentes entre sí y también de las cepas 1-5.

Los análisis mediante MLST también han revelado algunos patrones interesantes en bacterias. Por ejemplo, algunas bacterias, como *Staphylococcus aureus*, muestran muy poca variación en análisis MLST, mientras que otros organismos como *Neisseria meningiditis* muestran una gran variabilidad. Esto implica que organismos como *N. meningitidis* han experimentado un flujo mucho mayor de transferencia horizontal de genes (Sección 13.11) que *S. aureus*, o bien que sus genes acumulan mutaciones a un ritmo mucho mayor.

Proporción GC

Otro método empleado para comparar y describir bacterias es el análisis de sus proporciones en contenido **GC**. La proporción GC es el porcentaje de guanina más citosina en el DNA genómico de un organismo. Las proporciones GC fluctuan dentro de un rango considerable, desde valores tan bajos como el 20% hasta valores tan altos como casi el 80% entre bacterias y arqueas, un rango que es algo más reducido entre los eucariotas. En general, se considera que si la proporción GC de dos organismos difiere en más de un 5%, es que comparten pocas secuencias de DNA en común y por tanto es poco probable que estén muy emparentados. De todos modos dos organismos pueden tener proporciones GC idénticas y sin embargo estar muy poco emparentados, ya que a partir de una composición de bases muy similar se pueden

obtener secuencias nucleotídicas muy diferentes. De modo que proporciones GC idénticas resultan engañosas desde un punto de vista taxonómico. Como cada vez resulta más fácil obtener información de secuencia, el análisis de las proporciones GC puede ver reducida su importancia en el futuro de la taxonomía bacteriana.

14.11 Minirrevisión

El análisis genotípico analiza distintos rasgos del genoma. Las especies bacterianas pueden diferenciarse genotípicamente mediante la hibridación DNA-DNA y sus perfiles de DNA.

- ¿En qué consiste la huella de DNA y cómo resulta útil para diferenciar bacterias?
- Un grado de hibridación menor del 25% entre los DNA de dos organismos indica que son_____
- ¿En qué se diferencian AFLP y MLST del ribotipado?

14.12 Análisis filogenético

Los datos filogenéticos se usan cada vez más en taxonomía bacteriana para complementar la información fenotípica y genotípica. Además, el análisis filogenético permite encuadrar a los organismos en un sistema de clasificación estructurado conforme a sus relaciones evolutivas, lo que constituye un objetivo esencial de la sistemática microbiana. Por tanto, los datos filogenéticos son un componente clave de la moderna taxonomía polifásica. Habiendo comenzado con genes individuales como el del SSU rRNA, el análisis filogenético está empezando a utilizar las secuencias de múltiples genes para identificar y describir organismos. Conforme las secuencias de genomas completos comienzan a hacerse habituales, toda la información generada ya esta contribuyendo a la taxonomía microbiana.

Análisis de genes individuales

Las comparaciones de secuencia de genes individuales pueden proporcionar información valiosa para la taxonomía. El gen del 16S rRNA por ejemplo, cuya relevancia en filogenia microbiana fue descrita en la Sección 14.6, también ha demostrado ser excepcionalmente útil en taxonomía, utilizándose como una «piedra de toque» para la identificación y descripción de nuevas especies.

En general se considera que una bacteria cuyo gen del 16S rRNA difiere en sus secuencia en más de un 3% de la de otros organismos debe ser considerada como una nueva especie. Esta propuesta se apoya en la observación de que el DNA genómico de dos microorganismos cuyas secuencias para el gen del 16S rRNA son idénticas en menos del 97%, habitualmente se hibridan entre sí en menos del 70%, que es el valor mínimo para considerar a dos organismos como de la misma especie (**Figura 14.20**). La relación entre los dos métodos se representa en la **Figura 14.21**. El valor de corte propuesto sirve como guía para discriminar entre cepas al nivel de especie, y proporciona información ampliamente utilizada para la descripción práctica de una nueva especie.

Respecto a qué constituye un género, el nivel inmediatamente superior en la jerarquía taxonómica (Sección 14.11), se considera una cuestión más abierta que para la especie, pero diferencias en la secuencia del gen del 16S rRNA superiores al 5% suelen tomarse como un elemento a favor de considerar a un organismo como parte de un nuevo género. Otros genes muy conservados tales como recA, que codifica una recombinasa, o gyrB, que codifica una DNA girasa, también pueden ser útiles para distinguir bacterias al nivel de especie.

Sin embargo la dependencia de la secuencia de un solo gen, tanto en taxonomía como en filogenia, puede tener riesgos. Por ejemplo, la poca divergencia del gen del 16S rRNA puede limitar su eficiencia en la discriminación de bacterias al nivel de especie. Este problema puede evitarse analizando genes con mayor grado de divergencia pero que sigan siendo fiables al reflejar las relaciones entre organismos, siempre que estén presentes en el grupo bacteriano a estudiar genes con estas características. Sin embargo, los genes son susceptibles de fenómenos de transferencia horizontal, lo que invalidaría cualquier conclusión taxonómica basada en su secuencia. Por estas razones, se utilizan cada vez más frecuentemente en taxonomía bacteriana y en filogenia estrategias basadas en múltiples genes.

Análisis de secuencias multigénicas

El uso de múltiples genes para identificar y describir bacterias puede evitar ciertos problemas inherentes al uso de genes individuales. El análisis de secuencias multigénicas es similar al MSLT, excepto en que siempre que es posible se tiende a obtener las secuencias completas de los genes y las comparaciones se realizan siguiendo métodos cladísticos. La secuenciación de una serie de genes no relacionados funcionalmente permite realizar un muestreo del genoma que resulta más representativo que el uso de un único gen, y también permite detectar eventos de transferencia génica horizontal, y excluir dichos genes del análisis. Por tanto, las descripciones taxonómicas basadas en múltiples genes proporcionan una medida más fiable de las relaciones sistemáticas de bacterias.

Análisis basado en secuencias genómicas completas

El rápido progreso de la secuenciación de genomas completos de bacterias, arqueas, y eucariotas tiene el potencial para proporcionar nuevas herramientas para la taxonomía microbiana. En la actualidad se han secuenciado al completo más de 670 genomas, de los cuales más de 50 son de bacterias (Secciones 13.2 y 13.5). Además aproximadamente otros 2.300 proyectos de secuenciación de genomas están en marcha. Cuando el geno-

ma de una bacteria es secuenciado, se pueden emplear métodos informáticos para comparar sus genes con los de cualquier otro organismo secuenciado.

Las secuencias de genomas completos proporcionan numerosos rasgos para el análisis genotípico comparativo. Por ejemplo, grandes diferencias físicas en la estructura genómica entre especies tales como el tamaño y el número de cromosomas, su contenido GC, o si sus cromosomas son circulares o lineales, pueden tener valor taxonómico. El análisis comparativo del contenido génico (presencia o ausencia de genes) y el orden de dichos genes en el genoma sin duda proporcionará información de valor taxonómico, como también sucederá con el MSLT y el análisis filogenético de aquellos genes que estén presentes universalmente en los organismos de interés. Podemos imaginar un futuro no muy lejano en el que las descripciones de nuevas especies bacterianas incluirán, junto a la información fenotípica, genotípica, filogenética y ecológica, la correspondiente secuencia genómica.

14.12 Minirrevisión

Las aproximaciones filogenéticas a la taxonomía bacteriana pueden basarse en análisis de secuencia de genes individuales, de múltiples genes, y potencialmente del genoma completo. El análisis filogenético es un aspecto importante de la moderna taxonomía polifásica.

- ¿Qué limita el valor taxonómico del gen del 16S rRNA (o de cualquier otro gen)?
- ¿Porqué el gen RecA no es válido para el análisis filogenético en arqueas?
- ¿Qué diferencia el análisis filogenético multigénico del MSLT?

14.13 El concepto de especie en microbiología

Todavía no existe un concepto de **especie** aceptado universalmente para los procariotas. Hemos visto que la taxonomía microbiana combina información fenotípica, genotípica y de filogenia basada en secuencia, y que, como se discutirá en la siguiente sección, existen ciertas guías y estandares para separar las bacterias en especies independientes. Estas referencias y estandares proporcionan un marco eficiente para la descripción e identificación práctica de procariotas, pero no resuelven la pregunta de qué constituye una especie procariota.

Dado que la especie es la unidad fundamental de la diversidad biológica, esta cuestión es importante en lo que respecta a nuestra percepción del mundo microbiano y nuestra interacción con dicho mundo. Cómo se define el concepto de especie en microbiología va a determinar cómo diferenciamos y clasificamos las unidades de diversidad que constituyen el mundo microbiano.

Definición actual de especie procariota

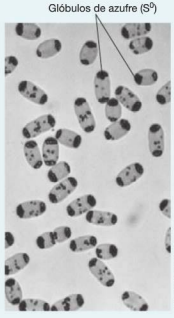
Actualmente la especie procariota se define en la práctica (operacionalmente) como una colección de cepas que presentan un alto grado de similaridad en una serie de rasgos independientes. En la taxonomía polifásica para describir una nueva especie se tienen en cuenta datos fenotípicos, genotípicos y filogenéticos. Los rasgos que actualmente se consideran fundamentales para agrupar cepas en una única especie incluyen una hibridación DNA-DNA de al menos el 70% y un parecido de secuencia en el gen del 16S rRNA de al menos el 97% (Secciones 14.10 y 14.11). La **Tabla 14.5** presenta un ejemplo de la definición de una especie en la práctica, enumerando rasgos relevantes para la clasificación jerárquica de la bacteria fototrófica *Allochromatium warmingii*. Basándose en éste tipo de criterios se han reconocido formalmente unas 7.000 especies de bacterias y arqueas.

De todos modos existe un considerable interés en microbiología en ir más allá de la dependencia en los métodos prácticos de identificación, para desarrollar un concepto de especie procariota basado en principios fundamentales de biología y evolución. El concepto de especie biológica, que propone que una especie es una población cuyos individuos se cruzan entre sí y aislada reproductivamente de otras poblaciones cuyos individuos se cruzan entre sí, está ampliamente aceptada en muchos eucariotas como una forma de agrupar con sentido biológico a los distintos organismos. Sin embargo, este concepto biológico de especie no es eficiente ni tiene sentido al intentar aplicarlo una gran mayoría de la diversidad biológica: las bacterias y arqueas, son haploides que carecen de reproducción sexual. Incluso considerando la adquisición de DNA homólogo por recombinación y la adquisición de DNA no homólogo por transferencia horizontal y recombinación ilegítima, la herencia en procariotas es predominantemente vertical, y en bacterias no existe una reproducción sexual real, es decir la fusión de gametos haploides para formar una célula diploide. En estos organismos una célula haploide se reproduce para dar lugar a dos células hijas haploides idénticas genéticamente, o esencialmente idénticas salvo en caso de mutación. Por tanto la definición de especie basada en la reproducción sexual y el aislamiento reproductivo no es apropiada para bacterias y arqueas.

Una alternativa al concepto de especie biológica que parece apropiada para organismos haploides es el concepto genealógico de especie (también conocido como concepto filogenético de especie). Conforme a este concepto filogenético de especie, una especie procariota es un grupo de cepas que, basándose en la secuencia de múltiples genes, se agrupan estrechamente entre sí en el sentido filogenético y se diferencian claramente de otros grupos de cepas. En otras palabras, cada uno de estos grupos de cepas es monofilético, al descender cada uno de ellos de un distinto ancestro común. La **Figura 14.24** muestra un ejemplo del uso de las secuencias de múltiples genes para definir las distintas especies. El análisis

Tabla 14.5 **Jerarquía taxonómica para la bacteria púrpura del azufre *Allochromatium warmingii***

División Taxonómica	*Nombre*	*Propiedades*	*Método de confirmación*
Dominio	Bacteria	Células bacterianas; secuencias de RNA ribosómico típicas de bacterias	Microscopía; análisis de la secuencia del RNA ribosómico 16S; presencia de biomarcadores únicos, por ejemplo, péptidoglicano
Filum	*Proteobacteria*	Secuencias de RNA ribosómico típicas de *Proteobacterias*	Análisis de la secuencia del RNA ribosómico 16S
Clase	*Gammaproteobacteria*	bacterias Gram-negativas; secuencias de RNA ribosómico típicas de *Gammaproteobacterias*	Tinción Gram, microscopía
Orden	*Chromatiales*	Bacterias fotótrofas púrpura	Pigmentos característicos (IFigura 20.3)
Familia	*Chromatiaceae*	Bacterias púrpura del azufre	Capacidad de oxidar H_2S y almacenar S^0 dentro de la célula; observación de cultivos al microscopía para determinar la presencia de S^0 (ver foto)
Género	*Allochromatium*	Bacterias púrpura del azufre con forma de bastón	Microscopia (ver foto)
Especie	*warmingii*	Células de 3,5-4,0 μm X 5-11 μm; almacenan azufre principalmente en los polos de la célula (ver foto)	Medida de las células en el microscopio usando un micrómetro; determinando la posición de los glóbulos de S^0 dentro de la célula (ver foto)



Fotografía al microscopio óptico de células de la bacteria púrpura del azufre Allochromatium warmingii.

www.medilares.com

mostrado utiliza el gen del 16S rRNA cuya secuencia ha divergido muy poco y que por tanto proporciona una buena resolución a nivel de familia y género, pero mala resolución a nivel de especie. Para conseguir una buena resolución al nivel de especie el análisis incluye las secuencias del gen *gyrB*, que codifica la subunidad B de una girasa de DNA, y las de los genes *luxABFE*, que codifican enzimas relacionadas con luminiscencia. Los genes *gyrB* y *luxABFE* están menos limitados por su función; es decir, sus secuencias pueden cambiar más que la del gen del 16S rRNA sin que las proteínas a las que codifican pierdan su función. El análisis combinado (**Figura 14.24**) separa tres cepas muy relacionadas y similares fenotipicamente de *Photobacterium*, un género de bacterias, en tres clados (es decir, especies) evolutivamente bien diferenciados. De este modo, al poner su confianza en el análisis de secuencia de múltiples genes, el concepto genealógico de especie tiene el potencial para proporcionar un marco evolutivo sólido para la descripción de especies basado en la taxonomía polifásica.

Especiación en procariotas

¿Cómo pueden surgir nuevas especies procariotas? Una posibilidad es el proceso de selección periódica. Imagine una población de bacterias originadas a partir de una sóla célula y que ocupa un nicho específico en un hábitat. Si las células de esta población comparten un recurso en particular (por ejemplo, un nutriente esencial), esta población de células puede denominarse **ecotipo**. Distintos ecotipos pueden coexistir en un mismo hábitat, pero cada ecotipo prospera tan sólo dentro de su nicho principal dentro de dicho hábitat.

Conforme las células que componen la población de cada ecotipo se reproducen, se producen mutaciones aleatorias en sus genomas. La mayoría de estas mutaciones son neutrales y carecen de efecto. Si se produce una mutación beneficiosa en una célula en uno de los ecotipos, que incrementa la eficiencia de dicha célula, entonces esta célula se reproducirá mejor que otras de tal modo que su progenie portadora de la mutación acabará siendo predominante. Con el tiempo, esto puede significar la eliminación de células peor adaptadas dentro de esa población. Sucesivas rondas de mutación y selección en este ecotipo pueden llevarlo a ser cada vez más distinto genéticamente de los otros ecotipos. Con suficiente tiempo y suficientes cambios, las células de este linaje acabarán siendo identificadas como una nueva especie conforme a una serie rasgos distintivos (**Figura 14.25**).

La selección de cepas portadoras de mutaciones beneficiosas puede suceder gradualmente, o puede ocurrir de modo repentino debido a cambios bruscos en su medio ambiente. Hay que tener en cuenta que una serie de su-

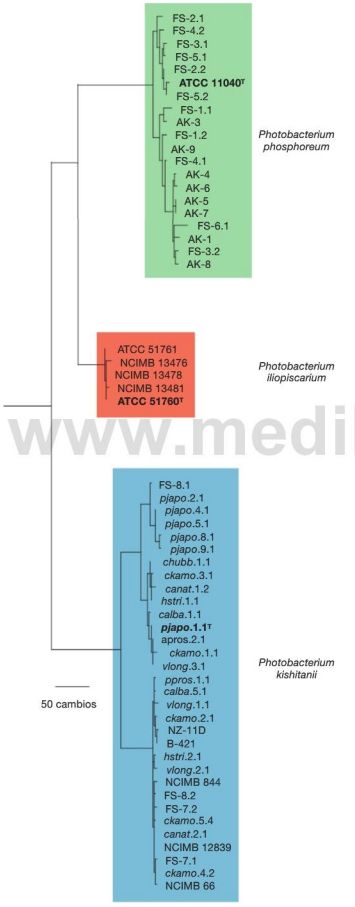


Figura 14.24 **Análisis filogenético de múltiples genes**. Se muestra una filogenia para cepas del género *Photobacterium (Gammaproteobacteria)* basada en una combinación de análisis de parsimonia de los genes del 16S rRNA, gyrB (un gen de mantenimiento celular básico que codifica la subunidad B de una girasa de DNA), y luxABFE (que codifican la enzima luciferasa y otras enzimas de luminiscencia). Aunque las secuencias de los genes del 16S rRNA por sí solas no distinguen entre estas bacterias debido a la poca divergencia en la secuencia de dicho gen, el análisis combinado grácias a la mayor divergencia de secuencia en los genes gyrB y luxABFE es capaz de separarlas en tres clades (es decir, especies) evolutivamente distintas, a saber *P. phosphoreum*, *P. iliopiscarium*, and *P. kishitanii*. La escala indica una longitud de rama equivalente a 50 cambios nucleotídicos. Las cepas tipo de cada especie están resaltadas en negrita, y se marcan con el superíndice «T» sobre sus correspondientes nombres de cepa.

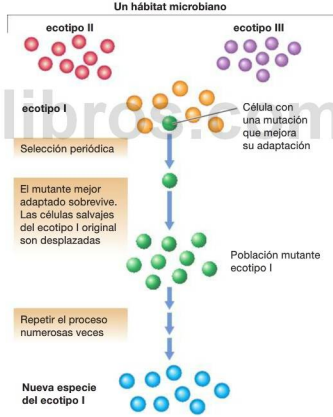


Figura 14.25 **Un modelo de especiación bacteriana**. Diversos ecotipos pueden coexistir en un mismo hábitat microbiano, cada uno ocupando su propio nicho ecológico preferente. Una célula de un ecotipo que es portadora de una mutación beneficiosa puede convertirse en una población que con el tiempo sustituya al ecotipo original. Conforme esto sucede repetidas veces para un mismo ecotipo, puede dar lugar a una población genéticamente distinta que representa una nueva especie. Como los demás ecotipos no compiten por los mismos recursos, no se ven afectados por los eventos genéticos y de selección que suceden fuera de su nicho preferente.

www.medilibros.com

cesos como los descritos dentro de un determinado ecotipo no tiene ningún efecto en los demás ecotipos, porque los diferentes ecotipos no compiten por los mismos recursos (**Figura 14.25**). También puede suceder que la nueva capacidad genética en un ecotipo aparezca gracias a genes obtenidos por transferencia horizontal de las células de otro ecotipo, más que por mutación y selección. El alcance de la transferencia genética horizontal entre bacterias es variable. El análisis de secuencias genómicas ha desvelado ejemplos en los que la transferencia horizontal de genes ha sido al parecer bastante frecuente, y otros en los que parece haber sido infrecuente (Sección 13.11). Además, el MLST (Sección 14.11) ha desvelado que el intercambio genético interno, o recombinación intraespecífica, es muy habitual en ciertas especies mientras que en otras prácticamente no existe. A pesar del impacto de la transferencia genética horizontal, se cree que la especiación en bacterias y arqueas se basa fundamentalmente en la mutación y la selección periódica (**Figura 14.25**). Esto se debe a que la transferencia genética horizontal ocurre raras veces en la mayoría de las bacterias y podría conceder tan solo beneficios transitorios; los genes transferidos se pueden perder fácilmente si disminuye la presión selectiva a su favor.

¿Cuántas especies procariotas existen?

El mundo procariota que podemos observar actualmente es el resultado de más de 4.000 millones de años de evolución (**Figura 14.7**). Los taxónomos microbianos coinciden en que actualmente no se puede estimar de modo estricto el número de especies procariotas existentes, en parte como consecuencia de la incertidumbre al respecto de cuales son los límites de la especie. Sin embargo, también coinciden en que al final el número estimado será muy grande. Ya se conocen 7.000 especies de bacterias y arqueas, y es probable que existan miles de especies más, quizás tantas como 100.000-1.000.000 en total. Si a esto aplicamos el concepto genealógico de especie, que proporciona una mejor resolución de grupos monofiléticos evolutivamente distintos (especies) (**Figura 14.24**), el número estimado se multiplica enormemente. Es importante recordar que los análisis de comunidades bacterianas (Sección 14.9 y Secciones 22.5 y 22.6) demuestran que apenas hemos empezando a desarrollar nuestra capacidad para hacer crecer en cultivo la gran diversidad de bacterias y arqueas presentes en la naturaleza. Cuando dispongamos de herramientas más eficientes, tanto moleculares como de cultivo, para sacar a la luz esta diversidad, probablemente descubramos que pese al gran número de especies predicho estamos subestimando el número real. Realmente en la actualidad una estimación precisa del número de especies procariotas está sencillamente fuera de nuestro alcance, tanto tecnológica como conceptualmente. Pero, como ha ocurrido en otros casos en microbiología, la situación es probable que cambie. El área de la sistemática microbiana acaba de empezar a abrirse, y en los próximos años se conseguirán muchos descubrimientos emocionantes.

14.13 Minirrevisión

Actualmente la especie procariota se define de modo práctico. El concepto de especie biológica no es apropiado para bacterias y arqueas, porque los miembros de estos dominios no llevan a cabo auténtica reproducción sexual. La especiación en procariotas probablemente se produce dentro de cada ecotipo por eventos múltiples de selección periódica de rasgos favorables

- ¿Cómo compararía el concepto genealógico de especie bacteriana con la definición práctica de especie bacteriana?
- ¿Qué significa el término monofilético?
- ¿Qué es un ecotipo?
- ¿Cuántas especies de bacterias y arqueas se conocen actualmente? ¿Cuántas es probable que existan?

UNIDAD 3

14.14 Clasificación y nomenclatura

Concluimos este capítulo con una breve descripción sobre cómo se clasifican y nombran las bacterias y arqueas. También se incluye información sobre las colecciones de cepas, que sirven como almacén científico para el depósito de cultivos, sobre algunos de los recursos taxonómicos esenciales disponibles para microbiología, y sobre algunos de los procedimientos para nombrar especies nuevas. La descripción formal de una nueva especie procariota y el depósito de cultivos vivos en una colección de cepas constituyen una base importante de la sistemática de procariotas.

Clasificación

La clasificación es la organización de organismos en grupos progresivamente más generales en base a su parecido fenotípico o su parentesco evolutivo. La naturaleza jerárquica de la clasificación se muestra en la Tabla 14.5, que presenta los distintos rangos taxonómicos en los que se clasifican los procariotas, desde el dominio a la especie. Una nueva especie normalmente se define a partir de una serie de cepas, agrupándose luego aquellas especies similares en géneros. Los grupos de géneros parecidos se agrupan en familias, las familias en órdenes, los órdenes en clases, hasta llegar al dominio que es el taxón de mayor nivel.

Nomenclatura

La nomenclatura consiste en la aplicación de una serie de reglas formales para nombrar los organismos. Siguiendo el **sistema binomial** de nomenclatura que se emplea en toda la biología, los procariotas reciben nombres de género y adjetivo de especie. Los términos utilizados son latinos o derivados griegos latinizados, a menudo referentes a algu-

na característica descriptiva adecuada al organismo en cuestión, y se escriben en letra cursiva. Por ejemplo, hay descritas más de 100 especies del género *Bacillus*, que incluyen a *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus megaterium*. Los adjetivos que designan estas especies significan respectivamente «esbelto», «ceruleo» y «animal grande» («bestia grande»), y se refieren a rasgos morfológicos, fisiológicos o ecológicos clave de cada organismo.

Al clasificar los organismos en grupos y nombrarlos ordenamos el mundo natural, facilitando la comunicación efectiva sobre los diversos aspectos de cada organismo individual, lo que incluye su comportamiento, ecología, fisiología, patogénesis y sus relaciones evolutivas. A diferencia de la clasificación, la nomenclatura está sujeta a reglas estrictas. La asignación de nombres a las especies y grupos superiores de bacterias y arqueas está regulada por el *Código Bacteriológico —El Código Internacional de Nomenclatura Bacteriana*. Este código plantea el marco formal dentro del cual las bacterias y arqueas deben ser nombradas oficialmente, y el procedimiento según el cual deben modificarse los nombres preexistentes, por ejemplo cuando nuevos datos justifiquen una reorganización taxonómica. Incluso hay reglas para rechazar aquellos nombres erróneos en su forma original, o que de algún modo han quedado invalidados. El Código Bacteriológico tan sólo atiende a los procedimientos para asignar nombres a organismos, y no le incumben los problemas de método o interpretación taxonómica.

El manual de Bergey y *los procariotas*

Como la taxonomía es en gran parte un asunto de juicio científico, no existe una clasificación «oficial» de bacterias y arqueas. Actualmente, el sistema de clasificación más generalmente aceptado por los microbiólogos es el *Esquema Taxonómico de los Procariotas* (*Taxonomic Outline of the Prokaryotes)* originado de la segunda edición del *Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática*, un tratado esencial sobre la taxonomía de bacterias y arqueas. El Apéndice 2 enumera los géneros y otros grupos de orden superior citados por el manual de Bergey. Este manual, de uso muy extendido, ha ayudado a la comunidad de microbiólogos desde 1923 y es un compendio de información sobre todas las especies bacterianas reconocidas. Cada capítulo está redactado por expertos e incluye tablas, figuras, y demás información sistemática, muy útil para la identificación de organismos. El volumen I de la segunda edición del manual de Bergey fue publicado en el 2001, el volumen 2 en 2005, y tres volúmenes adicionales en 2007. La segunda edición del manual ha incorporado muchos de los conceptos que han surgido de la secuenciación de los genes del SSU rRNA y de los estudios genómicos, y compagina esta información con la abundante información fenotípica. Una segunda referencia esencial sobre diversidad bacteriana es *Los procariotas*, que proporciona información detallada sobre el enriquecimiento, aislamiento y cultivo de numerosos grupos de bacterias y arqueas, recopilados por expertos en cada uno de los grupos de microorganismos. Este trabajo, de más de 4.100 páginas (cuatro volúmenes) en su segunda edición (1992), está ahora disponible en su tercera edición (2006) en siete volúmenes. En conjunto, el *Manual de Bergey* y *Los procariotas* ofrecen a los microbiólogos tanto los cimientos como los detalles sobre la taxonomía y filogenia de bacterias y arqueas de acuerdo a los conocimientos actuales. Por regla general, son las fuentes principales de conocimiento para aquellos microbiólogos empeñados en la caracterización de organismos recientemente aislados.

Colecciones de cultivos microbianos

Las colecciones nacionales de cultivos microbianos son fundamentales para la sistemática microbiana (como también para la microbiología industrial, Sección 25.1). Estas colecciones permanentes catalogan y conservan microorganismos y los distribuyen bajo pedido, normalmente bajo tarifa, a investigadores de instituciones académicas, médicas o industriales. Juegan un papel muy importante como depósitos de la diversidad natural bacteriana, mediante el almacenamiento de nuevos tipo de microorganismos depositados por científicos que los descubren.

De este modo las colecciones sirven para mantener y proteger la biodiversidad microbiana, del mismo modo que los museos mantienen especímenes de plantas y animales para su estudio futuro. En cualquier caso las colecciones de aislamientos microbianos almacenan los organismos allí depositados no como especímenes muertos preservados químicamente o disecados, sino como cultivos vivos, habitualmente congelados a muy baja temperatura o liofilizados. Estos métodos de almacenamiento mantienen las bacterias de modo teóricamente indefinido conservados como cultivos viables en su estado original. Otro papel análogo y esencial de las colecciones de cultivos es que sirven como almacén de cepas tipo. Cuando una nueva especie de bacteria es descrita en una revista científica, una cepa es designada como el tipo para ese taxón, con vista a futuras comparaciones taxonómicas con otras cepas de dicha especie. El depósito de esta cepa tipo en las colecciones nacionales de cultivos de al menos dos países, lo que hace que la cepa sea accesible públicamente, es un prerequisito para la validación del nombre de la nueva especie. Algunas de las mayores colecciones nacionales de cultivos están enumeradas en la **Tabla 14.6.** Sus sitios web incluyen bases de datos interactivas donde rastrear los fondos acumulados, e información sobre el medio natural del cual se aislaron y publicaciones relacionadas.

Descripción de nuevas especies

Cuando se aisla un nuevo procariota de la naturaleza y se cree que no está previamente descrito, se debe decidir si es lo suficientemente distinto a otras especies para ser considerado un nuevo organismo o si quizás es incluso lo bastante distinto a los géneros ya descritos para justificar su des-

Tabla 14.6 Algunas colecciones nacionales de cultivo de microorganismos

Colección	*Nombre*	*Localización*	*Página Web*
ATCC	American Type Culture Collection	Manassas, Virginia, EEUU	http://www.atcc.org
BCCM/LMG	Belgium Coordinated Collection of Microorganisms	Gante, Belgica	http://bccm.belspo.be
CIP	Collection de l'Institut Pasteur	Paris, Francia	http://www.pasteur.fr
DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen	Braunschweig, Alemania	http://www.dsmz.de
JCM	Japan Collection of Microorganisms	Saitama, Japón	http://www.jcm.riken.go.jp
NCCB	Netherlands Culture Collection of bacterias	Utrecht, Los paises bajos	http://www.cbs.knaw.nl/nccb
NCIMB	National Collection of Industrial, Marine and Food bacterias	Aberdeen, Escocia	http://www.ncimb.com

cripción como un nuevo género (en cuyo caso se crea de inmediato un nuevo nombre de especie). Para alcanzar formalmente la validación taxonómica del nuevo género o especie, se publica una descripción detallada de las características y rasgos diferenciales del organismo, así como el nombre propuesto y se depositan cultivos viables de dicho organismo en al menos dos colecciones internacionales de microorganismos. La descripción y el nuevo nombre deben publicarse en el *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* (IJSEM, *Revista Internacional de Microbiología Evolutiva y Sistemática*), la publicación oficial de resgistros para la taxonomía y la clasificación de bacterias y arqueas. Alternativamente, si el nuevo organismo es publicado en una revista distinta, una copia del artículo y toda la información adicional debe enviarse a la IJSEM para solicitar la validación del nombre y su aceptación formal como un nuevo taxón. En cada número la IJSEM publica una lista aprobada de nombres recientemente validados. Al proporcionar una validación de los nuevos nombres propuestos, la publicación en la IJSEM allana el camino para su inclusión en el *Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática*. Dos sitios web proporcionan listados de nombres bacterianos válidos y aprobados: *List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature* (*Lista de nombres procariotas validados en nomenclatura*) (http://www.bacterio.cict.fr), y *Bacterial Nomenclature Up-to-Date* (*Nomenclatura bacteriana ctualizada*) (http://www.dsmz.de/bactnom/bactname.htm).

El Comité Internacional para la Sistemática de Procariotas (*The International Committee on Systematics of Prokaryotes* o ICSP) es el responsable de supervisar la nomenclatura y taxonomía de bacterias y arqueas. La ICSP supervisa la publicación de la IJSEM y el Código Bacteriológico, y coordina diversos subcomités encargados con establecer unos estándares mínimos para la descripción de nuevas especies en los diferentes grupos.

14.14 Minirrevisión

El reconocimiento formal de una nueva especie procariota requiere el depósito de muestras en las colecciones de cultivos y la publicación oficial del nombre y la descripción de la nueva especie. *El manual de Bergey de Bacteriología Sistemática* y *Los procariotas* son las principales recopilaciones sobre taxonomía de bacterias y arqueas.

- ¿Qué papel juegan las colecciones de cultivos en la sistemática microbiana?
- ¿Qué es la IJSEM y que función taxonómica cumple?
- ¿Qué es un ecotipo?
- ¿Por qué tienen más utilidad para la taxonomía microbiana los cultivos viables de microorganismos que especímenes conservados no viables?

Glosario de términos

Alelo: versión de un determinado gen con variación en su secuencia

Árbol Filogenético Universal: un árbol que muestra la posición de representantes de todos los dominios de los organismos vivos

Archaea (arqueas): grupo de procariotas relacionados filogenéticamente y distintos de las *bacterias*.

Bacteria (bacterias): grupo de procariotas relacionados filogenéticamente y distintos de las *arqueas*.

Cladística: los métodos filogenéticos que agrupan a los organismos en base a sus relaciones evolutivas, y no por su parecido fenotípico.

Dominio: en sentido taxonómico es el máximo nivel de clasificación biológica

Ecotipo: población de células genéticamente idénticas que comparten un único recurso dentro del mismo nicho ecológico.

Encaje: la capacidad de un organismo para sobrevivir y reproducirse en comparación con los organismos competidores.

Endosimbiosis: teoría que propone que una bacteria quimiorganótrofa y una cianobacteria se incorporaron dentro de otro tipo celular dando lugar respectivamente a las mitocondrias y cloroplastos de los modernos eucariotas.

Especie: se define en microbiología como un grupo de cepas que comparten las mismas propiedades principales y que difieren en al menos una característica significativa de otros grupos de cepas; se define filogenéticamente como monofilética, grupos excluyentes en base a su secuencia de DNA.

Estromatolito: tapices microbianos, normalmente formados por capas sucesivas de procariotas filamentosos y otros microorganismos, que pueden llegar a fosilizar.

Eukarya (eucariotas): todos los eucariotas: algas, protistas, hongos, hongos mucosos, plantas y animales.

Evolución: descendencia con modificación; variación en la secuencia del DNA y la herencia de dicha variación.

Filogenia: la historia evolutiva de un organismo

Fylum: un grupo evolutivo principal, o división, en uno cualquiera de los tres dominios de la vida.

Hibridación DNA–DNA: determinación experimental del parecido entre genomas mediante la medida del grado de hibridación entre el DNA de un genoma de un organismo y el de un segundo organismo.

Hibridación fluorescente *in situ* (FISH): *Fluorescent In-Situ Hybridization*.

Métodos de formación de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME): *Fatty Acid Methyl Ester.*

Monofilético (en filogenia): un grupo que desciende de un mismo ancestro.

Multilocus sequence typing (MLST): una herramienta taxonómica para clasificar organismos en base de variaciones en la secuencia de varios genes de mantenimiento básico celular (*housekeeping*).

Proporción GC: en el DNA de un organismo, es el porcentaje del total del total del ácido nucléico que consiste en bases de guanina y citosina.

Proteobacterias: uno de los grandes grupos filogenéticos de bacterias gramnegativas.

Proyecto de base de datos de SSU y RNA (RDP): una gran base de datos de secuencias de genes de la subunidad pequeña del RNA ribosómico (SSU rRNA) que pueden descargarse electrónicamente y utilizarse en estudios comparativos de de secuencia de RNA ribosómicos.

Reloj molecular: un gen, como por ejemplo el que codifica el DNA ribosómico, cuya secuencia de DNA puede emplearse como medida temporal comparativa de divergencia evolutiva.

Ribotipado: un método para la identificacion de organismos basado en el análisis de los fragmentos de DNA generados por digestión de sus correspondientes genes del 16S rRNA mediante una enzima de restricción.

RNA ribosomal 16S: un gran polinucleótido (~1.500 bases) que constituye parte de la subunidad pequeña del ribosoma de bacterias y arqueas y de cuya secuencia puede obtenerse información evolutiva; su equivalente eucariota es el 18S rRNA.

Secuencias firma: oligonucleótidos cortos de secuencia definida que forman parte de la secuencia del SSU rRNA y que caracterizan organismos específicos o grupos de organismos filogenéticamente relacionados; útiles para la construcción de sondas.

Sistema binomial: sistema concebido por Linneo para nombrar los organismos vivos, en el cual un organismo recibe un nombre de género y un adjetivo (epíteto) de especie.

Sistemática: el estudio de la diversidad de los organismos y su parentesco; incluye la taxonomía y la filogenia.

Sonda filogenética: un oligonucleótido de secuencia complementaria a una secuencia firma de RNA ribosomal, a veces marcado con fluorescencia mediante su unión a un fluoróforo.

SSU RNA: RNA que forma parte de la subunidad 30S del ribosoma de bacterias y arqueas o de la subunidad 40S del ribosoma eucariótico, es decir RNA ribosómico 16S o 18S, respectivamente.

Taxonomía: es la ciencia de la identificación, la clasificación y la nomenclatura.

Transferencia genética horizontal: (Transferencia horizontal de genes), transferencia de DNA de una célula a otra célula a menudo poco emparentada.

Preguntas de repaso

1. ¿Qué edad tiene el planeta Tierra? ¿Cuándo se formaron los océanos y qué edad tienen los microfósiles más antiguos (Sección 14.1)?
2. ¿Bajo qué condiciones es probable que surgiera la vida? ¿Qué pasos llevaron de la química prebiótica hasta las células vivas (Sección 14.2)?
3. ¿Qué tipos de metabolismos del carbono y de producción de energía es más probable que caracterizaran la vida celular primigenia (Sección 14.2)?
4. ¿Por qué fue tan importante la aparición de las cianobacterias para la evolución posterior de la vida en la Tierra? ¿Qué componente del registro geológico se usa para datar la evolución de las cianobacterias (Sección 14.3)?
5. ¿Qué propone la hipótesis del hidrógeno y qué relación tiene con el origen endosimbiótico de la célula eucariota (Sección 14.4)?
6. ¿Qué implica la frase «descendencia con modificación» al respecto de las relaciones naturales entre organismos vivos (Sección 14.5)?
7. ¿Por qué son los genes del SSU rRNA una buena opción para los estudios filogenéticos, y cuales son sus limitaciones (Sección 14.6)?
8. ¿Cuál es la base fundamental para los métodos *character-state* para el análisis filogenético (Sección 14.7)?
9. ¿Cuál ha sido el descubrimiento evolutivo esencial que ha surgido del estudio de las secuencias de rRNA? ¿Cómo ha modificado la visión clásica de la evolución? ¿Cómo ha

apoyado este descubrimiento opiniones previas sobre el origen de los organismos eucariotas (Sección 14.8)?

10. ¿Cuáles son las principales propiedades fisiológicas y bioquímicas de arqueas que son compartidas por eucariotas? ¿Y por bacterias (Sección 14.8)?
11. ¿Qué son las secuencias firma (*signature sequences*) y qué valor filogenético tienen? ¿Cómo se distinguen las secuencias firma (Sección 14.9)?
12. ¿En qué consiste la tecnología FISH (hibridación fluorescente *in situ*)? De un ejemplo de su posible aplicación (Sección 14.9)?
13. ¿Qué propiedades principales fenotípicas y genotípicas se emplean para clasificar organismos en taxonomía bacteriana (Secciones 14.10 y 14.11)?
14. ¿Qué se mide en los análisis FAME (Sección 14.10)?
15. ¿En qué se diferencia el MLST del análisis de secuencia del gen del 16S rRNA como herramienta de identificación (Sección 14.11)?
16. ¿En qué sentido es el análisis filogenético multigénico una mejora frente a análisis basados en genes individuales (Sección 14.12)?
17. ¿Cómo se cree que surgen las nuevas especies bacterianas? ¿Cuántas especies bacterianas hay? ¿Por qué no conocemos su número de modo más preciso (Sección 14.13)?
18. ¿Qué función cumplen las colecciones de cultivos microbianos en la sistemática microbiana (Sección 14.14)?

Ejercicios prácticos

1. Compare las condiciones físicas y químicas de la Tierra en el momento de la aparición de la vida con las condiciones actuales. Desde un punto de vista fisiológico, exponga al menos dos razones sobre por qué no podrían haber existido animales en la Tierra primigenia.
2. ¿Por qué resulta muy improbable que la vida pudiera originarse actualmente como lo hizo hace miles de millones de años?
3. Suponga que está discutiendo con alguien que está en contra de la teoría de la endosimbiosis. ¿Qué pruebas emplearía para apoyar dicha hipótesis? (Antes de escribir su respuesta quizá le interese consultar la Sección 14.4)
4. ¿De qué manera ha alterado el metabolismo microbiano la biosfera de la Tierra? ¿En qué se diferenciaría la vida en la Tierra si no se hubiese desarrollado la fotosíntesis oxigénica?
5. Identifique los sitios filogenéticamente informativos en las siguientes secuencias. Identifique también los sitios filogenéticamente neutrales y aquellos que son invariables.

   Taxón 1: TCCGTACGTTA
   Taxón 2: TCCCCACGGTT
   Taxón 3: TCGGTACCGTA
   Taxón 4: TCGGTACCGTA
6. Imagine que está haciendo análisis de lípidos de dos microorganismos según lo propuesto en la Figura 14.22. Sus resultados para el cultivo A muestran abundantes lípidos insaturados de cadena corta. El análisis de las células del cultivo B demuestra la presencia de lípidos esterificados con lípidos de fitanilo con enlace éter. Basándose en esta información, a qué dominio filogenético pertenecen los organismos A y B? Por otro lado, si le dijeran que ambos organismos son extremófilos (Sección 2.8) y que uno se ha originado en un hirviente manantial termal y el otro en el hielo de un océano polar, ¿cuál sería cada uno? Finalmente, basándose en su análisis de lípidos y su conocimiento de dónde se localizan la mayoría de los lípidos en la célula (Sección 3.4 y Figura 3.3), describa cómo pueden haber beneficiado a cada organismo las sustancias que usted ha detectado en su éxito en sus correspondientes ambientes extremos. (Es probable que antes de responder necesite consultar el material de las Secciones 6.12-6.14)
7. Imagine que le han entregado diversas cepas bacterianas procedentes de varios países del mundo y que todas esas cepas se consideran causantes del mismo trastorno gastrointestinal y que son genéticamente idénticas. Después de obtener un análisis de huella de DNA de las cepas, descubre que tienen cuatro tipos de cepa distintos. ¿Qué métodos podría usar para comprobar si las distintas cepas son de hecho miembros de la misma especie?
8. ¿Qué documento(s) de referencia emplearía para comprobar información sobre la taxonomía y filogenia de bacterias y arqueas? ¿Y sobre enriquecimiento, aislamiento y cultivo? Si su biblioteca dispone de estas referencias, compare sus índices de contenidos. ¿Cuál pone mayor énfasis en clasificación y nomenclatura?
9. Imagine que ha descubierto una nueva forma de vida microbiana, que parece representar un cuarto dominio. ¿Cómo intentaría caracterizar este nuevo organismo y cómo determinar si de hecho es evolutivamente distinto de bacterias, arqueas y eucariotas?

www.libreriaeditorial.com

15

Dominio *Bacteria:* las proteobacterias

I LA FILOGENIA DE LAS BACTERIAS 441

15.1 Visión general de la filogenia de las bacterias **441**

II PROTEOBACTERIAS FOTÓTROFAS, QUIMIOLITÓTROFAS Y METANÓTROFAS 443

15.2 Bacterias fototróficas rojas **443**

15.3 Bacterias nitrificantes **446**

15.4 Bacterias oxidantes del azufre y el hierro **448**

15.5 Bacterias oxidantes del hidrógeno **451**

15.6 Bacterias metanótrofas y metilótrofas **453**

III PROTEOBACTERIAS QUIMIORGANÓTROFAS AEROBIAS Y ANAEROBIAS FACULTATIVAS 456

15.7 *Pseudomonas* y pseudomonadáceas **456**

15.8 Bacterias del ácido acético **459**

15.9 Bacterias fijadoras de nitrógeno aerobias de vida libre **460**

15.10 *Neisseria*, *Chromobacterium* y géneros relacionados **462**

15.11 Enterobacterias **463**

15.12 *Vibrio*, *Aliivibrio* y *Photobacterium* **467**

15.13 Rickettsias **469**

IV PROTEOBACTERIAS MORFOLÓGICAMENTE INUSUALES 472

15.14 Espirilos **472**

15.15 Proteobacterias con vainas: *Sphaerotilus* y *Leptothrix* **475**

15.16 Bacterias pedunculadas con prostecas, y que forman yemas **477**

V DELTA Y EPSILONPROTEOBACTERIAS 481

15.17 Mixobacterias deslizantes **481**

15.18 Proteobacterias reductoras de sulfato y reductoras de azufre **485**

15.19 Las epsilonproteobacterias **488**

www.imagelibrary.com

Las células de gran tamaño de Thioploca*, un quimiolitótrofo filamentoso oxidador del azufre, se agrupan en haces rodeados de una vaina común. En el suelo oceánico se pueden encontrar gruesos tapices de* Thioploca*, que contribuyen al ciclo ecológico de compuestos azufrados y nitrogenados.*

I LA FILOGENIA DE LAS BACTERIAS

En el Capítulo 14 hemos examinado las relaciones evolutivas entre microorganismos. En este capítulo y en los tres siguientes extenderemos estos conceptos con una discusión sobre las propiedades de los distintos miembros de los principales grupos microbianos. Comenzaremos este recorrido por la diversidad de los microorganismos centrándonos en las proteobacterias, uno de los grupos principales dentro de las bacterias que incluye muchas de las bacterias más comunes. En los siguientes tres capítulos examinaremos representantes de otros grupos principales de bacterias, arqueas y eucariotas microscópicos.

Dado que se conocen varios miles de especies bacterianas, obviamente no podremos analizarlas a todas. Por tanto, utilizaremos un árbol filogenético para guiar nuestro análisis y exploraremos algunas de las especies más conocidas, particularmente aquellas de las cuales disponemos de más información fenotípica. Para una información más detallada sobre la diversidad procariótica animamos al lector a revisar las dos fuentes de información principales sobre estos organismos: el *Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática* y *Los Procariotas* (Sección 14.14).

15.1 Visión general de la filogenia de las bacterias

Muchos de los linajes principales de *Bacteria*, denominados *filums*, se conocen a través del estudio de cultivos en laboratorio y otros muchos se han identificado a partir de la secuenciación de los genes de RNA ribosómico (rRNA) recuperados de comunidades microbianas en sus hábitats naturales. La **Figura 15.1** nos da una visión general de las relaciones evolutivas entre los filums principales de *Bacteria* que han podido ser cultivados en el laboratorio. Cuando se incluyen los filums de *Bacteria* conocidos exclusivamente a partir de sus secuencias de rRNA recuperadas de su medio ambiente natural (Sección 22.5), alcanzamos un número superior a 80 filums. Sin embargo, dado que se dispone de muy poca información fenotípica sobre aquellas especies que todavía no han sido aisladas, nos centraremos en aquellos filums que incluyen especies de las que ya se han obtenido cultivos.

Como se muestra claramente en la **Figura 15.1**, el filum más antiguo filogenéticamente (el que menos ha variado) (**least derived**) incluye el género *Aquifex* y géneros

www.medilibros.com

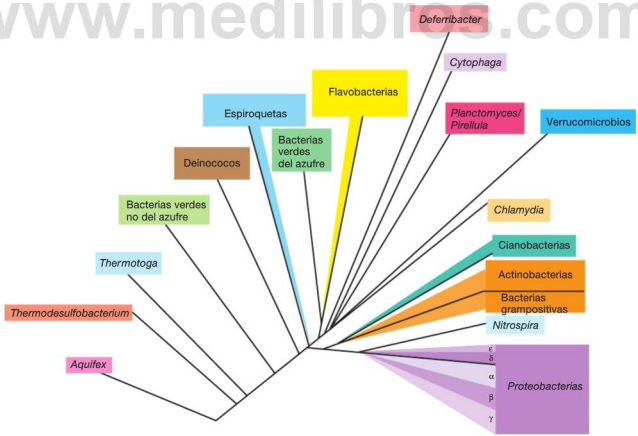


Figura 15.1 Linajes principales (filums) del dominio Bacteria basados en comparaciones de secuencia de los genes ribosómicos del 16S rRNA. Actualmente se conocen más de 80 filums, incluyendo algunos que sólo se conocen por sus secuencias obtenidas directamente del medio ambiente durante muestreos de comunidades microbianas.

relacionados, todos los cuales son quimiolitótrofos hipertermófilos oxidadores de H_2. Otros filums «primitivos» como *Thermodesulfobacterium*, *Thermotoga* y las bacterias verdes no del azufre (del grupo de *Chloroflexus*) también incluyen especies termófilas.

Más alla de las bacterias verdes no del azufre nos encontramos con los deinococos y géneros relacionados, las espiroquetas con su característica morfología, las bacterias verdes del azufre fotótrofas, los grupos quimiorganótrofos *Flavobacterium* y *Cytophaga*, los grupos gemantes de *Planctomyces-Pirellula* y *Verrucomicrobium*, las clamidias y los géneros *Nitrospira* and *Deferribacter* (**Figura 15.1**). Otros grupos principales incluyen las bacterias grampositivas y las cianobacterias. Las bacterias grampositivas son un gran grupo de bacterias fundamentalmente quimiorganótrofas y se discutirán detalladamente en las Secciones 16.1-16.6. Pueden dividirse en dos subgrupos, denominados de alto GC y de bajo GC (*Actinobacteria*), en referencia a que estas especies presentan por lo general proporciones GC (Sección 14.11) bien muy por debajo o muy por encima del 50%, respectivamente. Las cianobacterias son bacterias fotótrofas oxigénicas con bases evolutivas cercanas a las de las grampositivas; Estos organismos se presentarán en las Secciones 16.7 y 16.8.

Las proteobacterias

El filum que nos resta de las bacterias de las que se han obtenido cultivos son las ***proteobacteria*** (**Figura 15.1**), con gran diferencia el grupo mayor y metabólicamente más diverso de todas las bacterias. Las proteobacterias incluyen la mayoría de las bacterias conocidas con importancia médica, agrícola o industrial. La **Tabla 15.1** enumera algunos géneros clave. Como grupo, las proteobacterias son todas gramnegativas. Muestran una enorme diversidad de mecanismos de generación de energía, incluyendo especies quimiolitótrofas, quimioorganótrofas y fotótrofas. En los Capítulos 20 y 21 veremos la enorme diversidad de metabolismos generadores de energía que emplean los miembros de este grupo. Las proteobacterias son también muy diversas fisiológicamente, con por ejemplo especies anaerobias, microaerobias y aerobias facultativas. Morfológicamente también muestran una gran variedad de formas celulares incluyendo bacilos rectos y curvados, cocos, espirilos y formas gemantes y con apéndices.

Filogenéticamente, según las secuencias de sus genes del 16S rRNA, las proteobacterias se dividen en cinco clases, *Alfaproteobacterias*, *Betaproteobacterias*, *Gammaproteobacterias*, *Deltaproteobacterias* y *Epsilonproteobacterias* (**Figura 15.1** y **Tabla 15.1**),cada una de las cuales incluye numerosos géneros y especies. A pesar de esta división filogenética, los miembros de las distintas clases de proteobacterias presentan a menudo rasgos fisiológicos en común. Por ejemplo, la fototrofía es una característica que aparece en miembros de tres clases diferentes de proteobacterias, mientras que las bacterias nitrificantes

Tabla 15.1 Géneros principales de proteobacterias[a]

Subdivisión	*Género*	
Alfa	*Acetobacter*	*Nitrobacter*
	Agrobacterium	*Paracoccus*
	Alcaligenes	*Rhodospirillum*
	Azospirillum	*Rhodopseudomonas*
	Beijerinckia	*Rhodobacter*
	Bradyrhizobium	*Rhodomicrobium*
	Brucella	*Rhodovulum*
	Caulobacter	*Rhodopila*
	Ehrlichia	*Rhizobium*
	Gluconobacter	*Rickettsia*
	Hyphomicrobium	*Sphingomonas*
	Methylocystis	*Zymomonas*
Beta	*Aquaspirillum*	*Oxalobacter*
	Bordetella	*Polaromonas*
	Burkholderia	*Ralstonia*
	Chromobacterium	*Rhodocyclus*
	Dechloromonas	*Rhodoferax*
	Gallionella	*Sphaerotilus*
	Leptothrix	*Spirillum*
	Methylophilus	*Thiobacillus*
	Neisseria	*Zoogloea*
	Nitrosomonas	
Gamma	*Acetobacter*	*Photobacterium*
	Acinetobacter	*Pseudomonas*
	Aliivibrio	*Methylococcus*
	Azotobacter	*Methylobacter*
	Chromatium	*Nitrosococcus*
	Escherichia	*Nitrococcus*
	Ectothiorhodospira	*Thermochromatium*
	Erwinia	*Thiomicrospira*
	Francisella	*Thiospirillum* y otras bacterias púrpuras del azufre
	Halomonas	*Salmonella* y otras bacterias entéricas
	Halorhodospira	*Vibrio*
	Halothiobacillus	*Xanthomonas*
	Legionella	
	Leucothrix	
	Methylomonas	
	Oceanospirillum	
Delta	*Acinetobacter*	*Geobacter*
	Aeromonas	*Halomonas*
	Bdellovibrio	*Moraxella*
	Desulfuromonas	*Myxococcus* y otras mixobacteria
	Desulfovibrio y la mayoría de otras bacterias sulfatoreductantes	*Pelobacter*
	Francisella	*Syntrophobacter*
Epsilon	*Campylobacter*	*Thiovulum*
	Helicobacter	*Wolinella*

[a] Esta tabla no incluye a todos sino que enumera los géneros más conocidos de proteobacterias. Para ver una lista completa de los géneros de proteobacterias y de otros linajes de bacterias, véase Apéndice 2.

www.medilibros.com

están presentes en cuatro clases diferentes de proteobacterias más en un género adicional que constituye por sí mismo un filum independiente de bacterias. El solapamiento de estos rasgos debe recordarnos que fenotipo y filogenia a menudo ofrecen perspectivas diferentes de los procariotas.

Analizaremos ahora los grupos principales de proteobacterias, agrupándolos en función de algunos elementos fenotípicos comunes.

II PROTEOBACTERIAS FOTÓTROFAS, QUIMIOLITÓTROFAS Y METANÓTROFAS

Nuestro primer grupo de proteobacterias incluye procariotas capaces de llevar a cabo fotosíntesis anoxigénica (Sección 20.4), quimiolitotrofia dependiente de azufre, hierro, hidrógeno o nitrógeno (Sección 20.4) o la oxidación del metano (CH_4) (Sección 21.16). Comenzaremos con las bacterias rojas, un ejemplo clásico del modo de vida fototrófico.

Norbert Pfennig

Figura 15.2 Fotografías de cultivos líquidos de bacterias rojas fotótrofas que muestran el color de especies con diversos pigmentos carotenoides. El cultivo azul es un mutante sin carotenoides de *Rhodospirillum rubrum* que muestra que la bacterioclorofila es azul. La botella situada más a la derecha (*cepa G de Rhodobacter sphaeroides*) carece de uno de los carotenoides de la cepa silvestre y por tanto es más verdoso.

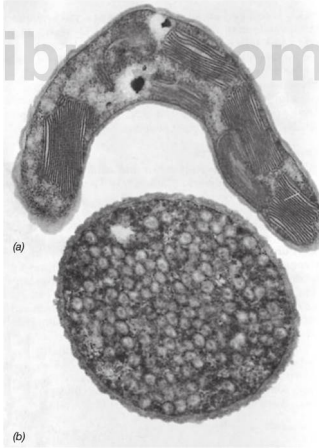
15.2 Bacterias fototróficas rojas

Géneros clave: *Chromatium, Ectothiorhodospira, Rhodobacter, Rhodospirillum*

Las bacterias rojas fototróficas llevan a cabo fotosíntesis anoxigénica. Es decir, en contraposición a las cianobacterias (Sección 16.7) no se produce liberación de O_2. Las bacterias pupúreas son un grupo morfológicamente diverso y la clasificación de estos organismos se ha establecido conforme a criterios filogenéticos, morfológicos y fisiológicos. Sus diferentes géneros caen dentro de las Alfa-, Beta-, o Gammaproteobacterias.

Las bacterias rojas contienen bacterioclorofilas y pigmentos carotenoides. En conjunto, estos pigmentos proporcionan a las bacterias rojas colores espectaculares, habitualmente púrpura, rojo o marrón (**Figura 15.2**). Examinaremos la estructura de dichos pigmentos y aprenderemos cómo permiten generar energía a partir de la luz (fotofosforilación) en la Sección 20.4.

Las bacterias rojas producen sistemas membranosos fotosintéticos en sus citoplasma en los cuales se insertan sus pigmentos. Estas membranas pueden tener diversas morfologías (**Figura 15.3**) pero en todos los casos se originan por invaginación de la membrana citoplásmica. Estas membranas internas permiten a las bacterias rojas disponer de mayor cantidad de pigmentos y por tanto utilizar mejor la luz disponible. Cuando estas células se cultivan en condiciones de alta intensidad lumínica, se reduce la cantidad de membranas y pigmentos. En contraposición, a baja intensidad de luz, las células están repletas de membranas y fotopigmentos.



C. C. Remsen

Jeffrey C. Burnham y S. C. Conti

Figura 15.3 Sistemas de membranas de bacterias rojas fotótrofas vistas por el microscopio electrónico. *(a) Ectothiorhodospira mobilis*, que tiene membranas fotosintéticas en forma de láminas (lamellae). *(b) Allochromatium vinosum*, que tiene membranas en forma de vesículas esféricas individuales.

www.medilibros.com

Bacterias rojas del azufre

Las bacterias rojas que utilizan sulfuro de hidrógeno (H_2S) como donante de electrones para la reducción del CO_2 durante la fotosíntesis se denominan **bacterias rojas del azufre** (**Tabla 15.2**). El sulfuro se oxida hasta azufre elemental (S^0) que se acumula en glóbulos dentro de las células (**Figura 15.4**); este azufre desaparece más tarde al ser oxidado hasta sulfato (SO_4^{2-}). Muchas bacterias rojas del azufre pueden usar también otros compuestos reducidos de azufre como donantes de electrones en la fotosíntesis, siendo el tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) uno de los donadores clave muy utilizado para el crecimiento de cultivos en laboratorio. Todas las bacterias rojas del azufre descubiertas hasta el momento son *Gammaproteobacteria*.

Tabla 15.2 Géneros y características de las bacterias rojas del azufre[a]

Características	*Género*
Azufre depositado externamente:	
Espirilos, flagelos polares	*Ectothiorhodospira*
Espirilos, alcalófilos extremos	*Thiorhodospira*
Espirilos, halófilos extremos	*Halorhodospira*
Azufre depositado internamente:	
No contienen vesículas gaseosas	
Formas ovales o bacilos, flagelos polares	*Chromatium* *Allochromatium;* *Halochromatium;* *Rhabdochromatium;* *Thermochromatium;* *Isochromatium;* *Marichromatium*
Esferas, alcalófilas	*Thioalkalicoccus*
Esferas, contienen bacterioclorofila *b*	*Thioflavicoccus*
Esferas	*Thiorhodococcus*
Esferas, diplococos, tétradas, inmóviles móvil;células 1,2-3 μm de diametro	*Thiocapsa*
Esferas u formas ovales, flagelos polares; células 2,5-3 μm de diametro	*Thiocystis*
Esferas, 1,5-2,5 μm de diametro	*Thiohalocapsa*
Esferas, 1-2 μm de diametro	*Thiorhodococcus*
Esferas, 1,2-1,5 μm de diametro	*Thiococcus*
Espirilos grandes, flagelos polares	*Thiospirillum*
Espirilos pequeños	*Thiorhodovibrio*
Contienen vesículas gaseosas	
Esferas irregulares formando placas de 4-16 células	*Thiolamprovum*
Bacilos	*Lamprobacter*
Esferas, formas ovales, flagelos polares	*Lamprocystis*
Bacilos, inmóviles; formando redes irregulares	*Thiodictyon*
Esferas, inmóviles; formando capas planas de tétradas	*Thiopedia*

[a] Desde un punto de vista filogenético, todos son miembros de *Gammaproteobacteria*.

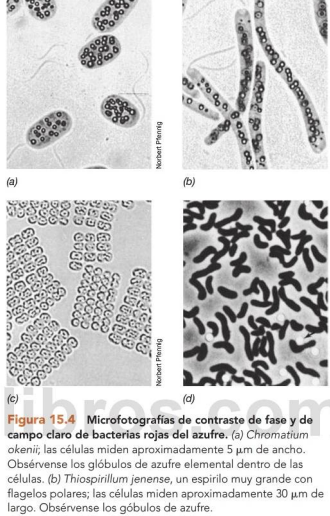
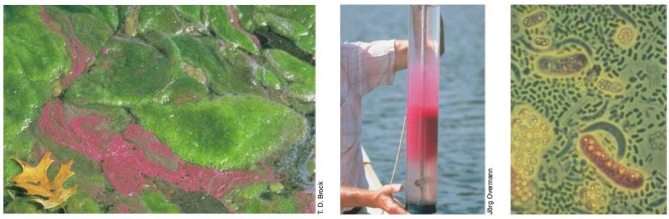


Figura 15.4 Microfotografías de contraste de fase y de campo claro de bacterias rojas del azufre. *(a) Chromatium okenii*; las células miden aproximadamente 5 μm de ancho. Obsérvense los glóbulos de azufre elemental dentro de las células. *(b) Thiospirillum jenense*, un espirilo muy grande con flagelos polares; las células miden aproximadamente 30 μm de largo. Obsérvense los gόbulos de azufre. *(c) Thiopedia rosea*; las células miden aproximadamente 1,5 μm de ancho. *(d)* Microfotografía de contraste de fase de células de Ectothiorhodospira mobilis. Las células miden aproximadamente 0,8 μm de ancho. Obsérvense los glóbulos externos de azufre (flecha). Compare la foto de Chromatium okenii con los dibujos de bacterias rojas del azufre realizados por el microbiólogo ruso Sergei Winogradsky hace más de 120 años que se muestran en la Figura 1.18.

Las bacterias rojas del azufre se encuentran generalmente en zonas anóxicas iluminadas de lagos y otros hábitats acuáticos en los que se acumula H_2S y también en «manantiales sulfurosos», en los que H_2S generado biológica o geoquímicamente puede desencadenar explosiones poblacionales de bacterias rojas del azufre (**Figura 15.5**). Los lagos más favorables para el desarrollo de bacterias rojas del azufre son los lagos meromícticos (permanentemente estratificados). Los lagos meromícticos se estratifican porque tiene agua más densa (usualmente salina) en el fondo y agua menos densa (normalmente dulce) mas cercana a la superficie. Si existe el suficiente sulfato para permitir su reducción, el sulfuro producido en los sedimentos difunde hacia las aguas profundas anóxicas y es aquí donde

www.medilibros.com



(a) (b) (c)

Figura 15.5 **Explosiones poblacionales («blooms» o «flores de mar») de bacterias rojas del azufre.** *(a) Lamprocystis roseopersicina*, en una fuente sulfurosa de Madison, Wisconsin. Las bacterias crecen cerca del fondo de la charca termal y flotan hasta la superficie (grácias a sus vesículas de gas) cuando se las remueve. El color verde corresponde a células del alga eucariota *Spirogyra* (Figura 18.38d). *(b)* Muestra de agua obtenida a una profundidad de 7 metros en el lago Mahoney de la Columbia Británica. El organismo más abundante es *Amoebobacter purpureus*. *(c)* Microfotografías de contraste de fase de capas de bacterias rojas del azufre provenientes de un pequeño lago estratificado en Michigan. Las bacterias rojas del azufre incluyen especies de *Chromatium* (bacilos grandes) y *Thiocystis* (cocos pequeños).

las bacterias rojas del azufre pueden acabar formando densas masas celulares, denominadas explosiones poblacionales(«blooms» o «flores de mar») habitualmente en asociación con bacterias verdes fotótrofas (**Figura 15.5*c***).

Los géneros *Ectothiorhodospira* y *Halorhodospira* presentan un especial interés. A diferencia de otras bacterias rojas del azufre estos organismos oxidan H_2S pero producen S^o fuera de la célula en lugar de en su interior (**Figura 15.4*d***). Estos géneros resultan también interesantes porque cuentan con numerosas especies que son halófilos (amantes de la sal) extremos o alcalófilos, incluyendo los organismos más extremos con estas características de entre todas las bacterias conocidas. Estos organismos habitualmente se encuentran en lagos salinos, lagos alcalinos y en salmueras.

Bacterias rojas no del azufre

Algunas bacterias rojas se denominan **bacterias rojas no del azufre** porque en un principio se pensó que eran incapaces de utilizar sulfuros como fuente de electrones para la reducción de CO_2 para formar material celular. De hecho, la mayoría de las especies en este grupo puede utilizar el sulfuro, aunque las concentraciones de sulfuro ideales para las bacterias rojas del azufre (1-3 mM) son a menudo tóxicas para la mayoría de las bacterias rojas no del azufre. Algunas bacterias rojas no del azufre también pueden crecer anaeróbicamente en la oscuridad utilizando un metabolismo respiratorio fermentativo o anaerobio y la mayoría pueden crecer en la oscuridad utilizando un metabolismo respiratorio aerobio. En las últimas condiciones mencionadas, la síntesis de la maquinaria fotosintética es reprimida por el oxígeno y como donante de electrones puede actuar un compuesto orgánico o en algunas especies incluso uno inorgánico como el H_2.

En cualquier caso lo que explica el éxito competitivo de este grupo en la naturaleza es su capacidad para la fotoheterotrofia (en la que la luz es la fuente de energía y un compuesto orgánico actúa como fuente de carbono). Una característica de las bacterias rojas no del azufre es su diversidad nutricional ya que utilizan como fuente de carbono compuestos orgánicos, grasas o aminoácidos; azúcares; alcoholes; o incluso compuestos aromáticos como el benzoato o el tolueno. La mayoría de las especies pueden también crecer fotoautotróficamente con $CO_2 + H_2$ o con CO_2 + bajos niveles de H_2S.

El aislamiento y enriquecimiento de bacterias rojas no del azufre es sencillo utilizando un medio con sales minerales suplementado con un ácido orgánico como fuente de carbono. Un medio de este tipo, inoculado con barro, agua lacustre o una muestra de aguas residuales e incubado en ausencia de oxígeno en presencia de luz selecciona invariablemente bacterias rojas no del azufre.

Los cultivos de enriquecimiento pueden hacerse aún más selectivos eliminando del medio fuentes de nitrógeno fijado (como por ejemplo NH_4^+) o fuentes orgánicas de nitrógeno (como por ejemplo extracto de levadura o peptona) y proporcionando una atmósfera de N_2; prácticamente todas las bacterias rojas no del azufre pueden fijar N_2 (Sección 20.14) y serán capaces de crecer en estas condiciones, por regla general superando a otras bacterias.

La diversidad morfológica de las bacterias rojas no del azufre es la característica de las bacterias rojas en general (**Tabla 15.3** y **Figura 15.6**) y en este sentido constituyen un grupo claramente heterogéneo. Todas las bacterias rojas no del azufre aisladas hasta el momento son bien alfa- o bien betaproteobacterias (**Figura 15.1**).

Tabla 15.3 Géneros y características de las bacterias rojas no del azufre[a]

Características	*Género*
Alfaproteobacterias	*Rhodospirillum*
Espirilos, flagelos polares	*Phaeospirillum; Rhodovibrio; Rhodothalassium; Roseospira; Rhodospira; Roseospirillum*
Bacilos, flagelos polares; se dividen por gemación	*Rhodopseudomonas Rhodoplanes Rhodobium*
Bacilos; se dividen por fisión binaria	*Rhodobacter*
Bacilos más o menos ovoideos	*Rhodovulum*
Formas ovoideas, flagelos peritricos; crecen por gemación y formación de hifas	*Rhodomicrobium*
Esferas grandes, acidófilas (pH 5 optimum)	*Rhodopila*
Esferas pequeñas, alcalófilas (pH 9 optimum)	*Rhodobaca*
Betaproteobacterias	
Con forma de anillo o espirilos	*Rhodocyclus*
Bacilos curvados	*Rubrivivax*
Bacilos curvados	*Rhodoferax*

[a] Todas son proteobacterias (véase Figura 15.1 y Tabla 15.1).

www.medilibros.com

15.2 Minirrevisión

Las bacterias rojas son protótrofos anoxigénicos que crecen fototróficamente, que obtienen carbono a partir de $CO_2 + H_2S$ (bacterias rojas del azufre) o a partir de compuestos orgánicos (bacterias rojas no del azufre). Las bacterias rojas no del azufre son fisiológicamente diversas y la mayoría son capaces de crecer como quimiorganótrofos en ausencia de luz. Las bacterias rojas están representadas entre las alfa, beta y gammaproteobacteria.

- ¿Qué significa el término anoxigénico?
- Sugiera un motivo esencial por el que las bacterias rojas no del azufre no llevan a cabo fotosíntesis en condiciones de aerobiosis.
- ¿Pueden crecer las bacterias rojas en ausencia de luz?

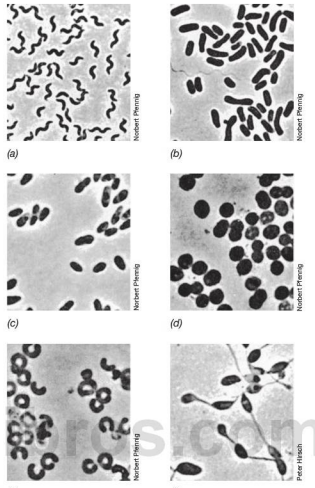


Figura 15.6 Ejemplos de varios géneros de bacterias rojas no del azufre. *(a) Phaeospirillum fulvum*; las células miden aproximadamente 3 μm de largo. *(b) Rhodoblastus acidophilus*; las células miden aproximadamente 4 μm de largo. *(c) Rhodobacter sphaeroides*; las células miden aproximadamente 1,5 μm de ancho. *(d) Rhodopila globiformis*; las células miden aproximadamente 1,6 μm de ancho. *(e) Rhodocyclus purpureus*; las células miden aproximadamente 0,7 μm de diámetro. *(f) Rhodomicrobium vannielii*; las células miden aproximadamente 1,2 μm de diámetro. Ver la Tabla 15.3.

15.3 Bacterias nitrificantes

Géneros clave: *Nitrosomonas, Nitrobacter*

Numerosas especies de bacterias son **quimiolitótrofas**. Las bacterias quimiolitótrofas se caracterizan fisiológicamente por su capacidad para utilizar donantes inorgánicos de electrones como fuente de energía (las bases conceptuales de la quimiolitotrofia se analizarán en la Sección 20.8). La mayoría de los quimiolitótrofos son también capaces de crecimiento autótrofo y en este sentido comparten un rasgo fisiológico esencial con las bacterias fotótrofas y las cianobacterias. Aquí nos centraremos en los quimiolitótrofos más estudiados: aquellos capaces de oxidar azufre reducido, compuestos nitrogenados o H_2.

Bacterias oxidantes de amoníaco y nitritos

Aquellas bacterias capaces de crecer quimiolitotróficamente utilizando compuestos nitrogenados inorgánicos reducidos se denominan **bacterias nitrificantes**. Se dividen en varios generos en base a su morfología y filogenia

y según los pasos específicos que siguen en sus reacciones de oxidación (**Tabla 15.4**). En un sentido filogenético las bacterias nitrificantes se distribuyen entre cuatro de las clases de proteobacterias: alfa, beta, gamma y delta. El género *Nitrospira* forma su propio filum de bacterias (Figura 15.1 y 15.38) y está relacionado con las demás bacterias nitrificantes tan solo en su metabolismo.

No se conoce ningún quimiolitótrofo que sea capaz de realizar la oxidación completa del amoníaco hasta nitrato. En consecuencia, la nitrificación en la naturaleza resulta de la acción secuencial de dos grupos distintos de organismos, las bacterias oxidantes del amoníaco, a veces llamadas nitrosificantes (**Figura 15.7**) y las bacterias oxidantes de nitritos, que son de hecho las productoras de nitratos (**Figura 15.8**). Las bacterias nitrosificantes tienen nombres de género que comienzan por «Nitroso», mientras que los nombres de género de las productoras de nitrato comienzan por «Nitro». Por ejemplo, *Nitrosomonas* y *Nitrobacter* son respectivamente géneros representativos de estos dos grupos de bacterias nitrificantes (Tabla 15.4). Históricamente, las bacterias nitrificantes fueron los primeros organismos de los que se demostró su capacidad para el crecimiento quimiolitotrófico. Winogradsky demostró que eran capaces de producir materia orgánica y masa celular cuando se les proporcionaba CO_2 como única fuente de carbono (*véase,* Información adicional, Capítulo 20).

Muchas especies de bacterias nitrificantes presentan sistemas internos de membranas muy similares a las membranas fotosintéticas que se encuentran en sus parientes filogenéticamente más cercanos, las bacterias rojas protótrofas (Sección 15.2) y las bacterias oxidantes de metano (metanotróficas) (Sección 15.6). En estas membranas se localizan enzimas clave en la nitrificación: amoníaco monoxigenasa, que oxida NH_3 (amoníaco) hasta NH_2OH (hidroxilamina) y la nitrito oxidasa, que oxida NO_2^- (nitrito) hasta NO_3^-. La hidroxilamina es oxidada

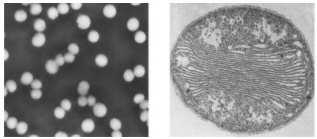


Figura 15.7 **Microfotografías de contraste de fase (izquierda) y con el microscopio electrónico (derecha) de la bacteria nitrosificante *Nitrosococcus oceani*.** Una sola célula mide aproximadamente 2 μm de diámetro.

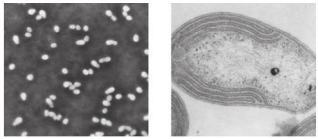


Figura 15.8 **Microfotografía de contraste de fase (izquierda) y con el microscopio electrónico (derecha) de la bacteria nitrificante *Nitrobacter winogradskyi*.** Cada célula mide aproximadamente 0,7 μm de diámetro.

www.medilibros.com

Tabla 15.4 **Características de las bacterias nitrificantes**

Características	*Género*	*Grupo Filogenético*[a]	*Hábitats*
Oxidan amonio:			
Gram-negativas, bacilos cortos o largos, móviles (flagelo polar) o no inmóviles; sistemas membranosos periféricos	*Nitrosomonas*	*beta*	Suelo, aguas residuales, agua dulce y salada
Cocos grandes, móviles; membranas vesiculares o periféricas	*Nitrosococcus*	*gamma*	Agua dulce y salada
Espirales, móviles (flagelos peritricos); sistema de membranas no aparente	*Nitrosospira*	*beta*	Suelo, agua dulce
Pleomórficas, lobulares, células compartimentadas; móviles (flagelos peritricos)	*Nitrosolobus*	*beta*	Suelo
Oxidan nitrito:			
Bacilos cortos, crecen por gemación, ocasionalmente móviles (flagelo subterminal único); sistema de membranas a modo de cubierta polar	*Nitrobacter*	*alfa*	Suelo, agua dulce y marina
Bacilos largos y finos, inmóviles; sistema de membranas no aparente	*Nitrospina*	*delta*	Marinas
Cocos grandes, móviles (uno o dos flagelos subterminal); sistema de membranas organizados en tubos al azar	*Nitrococcus*	*gamma*	Marinas
Células helicoidales o con forma de vibrio, inmóviles; carecen de membranas internas	*Nitrospira*	Grupo *Nitrospira*	Suelo, agua marina

[a] Filogenéticamente, todas las bacterias nitrificantes que se han analizado hasta ahora son proteobacterias, excepto en el caso de *Nitrospira*, que constituye su propio linaje filogenético (Figura 15.1), o ciertos crenarcaeotas marinos (Sección 17.12).

hasta NO_2^- por las bacterias nitrosificantes, produciendo así el sustrato para las bacterias oxidantes del nitrito (Sección 20.12).

Ecología, aislamiento y cultivo

Las bacterias nitrificantes están ampliamente distribuidas en suelos y aguas. Son más abundantes en hábitats con una considerable concentración de amoníaco, como por ejemplo lugares donde se produce mucha descomposición de proteínas (amonificación) y también en plantas de tratamiento de aguas residuales (Sección 36.2). Las bacterias nitrificantes se desarrollan especialmente bien en lagos y corrientes de agua que reciben aportes de aguas residuales porque éstas suelen ser ricas en amoníaco (Figura 23.9).

Los cultivos de enriquecimiento de bacterias nitrificantes se consiguen usando medios con sales minerales que contienen amoníaco o nitrito como donante de electrones y bicarbonato (HCO_3^-) como única fuente de carbono. Debido al ineficaz crecimiento de estos organismos (Sección 20.12), es posible que no se observe turbidez incluso cuando ya se haya producido intensa nitrificación. Por tanto, una forma sencilla de supervisar su crecimiento es ensayar la producción de nitrito (usando amoníaco como donante de electrones) o el consumo de nitrito y la producción de nitrato (usando nitrito como donante de electrones). La mayoría de las bacterias nitrificantes son quimiolitótrofos y aerobios estrictos. Las especies de *Nitrobacter* son una excepción ya que son capaces de crecer de modo quimioorganótrofo usando acetato o piruvato como única fuente de carbono. Existe un grupo, los organismos Anammox (Sección 20.13) que son filogenéticamente distintos y oxidan amoníaco anaeróbicamente.

15.4 Bacterias oxidantes del azufre y el hierro

Géneros clave: *Thiobacillus, Acidithiobacillus, Achromatium, Beggiatoa*

La capacidad de crecer quimiolitotróficamente sobre compuestos reducidos de azufre es una propiedad característica de un variado grupo de las proteobacterias (**Tabla 15.5**). Existen dos amplias clases ecológicamente distintas de bacterias oxidantes del azufre, aquellas que viven a pH neutro y aquellas que viven a pH ácido. Algunos de estos acidófilos también son capaces de crecer quimiolitotróficamente utilizando ión ferroso (Fe^{2+}) como donante de electrones. Analizaremos la biogeoquímica de las bacterias oxidantes de hierro y azufre en las Seciones 24.4-24.6 y la bioquímica de estos procesos en las Secciones 20.10 y 20.11.

www.medilibros.com

Tabla 15.5 Características fisiológicas de procariotas quimiolitótrofos que oxidan azufres

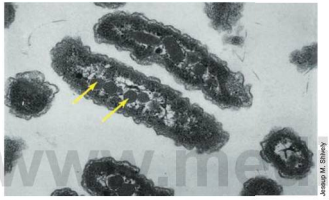
Géneros y especies	*Donador inorgánico de electrones*	*Rango de pH para crecer*	*Grupo filogenético*[a]
Especies que crecen poco o nada en medio orgánico:			
Thiobacillus thioparus	H_2S, sulfatos, S^0, $S_2O_3^{2-}$	6-8	*Beta*
Thiobacillus denitrificans[b]	H_2S, S^0, $S_2O_3^{2-}$	6-8	*Beta*
Halothiobacillus neapolitanus	S^0, $S_2O_3^{2-}$	6-8	*Gamma*
Acidithiobacillus thiooxidans	S^0	2-4	*Gamma*
Acidithiobacillus ferrooxidans	S^0, sulfátos metálicos, Fe_2^+	2-4	*Gamma*
Especies que crecen bien en medio orgánico:			
Starkeya novella	$S_2O_3^{2-}$	6-8	*Alfa*
Thiomonas intermedia	$S_2O_3^{2-}$	3-7	*Beta*
Quimiolitótrofos del azufre, filamentosos:			
Beggiatoa	H_2S, $S_2O_3^{2-}$	6-8	*Gamma*
Thiothrix	H_2S	6-8	*Gamma*
Thioploca[c]	H_2S, S^0	—	*Gamma*
Otros géneros:			
Achromatium	H_2S	—	*Gamma*
Thiomicrospira	$S_2O_3^{2-}$, H_2S	6-8	*Gamma*
Thiosphaera[d]	H_2S, $S_2O_3^{2-}$, H_2	6-8	*Alfa*
Thermothrix	H_2S, $S_2O_3^{2-}$, SO_3^-	6,5-7,5	*Beta*
Thiovulum	H_2S, S^0	6-8	*Epsilon*

[a] Todas son proteobacterias.
[b] Anaerobios facultativos; usan $NO3^-$ como aceptor de electrones anaeróbicos.
[c] No se dispone de cultivos puros.
[d] *Thiosphaera pantotropha* tiene la misma secuencia en el gen del rRNA 16S que *Paracoccus denitrificans.*

Thiobacillus y *Achromatium*

El género *Thiobacillus* y sus parientes cercanos incluyen varios bacilos gramnegativos, morfológicamente indistinguibles del resto de bacilos gramnegativos (**Figura 15.9a**); son los más estudiados de los quimiolitótrofos del azufre. Filogenéticamente las especies de *Thiobacillus* están esparcidas entre las proteobacterias, con diversas especies incluidas entre las alfa, beta y gammaproteobacteria (Tabla 15.5). Los compuestos de azufre más habitualmente utilizados como donantes de electrones en el metabolismo quimiolitótrofo de los *Thiobacillus* son el H_2S, el S^0 y el $S_2O_3^{2-}$. Mediante el uso de estos compuestos pueden obtenerse grandes cantidades de energía y veremos en la Sección 20.10 que parte de esta energía puede almacenarse en forma de ATP a partir de reacciones de transporte de electrones que generan fuerza protón-motriz. Además, el uso de estos sustratos genera grandes cantidades de ácido sulfúrico, lo que implica que muchos *Thiobacillus* son acidófilos. Una especie acidófila, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, también puede crecer quimiolitotróficamente mediante la oxidación del ión ferroso y es uno de los principales agentes biológicos implicados en la oxidación de dicho metal. La pirita de hierro (FeS_2) es una importante fuente de Fe^{2+} así como de sulfuro. La oxidación del FeS_2, especialmente en explotaciones mineras, puede ser tanto beneficiosa (porque el lavado del mineral en bruto libera el hierro de la pirita) como ecológicamente desastrosa (ya que el medio ambiente se acidifica y se contamina con metales pesados asociados a la pirita) (Secciones 24.5 y 24.6).

Achromatium es un quimiolitótrofo esférico oxidador de azufre habitual en sedimentos sulfurados de agua dulce. Las células de *Achromatium* son grandes cocos de un diámetro entre 10-100 μm (**Figura 15.9b**). El análisis filogenético de poblaciones naturales de *Achromatium* demuestra la probable existencia de diferentes especies (posiblemente cada una con distinto tamaño), pero todavía no se han conseguido cultivos puros de este organismo. Filogenéticamente *Achromatium* pertenece a las gammaproteobacterias y está emparentado específicamente con las bacterias rojas fototróficas, del tipo de su equivalente fototrófico *Chromatium* (Sección 15.2 y **Figura 15.4a**). Como *Chromatium*, las células de *Achromatium* almacenan en su interior azufre elemental (**Figura 15.9b**); los gránulos acaban desapareciendo conforme el azufre es oxidado hasta sulfato. Las células de *Achromatium* también acumulan grandes gránulos de calcita ($CaCO_3$) (**Figura 15.9b**), probablemente como fuente de carbono para el crecimiento autotrófico.



(a)

(b)

Figura 15.9 **Quimiolitótrofos sulfurosos no filamentosos.** *(a)* Microfotografía con microscopio electrónico de transmisión de células de *Halothiobacillus neapolitanus*, un quimiolitótrofo oxidador del azufre. Cada célula mide aproximadamente 0,5 μm de diámetro. Obsérvense los cuerpos poliédricos (carboxisomas) distribuidos por toda la célula (flechas). *(b) Achromatium*. Células aisladas de un pequeño lago en Alemania y fotografiadas por microscopía Nomarski. Las pequeñas estructuras globulares en la periferia de las células (flecha) son azufre elemental y los gránulos grandes están compuestas de carbonato de calcio. Una célula de *Achromatium* mide aproximadamente 25 μm de diámetro.

Cultivo

Algunos quimiolitótrofos del azufre son quimiolitótrofos estrictos, forzados a un estilo de vida basado en el uso de compuestos inorgánicos en lugar de orgánicos como donadores de electrones. Cuando crecen de este modo, también son autótrofos y transforman el CO_2 en material celular mediante las reacciones del Ciclo de Calvin (Sección 20.6). Los **carboxisomas** están presentes a menudo en las células de los quimiolitótrofos estrictos (**Figura 15.9a**). Estas estructuras contienen altos niveles de enzimas del Ciclo de Calvin y probablemente incrementan el ritmo de fijación de CO_2 de estos organismos.

Otros quimiolitótrofos del azufre son quimiolitótrofos facultativos, en tanto que pueden crecer bien como quimiolitótrofos (y por tanto, autotróficamente) o bien como quimioorganótrofos (Tabla 15.5). Sin embargo, la mayoría de las especies de *Beggiatoa* pueden obtener energía de la oxidación de compuestos inorgánicos de azufre, pero carecen de las enzimas del Ciclo de Calvin. Por tanto, requieren compuestos orgánicos como fuentes de carbono. Este estilo de vida nutricional se denomina **mixotrofia.**

Beggiatoa

Los organismos de este género son bacterias filamentosas, deslizantes y oxidantes de azufre. Los filamentos de *Beggiatoa* son habitualmente largos y de gran diámetro, formados por numerosas células cortas unidas por los extremos (**Figura 15.10**). Los filamentos flexionan y se retuercen de manera que varios filamentos acaban entrelazados para formar un complejo manojo.

En la naturaleza *Beggiatoa* se encuentra fundamentalmente en hábitats ricos en H_2S, como los manantiales sulfurosos (**Figura 15.10*b***), lechos de algas en putrefacción, capas cenagosas de lagos y aguas contaminadas con aguas residuales. En este tipo de medio ambiente los filamentos de *Beggiatoa* están habitualmente rellenos de gránulos de sulfuros (**Figura 15.10*a***). Las *Beggiatoa* son también habitantes habituales de las chimeneas hidrotermales (Sección 24.11). Fue utilizando *Beggiatoa* como Winogradsky demostró por vez primera que un organismo puede oxidar H_2S hasta S^0 y más tarde hasta SO_4^{2-}, lo que llevó a proponer el concepto de quimiolitotrofia (Información adicional, Capítulo 20). Aunque algunas cepas de *Beggiatoa* son auténticos quimiolitótrofos autótrofos, la mayoría crecen mejor mixotróficamente utilizando compuestos reducidos de azufe como donantes de electrones y compuestos orgánicos como fuente de carbono.

Un hábitat interesante de las *Beggiatoa* es la rizosfera de plantas (arroz, *Typha sp.* y otras plantas de zonas encharcadas) que viven en suelos inundados y en consecuencia carentes de oxígeno. Estas plantas bombean oxígeno hacia sus raíces, desarrollándose una interfase aerobia-anaerobia muy definida entre las raíces y el suelo. Las *Beggiatoa* (y probablemente otras bacterias del azufre) se desarrollan en esta frontera y juegan un papel beneficioso para la planta al oxidar (y por tanto detoxificar) el H_2S.

Las *Beggiatoa* y otras bacterias filamentosas como *Sphaerotilus* (Sección 15.14) pueden causar graves alteraciones en la formación de precipitados de plantas de tratamiento de aguas residuales y en depósitos de residuos líquidos industriales provenientes de papeleras, fábricas de cerveza, envasadoras o trituradoras. A este problema se le denomina engrosamiento y ocurre cuando bacterias filamentosas como las *Beggiatoa* desplazan a la flora habitual de estos residuos y forman un floculado residual poco denso en lugar del habitual floculado denso de fácil precipitación que se forma con organismos tipo *Zooglea* y otras bacterias propias de las aguas residuales (Sección 36.2). Si se produce engrosamiento el agua residual no queda tratada convenientemente ya que al ser decantada sigue arrastrando materia orgánica y nutrientes inorgánicos (Sección 36.2).

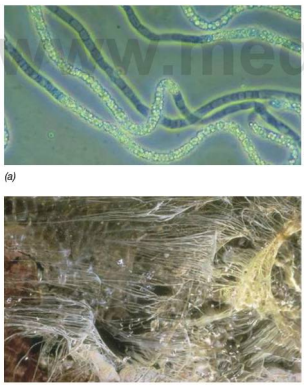


Figura 15.10 **Bacterias filamentosas oxidantes de azufre.** *(a)* Microfotografía de contraste de fase de una especie de *Beggiatoa* aislada en una planta de tratamiento de residuos. Obsérvense los abundantes gránulos de azufre en algunas de las células. *(b) Bacterias oxidantes de azufre* en el agua de una pequeña fuente sulfurosa. Las células filamentosas se entrelazan para formar gruesas serpentinas, cuyo color blanco se debe a su abundante contenido en azufre elemental.

Thioploca y *Thiothrix*

Otras bacterias filamentosas oxidantes de azufre son *Thioploca* y *Thiothrix*. *Thioploca* es un quimiolitótrofo oxidador de azufre filamentoso y de gran tamaño que forma manojos de células envueltas por una vaina única (**Figura 15.11**). En el fondo oceánico junto a las costas de Chile y Perú se han encontrado gruesos tapices de especies marinas de *Thioploca*. El estudio sobre la ecología de estos organismos ha demostrado que llevan a cabo la oxidación en ausencia de oxígeno del H_2S asociada a la reducción

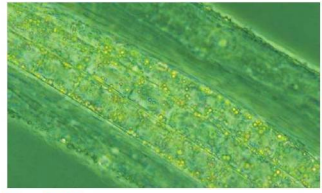
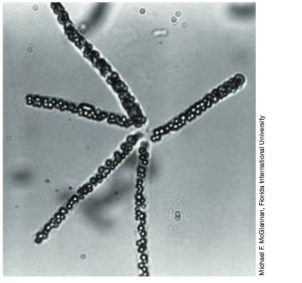


Figura 15.11 **Células de una especie marina de *Thioploca* de gran tamaño.** Las células contienen gránulos de azufre (amarillo) y miden aproximadamente 40-50 μm de ancho.

del nitrato (NO_3^-) hasta amonio (NH_4^+) (Sección 21.7). Las células de *Thioploca* acumulan enormes cantidades de nitrato intracelularmente y pueden utilizar este nitrato para llevar a cabo largos períodos de respiración anaerobia utilizando H_2S como donante de electrones. Se cree que estos tapices de *Thioploca* fijan cantidades substanciales de CO_2 y que también juegan un papel esencial en el ciclo del sulfuro y del nitrógeno en el medio ambiente marino. En las chimeneas hidrotermales también se pueden encontrar tapices bacterianos formados fundamentalmente por *Beggiatoa* (Sección 24.11); en este caso la conexión con la respiración del nitrato no está bien establecida.

Thiothrix es un organismo filamentoso oxidador de azufre en el cual los filamentos se agrupan uniéndose por sus extremos por medio de un anclaje para formar estructuras celulares denominadas rosetas (**Figura 15.12**).

(a)



(b)

Figura 15.12 ***Thiothrix.*** *(a)* Un pozo artesiano que contiene sulfuros en Florida (USA). El exterior del pozo está recubierto con un tapete de *Thiothrix*. El tapete mide aproximadamente 1,5 m de diámetro. *(b)* Microfotografía de contraste de fase de una roseta de células de *Thiothrix aislada* del pozo y obtenida como cultivo puro. Obsérvense los glóbulos internos de azufre producidos por la oxidación del sulfuro. Cada filamento mide aproximadamente 4 μm de diámetro.

Fisiológicamente *Thiothrix* es un mixótrofo aerobio estricto y tanto en este aspecto como en otros se parece a *Beggiatoa*.

15.5 Bacterias oxidantes del hidrógeno

Géneros clave: *Ralstonia, Paracoccus*

Numerosas bacterias pueden crecer con H_2 como único donante de electrones y con O_2 como aceptor de electrones utilizando como metabolismo energético la reacción «knallgas» es decir la reducción de O_2 con H_2:

$$H_2 + \tfrac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O \qquad \Delta G^{0\prime} = -237 \text{ kJ}$$

La mayoría de estos organismos también pueden crecer autotróficamente (utilizando las reacciones del Ciclo de Calvin para incorporar CO_2) y aquí se agrupan junto con bacterias quimiolitótrofas oxidantes de hidrógeno. Se conocen tanto bacterias grampositivas como gramnegativas y sus representantes mejor estudiados se clasifican en los géneros *Ralstonia* (**Figura 15.13**), *Pseudomonas* y *Paracoccus* (**Tabla 15.6**). Las diferentes bacterias oxidantes del hidrógeno están esparcidas entre las clases alfa, beta y gamma de las proteobacterias. Todas las bacterias oxidantes de hidrógeno contienen una o más enzimas hidrogenasas que funcionan uniendo H_2 y utilizándolo bien para producir ATP (Sección 20.9) o bien por su poder reductor para el crecimiento autotrófico (**Tabla 15.6**).

Casi todas las bacterias del hidrógeno son quimiolitótrofos facultativos, lo que significa que también pueden crecer de modo quimioorganótrofo utilizando compues-

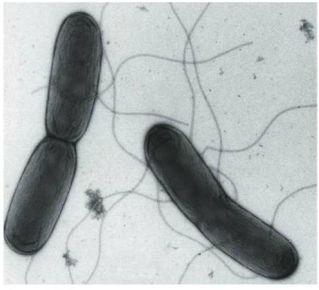


Figura 15.13 **Bacterias del hidrógeno.** Microfotografía con microscopio electrónico de transmisión de células teñidas de *Ralstonia eutropha*, un quimiolitótrofo oxidador de hidrógeno. Cada célula mide aproximadamente 0,6 μm de diámetro y posee varios flagelos.

Tabla 15.6 Características diferenciales de algunas especies comunes de bacterias que oxidan hidrógeno

Género y especie	*Desnitrificación*	*Crecen en fructosa*	*Movilidad*	*Gropo filogenético*[a]	*Otras características*
Gram-negativas					
Acidovorax facilis	−	+	+	Beta	Hidrogenasa unida a membranas
Ralstonia eutropha	+	+	+	Beta	Hidrogenasa unida a membranas y citoplásmica
Achromobacter xylosoxidans	−	+	+	Beta	Hidrogenasa unida a membranas y citoplásmicas hydrogenases
Aquaspirillum autotrophicum	−	−	+	Beta	Hidrogenasa unida a membranas
Pseudomonas carboxydovorans	−	−	+	Gamma	Hidrogenasa unida a membranas; también oxidan CO
Hydrogenophaga flava	−	+	+	Beta	Colonias de un amarillo brillante
Paracoccus denitrificans	+	+	−	Alfa	Hidrogenasa unida a membranas; desnitrificador fuerte
Aquífex pyrophilus	+	−	+	Grupo Aquifex [b]	Hipertermófilo, crece microaerofílicamente o anaeróbicamente (con NO_3^-), quimiolitótrofo estricto; también utiliza S^0 o $S_2O_3^{2-}$ como donador de electrones
Hydrogenobacter thermophilus	−	−	−	Grupo Aquifex [b]	Como Aquífex, pero aeróbio estricto (microaerófilo)
Gram-positivas					
Bacillus schlegelii	−	−	+	Gram-positive[c] de GC bajo	Produce endosporas; termófilo; también usa CO o $S_2O_3^{2-}$ como donador de electrones
Arthrobacter sp.	−	+	−	Actinobacterias[d]	Hidrogenasa unida a membranas
Mycobacterium gordonae	−	?	−	Actinobacterias[d, e]	Ácido-alcohol resistente; colonias entre amarillo y naranja

[a] Las bacterias aerobias del hidrógeno son *Proteobacteria* excepto cuando así se indica.
[b] *Véase* Sección 16.20.
[c] *Véase* Sección 16.2.
[d] *Véase* Sección 16.4.
[e] *Véase* Sección 16.5.

www.medilibros.com

tos orgánicos como fuente de energía. Esta es una diferencia importante entre quimiolitótrofos del hidrógeno y muchos quimiolitótrofos del azufre o bacterias nitrificantes. La mayoría de los miembros de estos grupos son quimiolitótrofos estrictos —no pueden crecer en ausencia de una fuente de energía inorgánica. En contraposición, los quimiolitótrofos del hidrógeno pueden alternar entre sus modos metabólicos quimiolitotróficos y quimioorganotróficos según lo requieran las condiciones reinantes en sus hábitats.

Fisiología y ecología de las Bacterias del hidrógeno

Cuando crecen quimiolitotróficamente utilizando H_2 la mayoría de las bacterias del hidrógeno crecen mejor en condiciones de microaerobiosis (5-10% O_2) porque normalmente las hidrogenasas son sensibles al oxígeno. Para el crecimiento quimiolitotrófico también es necesaria la presencia de níquel en el medio, porque prácticamente todas las hidrogenasas requieren Ni^{2+} como cofactor esencial. Unas pocas bacterias del hidrógeno son también capaces de fijar nitrógeno molecular, lo que hace posible su crecimiento en un medio con sales minerales provisto tan sólo de H_2, O_2, CO_2 y N_2 como fuentes de carbono, energía y nitrógeno.

El enriquecimiento de un cultivo en bacterias oxidantes del hidrógeno se consigue inoculando las muestras de suelo o agua en un medio con una pequeña cantidad de sales minerales que incluya trazas de metales (especialmente Ni^{2+} y Fe^{2+}) e incubándolo en un recipiente grande sellado con una atmósfera del 5% O_2, 10% CO_2 y 85% H_2. Cuando el medio líquido desarrolla turbidez se aíslan colonias en placas del mismo medio y se incuban en un contenedor de cristal que contenga la misma mezcla de gases (que debe manejarse con precaución ya que la mezcla de O_2 y H_2 presenta cierto riesgo de explosión).

Oxidación del CO

Algunas bacterias del hidrógeno pueden crecer con monóxido de carbono, CO, como donante de electrones. Electrones procedentes de la oxidación del CO hasta CO_2 entran en la cadena de transporte de electrones y generan fuerza protón-motriz. Las bacterias oxidantes de CO, llamadas bacterias carboxidotróficas, crecen autotróficamente usando el Ciclo de Calvin (Sección 20.6) para fijar el CO_2 generado por la oxidación del CO. El monóxido de

carbono es oxidado a CO_2 por la enzima deshidrogenasa del monóxido de carbono, una enzima que contiene molibdeno. El molibdeno en la deshidrogenasa de CO está unido a un cofactor formado por una estructura de múltiples anillos denominada pterina, algo parecido al caso de la enzima nitrato reductasa (Sección 21.7).

En la naturaleza el consumo de CO por las bacterias carboxidotróficas es un proceso con relevancia ecológica. Aunque los seres humanos y otras fuentes generan mucho CO, los niveles de CO en la atmósfera no se han incrementado de manera significativa en muchos años. Dado que la máxima liberación de CO se produce en ambientes aerobios (fundamentalmente por los gases de escape de automóviles, la combustión parcial de combustibles fósiles y por el catabolismo de la lignina) las bacterias carboxidotróficas en las capas superiores del suelo representan el principal sumidero de CO en la naturaleza.

Al menos un tipo de bacteria carboxidotrófica puede crecer anaeróbicamente en CO usando nitrato como aceptor de electrones, aunque esta no parece ser una característica generalizada del grupo. Como las bacterias del hidrógeno, prácticamente todos los aislamientos de bacterias carboxidotróficas también pueden crecer como quimiorganótrofos usando compuestos orgánicos o CO.

15.3-15.5 Minirrevisión

Los quimiolitótrofos son bacterias que pueden oxidar donadores de electrones inorgánicos y que en numerosos casos utilizan CO_2 como única fuente de carbono.

- Compare y contraste las bacterias nitrificantes con las bacterias del azufre, del hierro y del hidrógeno en cuanto a sus donadores inorgánicos de electrones y a sus fuentes de carbono y en cuanto a sus hábitats principales.
- ¿Qué ruta metabólica para la asimilación del CO_2 está presente en muchos quimiolitótrofos?

15.6 Bacterias metanótrofas y metilótrofas

Géneros clave: *Methylomonas, Methylobacter*

El metano (CH_4) es muy abundante en la naturaleza. Se produce en ambientes anaerobios por acción de arqueas metanogénicas (Secciones 17.4 y 21.10) y está presente en gran cantidad en cienos, marismas (**Figura 17.5**), lagos, el rumen y en el tracto intestinal de mamíferos. El metano es un componente principal del gas natural y también se encuentra en numerosos yacimientos de carbón.

El metano es una molécula químicamente estable pero ciertas bacterias, los **metanótrofos**, son perfectamente capaces de oxidarlo. Estas bacterias usan el metano y algunos otros compuestos de un solo carbono como donadores de electrones para la generación de energía y como única fuente de carbono.Estas bacterias son aerobias y están muy extendidas en la naturaleza, tanto en suelos como en agua. Presentan diversas morfologías y están relacionadas entre sí tanto en el sentido filogenético como en su capacidad para oxidar metano. El metano es poco abundante en sedimentos marinos, en los que la forma principal de respiración es la reducción anaeróbica de sulfatos y no la metanogénesis (Sección 24.2).

Metabolismo C1

La **Tabla 15.7** enumera los compuestos procesados por el catabolismo de los metanótrofos. Desde un punto de vista bioquímico, estos compuestos comparten una característica clave: carecen de enlaces carbono-carbono. Por tanto, todos los compuestos orgánicos de la célula deben sintetizarse a partir de precursores C_1. Aquellos organismos que pueden crecer usando compuestos de carbono que carecen de enlaces C—C se denominan metilótrofos. Muchos de los **metilótrofos**, aunque no todos, son también metanótrofos. Sin embargo los metanótrofos son únicos en tanto que pueden crecer no sólo utilizando algunos de los compuestos de un solo carbono más oxidados (Tabla 15.7), sino también usando metano.

Los metanótrofos tienen una enzima clave, la monoxigenasa de metano, que introduce un átomo de oxígeno del O_2 en el metano, formando metanol (Sección 21.16). La necesidad de O_2 como reactivo en la oxigenación inicial del metano explica por qué los metanótrofos son aerobios estrictos (en la Sección 21.13 veremos que el metano también puede ser oxidado en ausencia de oxígeno por un consorcio específico de organismos). Todos los

Tabla 15.7 Sustratos utilizados por bacterias metilotróficas[a]

I. Sustratos usados para crecer	
Metano, CH_4[b]	Fórmico, $HCOO_2$
Metanol, CH_3OH	Formamida, $HCONH_2$
Metilamina, CH_3NH_2	Monóxido de carbono, CO
Dimetilamina, $(CH_3)_2NH$	Dimetil éter, $(CH_3)_2O$
Trimetilamina, $(CH_3)_3N$	Dimetil carbonato, $CH_3OCOOCH_3$
Tetrametilamonio, $(CH_3)_4N^+$	Dimetil sulfóxido, $(CH_3)_2SO$
Trimetilamine N-oxido, $(CH_3)_3NO$	Dimetilsulfato, $(CH_3)_2S$
Trimetilsulfonio, $(CH_3)_3S^+$	
II. Sustratos oxidables pero no utilizables para crecer	
Amonio, NH_4^+	Bromometano, CH_3Br
Etileno, $H_2C{=}CH_2$	Hidrocarburos de más carbonos (etano, propano)
Clorometano, CH_3Cl	

[a] Un solo aislamiento no usa todos, pero hay al menos una bacteria metilotrófica que usa cada uno de ellos.
[b] Los metilótrofos que oxidan metano se denominan metanótrofos.

www.medilib.ir

metanótrofos son consumidores estrictos de compuestos C_1, incapaces de utilizar compuestos que contengan enlaces carbono-carbono. En contraposición, muchos metilotrofos no metanótrofos pueden utilizar ácidos orgánicos, etanol y azúcares.

Las bacterias oxidantes de metano son únicas entre las bacterias en tanto que poseen niveles relativamente elevados de esteroles. Como indicamos en la Sección 4.3, los esteroles son un elemento funcional de los sistemas de membranas eucariotas, pero están ausentes en la mayoría de las bacterias. Veremos cómo en los metanótrofos los esteroles pueden constituir un elemento esencial del sistema de membranas internas para la oxidación del metano. El otro único grupo de bacterias en el que los esteroles están bien representados es el de los micoplasmas, carentes de pared celular (Sección 16.3).

Clasificación de los metanótrofos

La **Tabla 15.8** presenta una visión general de la taxonomía de los metanótrofos. Estas bacterias se diferenciaron inicialmente según su morfología y la producción de formas de reposo. Sin embargo, ahora se clasifican en dos grupos principales, según su estructura celular interna, su filogenia y sus rutas de asimilación de carbono. Los metanótrofos tipo I asimilan compuestos de un solo carbono por medio del ciclo de la ribulosa monofosfato y filogenéticamente se consideran gammaproteobacterias. En contraposición, los metanótrofos tipo II asimilan intermediarios C_1 por medio de la ruta de la serina y filogenéticamente se consideran alfaproteobacterias (Tabla 15.8). Analizaremos los detalles metabólicos de estas rutas en la Sección 21.16.

Ambos grupos de metanótrofos contienen grandes sistemas de membranas internas para la oxidación del metano. Las membranas de los metanótrofos tipo I están distribuidas en haces de vesículas discoideas distribuidas por toda la célula (**Figura 15.14b**). Las especies tipo II presentan membranas emparejadas que se extienden por

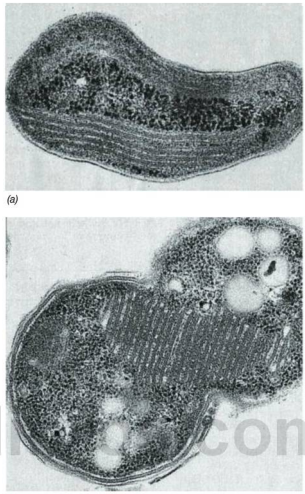


Figura 15.14 Microfotografía con microscopio electrónico de metanótrofos. *(a)* Una especie de *Methylosinus*, que muestra un sistemas de membranas tipo II. Las células miden aproximadamente 0,6 μm de diámetro. (b) *Methylococcus* capsulatus, que muestra un sistemas de membranas tipo I. Las células miden aproximadamente 1 μm de diámetro.

Tabla 15.8 Algunas características de bacterias metanotrofas

Organismo	*Morfología*	*Grupo filogenético*[a]	*Formas de reposo*	*Membranas internas*[b]	*Ciclo del ácido cítrico*[c]	*Ruta de asimilzación del carbono*[d]	*Fijación de N_2*
Methylomonas	Bacilo	*Gamma*	Quistes	I	Incompleta	Ribulosa monofosfato	No
Methylomicrobium	Bacilo	*Gamma*	No tiene	I	Incompleta	Ribulosa monofosfato	No
Methylobacter	Coco a elipsoide	*Gamma*	Quistes	I	Incompleta	Ribulosa monofosfato	No
Methylococcus	Coco	*Gamma*	Quistes	I	Incompleta	Ribulosa monofosfato	Si
Methylosinus	Bacilo o vibrioide	*Alfa*	Exospora	II	Completa	Serina	Si
Methylocystis	Bacilo	*Alfa*	Exospora	II	Completa	Serina	Si
Methylocellae	Bacilo	*Alfa*	Exospora	II	Completa	Serina	Si

[a] Todas son proteobacterias.

[b] Membranas internas: Tipo I, grupos de vesículas con forma de disco distribuidas por todo el organismo; tipo II, membranas emparejadas organizadas en la periferis de la célula. Ver Figura 15.15.

[c] Organismos con un ciclo del ácido cítrico incompleto carecen de la enzima -α-cetoglutarato deshidrogenasa y no pueden oxidar acetato a CO_2.

[d] *Véanse* Figuras 21.33 y 21.34. A diferencia de otros metilótrofos, *Methylococcus* contiene las enzimas del ciclo de Calvin.

[e] Acidófilo, crecimiento óptimo a pH 5.

toda la periferia de la célula (**Figura 15.14*a***). La enzima clave monooxigenasa de metano se localiza en estas membranas.

Los metanótrofos tipo I también se caracterizan por la carencia de un ciclo del ácido cítrico completo (ya que carecen de la enzima α-cetoglutarato deshidrogenasa), mientras que los organismos tipo II poseen el ciclo completo. La carencia de un ciclo del ácido cítrico completo (**Figura 5.22**) disminuye considerablemente la capacidad de un organismo para crecer quimioorganotróficamente e imposibilita su crecimiento a partir de muchos compuestos orgánicos, porque las reacciones de este ciclo son importantes para la generación de NADH. Este puede ser por tanto el motivo por el cual los metanótrofos tipo I son metilótrofos estrictos.

Ecología y aislamiento

Los metanótrofos están presentes en medios ambientes acuáticos y terrestres ya que se encuentran en cualquier lugar donde exista un suministro estable de metano. El metano que se produce en las zonas anaerobias de ciertos lagos se difunde hacia arriba por la columna de agua y los metanótrofos suelen concentrarse en la estrecha banda de contacto entre el metano y el oxígeno. Por tanto las bacterias oxidantes de metano desarrollan un papel importante en el ciclo del carbono, al transformar el metano procedente de la descomposición anaerobia en material celular y CO_2.

Para el enriquecimiento de metanótrofos sólo se necesita un medio con sales minerales en una atmósfera del 80% de metano y del 20% de aire. Una vez que se consigue un crecimiento considerable se pueden purificar mediante el repetido aislamiento de colonias en placas de medio sólido con sales minerales incubadas en un contenedor que contenga una mezcla de aire y metano. Las colonias que crezcan en estas placas son normalmente de dos tipos: quimioorganótrofos no metanótrofos que crecen a partir de trazas de materia orgánica presentes en el medio de cultivo y que aparecen al cabo de 1-2 días y los metanótrofos, que aparecen aproximadamente al cabo de una semana. Las colonias formadas por muchos metanótrofos son rosadas debido a la producción de diversos pigmentos carotenoides, siendo este un rasgo que puede facilitar su aislamiento.

Metanótrofos y Bacterias nitrosificantes

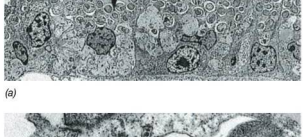
Los metanótrofos son capaces de oxidar amoníaco, aunque no pueden crecer quimiolitotróficamente usando amonio como único donante de electrones. Además de la oxidación del metano, la monooxigenasa de metano también es capaz de oxidar amonio, de modo que se produce una interacción competitiva entre ambos sustratos. Por este motivo el amoníaco generalmente es tóxico para los metanótrofos y su fuente de nitrógeno preferida es el nitrato.

Se ha especulado que las bacterias metanotróficas puedan haber evolucionado a partir de las bacterias nitrosificantes por medio de mutaciones que han transformado la monooxigenasa de amonio en una monooxigenasa de metano. El hecho de que ambos grupos de bacterias contengan complejos sistemas internos de membranas (Sección 15.3) y que estén cercanas filogenéticamente apoya esta teoría. Por otro lado, las bacterias metanotróficas contienen algunos de los mismos genes y por tanto algunas de las mismas proteínas que las bacterias metanogénicas (productoras de metano), todas las cuales se consideran arqueas filogenéticamente. Estos datos sugieren que ha habido transferencia horizontal (lateral) de genes entre estos grupos ya que la bioquímica del metabolismo del metano hace eones que evolucionó. En las Secciones 21.10 y 21.16 veremos como en este sentido los procesos opuestos de la metanogénesis y la metanotrofia están relacionados.

Metanótrofos simbiontes de animales

Las bacterias metanotróficas y ciertos mejillones y esponjas marinos desarrollan relaciones simbióticas. Algunos mejillones viven en el entorno de los filtrados de hidrocarburos del fondo marino, lugares donde se libera metano en cantidades considerables. Los tejidos aislados de las branquias de estos mejillones son capaces de consumir metano a buen ritmo en presencia de O_2. En estos tejidos se puede encontrar un número considerable de bacterias con forma cocoidal (**Figura 15.15*a***). Estos simbiontes bacterianos contienen en su citoplas-

www.medilibros.com



(*a*)

(*b*)

Figura 15.15 Simbiontes metanótrofos de mejillones marinos. (*a*) Microfotografía con microscopio electrónico a bajo aumento de secciones finas de tejido branquial de un mejillón marino procedente del entorno de filtraciones de hidrocarburos en el Golfo de México. Obsérvense los simbiontes metanótrofos (flechas) en los tejidos. (*b*) Imagen a gran aumento de tejido branquial que presenta metanótrofos tipo I. Obsérvense los haces de membranas (flechas). Los metanótrofos miden aproximadamente 1 μm de diámetro. Compare con la Figura 15.14*b*.

ma membranas típicas de los metanótrofos tipo I (**Figura 15.15b**). Los simbiontes se localizan dentro de las vacuolas de las células animales cercanas a la superficie de las branquias, lo que probablemente asegura el intercambio eficiente de gases con el agua marina. Estos simbiontes se han confirmado como metanótrofos mediante análisis filogenético.

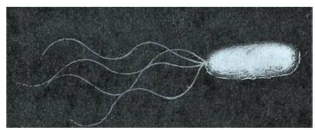
El metano asimilado por los metanótrofos en el mejillón se distribuye por todo el animal gracias a la excreción de compuestos orgánicos por estas bacterias. Las simbiosis con metanótrofos son por tanto similares conceptualmente a las desarrolladas entre quimiolitótrofos oxidadores del azufre y las almejas gigantes y los gusanos de las chimeneas hidrotermales (Sección 24.11).

15.6 Minirrevisión

Los metilótrofos son bacterias capaces de crecer utilizando compuestos de carbono que carecen de enlaces carbono-carbono. Algunos metilótrofos son también metanótrofos, oraganismos capaces de catabolizar metano. Se conocen dos clases de metanótrofos, cada una con características propias estructurales y bioquímicas. Los metanótrofos viven en agua y suelos y también pueden existir como simbiontes de animales marinos.

- ¿Cuál es la diferencia entre un metanótrofo y un metilótrofo?
- ¿Qué rasgos diferencian a los metanótrofos tipo I y los tipo II?
- ¿Qué tipo de animales desarrollan simbiosis con metanótrofos y de dónde proviene el metano para dichos simbiontes?

(a)



(b)

Figura 15.16 Colonias y morfología celular típicas de pseudomonas. *(a)* Fotografía de colonias de *Burkholderia cepacia* en placas de medio sólido. *(b)* Microfotografía con microscopio electrónico de transmisión de una especie de *Pseudomonas*. La célula mide aproximadamente 1 μm de diámetro.

www.medilibros.com

III PROTEOBACTERIAS QUIMIOORGANÓTROFAS AEROBIAS Y ANAEROBIAS FACULTATIVAS

Los siguientes grupos que analizaremos son ejemplos clásicos de bacterias quimioorganótrofas con metabolismo respiratorio. Aquí introducimos a las pseudomonas las enterobacterias, las bacterias aerobias fijadoras de nitrógeno y muchos de sus parientes cercanos.

15.7 *Pseudomonas* y pseudomonadáceas

Géneros clave: *Pseudomonas, Burkholderia, Zymomonas, Xanthomonas*

Todos los géneros incluidos en este grupo son bacilos rectos o ligeramente curvados con flagelos polares (**Figura 15.16a, b**). Los géneros clave son *Pseudomonas*, *Commamonas*, *Ralstonia* y *Burkholderia*, que se analizarán aquí con un cierto detalle. Otros géneros incluyen *Xanthomonas*, *Zoogloea*, and *Gluconobacter*. *Xanthomonas* es fundamentalmente un patógeno de plantas responsable de una serie de lesiones necróticas que se caracteriza por sus pigmentos amarillentos. *Zoogloea* se caracteriza porque forma un polímero extracelular fibroso que hace que sus células se agreguen formando floculados característicos (este organismo es un componente principal de los cienos residuales activados) (Sección 36.2). *Gluconobacter* se caracteriza por su oxidación incompleta de azúcares hasta alcoholes o ácidos, como por ejemplo la oxidación de la glucosa hasta ácido glucónico o del etanol hasta ácido acético (este organismo se comenta brevemente junto a las demás bacterias del ácido acético en la Sección 15.8). Filogenéticamente las pseudomonas se distribuyen entre las proteobacterias, fundamentalmente en las clases alfa y beta (**Tabla 15.1**).

Características de las pseudomonas

Las características distintivas del grupo de las pseudomonas se enumeran en la **Tabla 15.9**. En esta tabla también se enumeran las características mínimas que se necesitan para identificar un organismo como una pseudomona. Características identificativas clave son la ausencia de formación de gas a partir de glucosa y una prueba de la oxidadasa positiva, ambas cosas ayudan a distinguir las pseudomonas de las enterobacterias (Sección 15.11).

Tabla 15.9 Características de las pseudomonas

Características generales:

Bacilos rectos o curvados pero nunca vibrioides; tamaño 0,5-1,0 µm por 1,5-4,0 µm; no esporas; gramnegativos; flagelos polares: únicos o múltiples; sin cubiertas, apéndices o yemas; metabolismo respiratorio, nunca fermentativo, aunque pueden producir pequeñas cantidades de ácido a partir de glucosa aeróbicamente; usan compuestos orgánicos de bajo peso molecular, no polímeros; algunos son quimiolitótrofos y usan H_2 o CO como único donador de electrones; algunos pueden usar nitrato como aceptor de electrones anaeróbico; algunos pueden usar arginina como fuente de energía en anaerobiosis.

Características mínimas para su identificación:

Gramnegativos, bacilos rectos o ligeramente curvados; no esporas; móvil (siempre); flagelos polares (tinción flagelar); oxido-fermentativo en medio con glucosa: producción de ácido en tubo abierto; pero no en tubo cerrado; no produce gas a partir de glucosa (las diferencia fácilmente de enterobacterias y *Aeromonas*); casi siempre positivo para oxidasa (las enterobacterias son oxidasa-negativo); siempre positivo para catalasa; ausencia de pigmentos fotosintéticos (las diferencia fácilmente de bacterias rojas no del azufre); indol-negativo; negativo para rojo de metilo; Voges-Proskauer-negativo (para ver discusión de muchos de estas preguntas ver la Sección 32.2).

Las especies del género *Pseudomonas* y géneros relacionados se definen según su filogenia y a varias características fisiológicas, como se definen en las **Tablas 15.10** y **15.11**. Las pseudomonas tiene unos requisitos nutricionales muy sencillos y crecen quimiorganotróficamente a pH neutro y a temperaturas en el rango de los mesófilos.

Una de las características más llamativas de las pseudomonas es su capacidad para usar numerosos compuestos orgánicos como fuentes de carbono y energía. Algunas especies utilizan más de 100 compuestos diferentes y sólo unas pocas especies pueden utilizar menos de 20. Como ejemplo de esta versatilidad, una sola estirpe de *Burkholderia cepacia* puede utilizar muchos azúcares, ácidos grasos, ácidos dicarboxílicos, ácidos tricarboxílicos, alcoholes, polialcoholes, glicoles, compuestos aromáticos, aminoácidos y aminas, además de una variedad de compuestos orgánicos no incluidos en ninguna de estas categorías. Sin embargo, las pseudomonas normalmente carecen de las enzimas hidrolíticas necesarias para degradar polímeros en sus monómeros correspondientes. Estas pseudomonas tan versátiles nutricionalmente contienen numerosos operones inducibles (Sección 9.3) ya

Tabla 15.10 Subgrupos y características de las pseudomonas

Grupo	*Grupo filogenético*[a]	*Características*
Subgrupo fluorescente	*Gamma*	**La mayoría producen pigmentos amarillo-verdoso solubles en agua, no forman poli-β-hidroxibutirato; grupo único de homología de DNA**
Pseudomonas aeruginosa		Producción de piocianina; crecimiento hasta 43 °C; un solo flagelo polar; capaz de desnitrificar
Pseudomonas fluorescens		No produce piocianina ni crece a 43 °C; mechón de flagelos polares
Pseudomonas putida		Parecida a *P. fluorescens* pero no licúa gelatina y no crece en benzilamina
Pseudomonas syringae		Carece de arginina dihidrolasa; oxidasa-negativa; patógena en plantas
Pseudomonas stutzeri		Saprófito del suelo; desnitrificador fuerte y no fluorescente
Subgrupo Acidovorans	*Beta*	**No pigmentadas; forman poli-β-hidroxibutirato; mechón de flagelos polares; no utiliza carbohidratos; grupo único de homología de DNA**
Commamonas acidovorans		Usa ácido mucónico como única fuente de carbono y donador de electrones
Commamonas testosteroni		Usa testosterona como única fuente de carbono
Subgrupo Pseudomallei-cepacia	*Beta*	**No pigmentos fluorescentes; mechón de flagelos polares; forman poli-β-hidroxibutirato; grupo único de homología de DNA**
Burkholderia cepacia		Versatilidad nutricional extrema; algunas estirpes patógenas de plantas; patógeno humano
Burkholderia pseudomallei		Causa melioidosis en animales; nutritionalmente versátil
Burkholderia mallei		Causa el muermo en animales; inmóvil; nutricionalmente restringida
Subgrupo Diminuta-vesicularis	*Alfa*	**Flagelo único de longitud de onda muy corta; requiere vitaminas (pantotenato, biotina, B_{12})**
Brevundimonas diminuta		No pigmentada; no utiliza azúcares
Brevundimonas vesicularis		Pigmentos carotenoides; no utiliza azúcares
Subgrupo Ralstonia	*Beta*	
Ralstonia solanacearum		Patógeno de plantas
Ralstonia saccharophila		Crece quimiolitotróficamente con H_2; digiere almidón
Stenotrophomonas maltophilia	*Gamma*	Requiere metionina; no utiliza NO_3^- como fuente de nitrógeno; oxidasa-negativa

[a]Todas las pseudomonas son miembros de las *proteobacteria* (*véase* Tabla 15.1).

www.medilibros.com

Tabla 15.11 Pseudomonas patógenas

Especies	*Relación con la enfermedad*
Patógenos animales	
Pseudomonas aeruginosa	Patógeno oportunista, especialmente en hospitales; en pacientes con enfermedades metabólicas y hematológicas malignas; infecciones adquiridas en hospitales (nosocomiales) durante cateterismos, traqueotomías, punciones lumbares y transfusiones intravenosas; en pacientes bajo tratamiento prolongado con inmunosupresores, corticoesteroides, antibióticos y radiación; puede contaminar heridas quirúrgicas, abcesos, quemaduras, infecciones de oído, pacientes de pulmón tratados con antibióticos; fibrosis quística; su origen primario es el suelo
Pseudomonas fluorescens	Raramente patógena ya que no crece bien a 37 °C; puede crecer en y contaminar sangre y productos derivados refrigerados
Stenotrophomonas maltophilia	Organismo ubicuo de vida libre que es común encontrar como patógeno nocosomial
Burkholderia cepacia	Causa la podredumbre de la cebolla; también ha sido aislado de humanos y de muestras ambientales de relevancia médica
Burkholderia pseudomallei	Causa melioidosis, una enfermedad endémica de animales y humanos en el sudeste asiático
Burkholderia mallei	Causa el muermo, una enfermedad en caballos que puede ser ocasionalmente transmitida a humanos
Pseudomonas stutzeri	Frecuentemente aislada de humanos y de muestras ambientales; puede vivir saprofíticamente en el cuerpo
Patógenos de plantas	
Ralstonia solanacearum	Causa marchitez en muchas plantas cultivadas (por ejemplo: patata, tomate, tabaco, cacahuete)
Pseudomonas syringae	Ataca el follaje, causando clorosis y lesiones necróticas en hojas; raramente se encuentra libre en el suelo
Pseudomonas marginalis	Causa podredumbre blanda en varias plantas; especies pectinolíticamente activas
Xanthomonas campestris	Causa lesiones necróticas en follaje, tallo, frutos; también causas marchitez y podredumbre de tejidos; raramente encontrada libre en el suelo

www.medilibros.com

que el catabolismo de compuestos orgánicos inusuales requiere a menudo la actividad de una serie de distintas enzimas.

Las pseudomonas son organismos ecológicamente importantes tanto en el agua como en los suelos y son probablemente responsables de la degradación de numerosos compuestos solubles derivados del material vegetal y animal en hábitats aerobios. También son capaces de degradar numerosos compuestos xenobióticos (de origen sintético) como pesticidas y otros productos químicos tóxicos y son por tanto importantes agentes medioambientales de biorremediación.

La mayoría de las pseudomonas metabolizan glucosa por la ruta de Entner-Doudoroff, una variante de la glicólisis en la cual los primeros pasos para el catabolismo de la glucosa difieren del sistema glicolítico (Sección 21.2). Un escrutinio sobre la presencia de la ruta de Entner-Doudoroff ha demostrado que está ausente en bacterias grampositivas y presente en bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Zymomonas* y en otras bacterias gramnegativas.

Pseudomonas patógenas

Una serie de pseudomonas son patógenas (Tabla 15.11). Entre las pseudomonas fluorescentes, la especie *Pseudomonas aeruginosa* se asocia frecuentemente a infecciones del tracto urinario y del tracto respiratorio en humanos. Las infecciones de *P. aeruginosa* también son habituales en pacientes bajo tratamiento por quemaduras graves y otros tipos de daño traumático de la piel y en pacientes de fibrosis quística. *P. aeruginosa* no es un patógeno estricto. Este organismo es más bien un oportunista, que infecta individuos con poca capacidad de resistencia. Además de las infecciones del tracto urinario también pueden causar infecciones sistémicas, normalmente en individuos que han sufrido un daño muy extenso en la piel. Otras pseudomonas que también pueden actuar como patógenos en humanos incluyen por ejemplo a *Burkholderia cepacia*, que al igual que *P. aeruginosa* puede infectar los pulmones de pacientes con fibrosis quística.

P. aeruginosa es resistente natural a muchos de los antibióticos más utilizados, de modo que su tratamiento es normalmente complicado. Esta resistencia se debe a un plásmido transferible de resistencia (plásmido R) (Secciones 11.2 y 27.12), un plásmido portador de genes que codifican proteínas capaces de detoxificar varios antibióticos y a la presencia de sistemas de evacuación multidroga que bombean los antibióticos fuera de la célula (Sección 27.12). *P. aeruginosa* se encuentra habitualmente en ambientes hospitalarios y pueden infectar fácilmente a pacientes que reciben tratamiento por otras enfermedades (infecciones nocosomiales, Sección 33.7). La polimixina, un antibiótico que normalmente no se utiliza en humanos debido a su toxicidad, es efectivo frente a *P. aeruginosa* y se emplea en ciertas circunstancias.

Algunas especies de *Pseudomonas*, *Ralstonia* y *Burkholderia*, además del género *Xanthomonas* son reconocidos patógenos de plantas (fitopatógenos) (**Tabla 15.11**). En muchos casos estos organismos están tan bien adap-

tados al ambiente vegetal que rara vez se aíslan de otros hábitats, incluido el suelo. Los fitopatógenos residen frecuentemente en plantas no hospedadoras (las cuales no presentan síntomas visibles de enfermedad) de las cuales se transmiten a sus plantas hospedadoras donde producen la infección. Los síntomas de enfermedad varían considerablemente, según el fitopatógeno y la planta hospedadora en particular. Los patógenos liberan toxinas, enzimas líticas, factores de crecimiento de la planta y otras substancias que destruyen o de algún modo afectan al tejido vegetal. En muchos casos los síntomas de enfermedad ayudan a identificar al fitopatógeno. Por ejemplo, *Pseudomonas syringae* es aislada habitualmente de hojas que muestran lesiones cloróticas (amarilleamiento), mientras que *P. marginalis* es un patógeno típico de la podredumbre blanda e infecta tallos y brotes, pero rara vez hojas.

Zymomonas

El género *Zymomonas* está formado por grandes bacilos gramnegativos que llevan a cabo una vigorosa fermentación de azúcares hasta etanol. Aunque estrictamente fermentativa, *Zymomonas* está relacionada filogenéticamente con las pseudomonas y utiliza la ruta de Entner-Doudoroff (Sección 21.2).

Zymomonas es un organismo común que lleva a cabo la fermentación alcohólica de diversas savias vegetales y que en muchas áreas tropicales de América Central, América del Sur, África y Asia es utilizada en la industria de bebidas fermentadas de modo equivalente al uso de *Saccharomyces cerevisiae* (levadura) en América del Norte y Europa. Por ejemplo, *Zymomonas* se utiliza en México en la fermentación del agave para producir pulque y en muchas otras áreas tropicales se emplea para la fermentación de la savia de la palma. También puede llevar a cabo la fermentación de la caña de azúcar y de la miel. Aunque rara vez es *Zymomonas* el único organismo responsable de dichas fermentaciones, a menudo es el organismo principal y probablemente el responsable de la producción de la mayoría del etanol en estas bebidas. *Zymomonas* es también responsable de arruinar los zumos de frutas, tales como las sidras de manzana o pera y también está presente entre la flora bacteriana de la cerveza descompuesta.

Zymomonas se diferencia de *Pseudomonas* en su metabolismo fermentativo, su naturaleza microaerobia o anaerobia, su carácter oxidasa negativo y otras características taxonómicas moleculares. También es parecida fenotípicamente a las bacterias del ácido acético (Sección 15.8) y en la naturaleza se encuentra a menudo asociada a dichos organismos. Esto resulta interesante ya que, al igual que las levaduras, *Zymomonas* fermenta glucosa hasta etanol mientras que las bacterias del ácido acético oxidan etanol hasta ácido acético. Por tanto, las bacterias del ácido acético dependen de la actividad de las levaduras y de *Zymomonas* para la producción del sustrato para su crecimiento, el etanol.

15.8 Bacterias del ácido acético

Géneros clave: *Acetobacter, Gluconobacter*

Según su definición original el grupo de las bacterias del ácido acético incluye bacilos gramnegativos, aerobios y móviles que llevan a cabo la oxidación incompleta de alcoholes y azúcares, lo que conlleva la acumulación de ácidos orgánicos como producto final. La producción de ácido acético a partir de etanol da nombre a las bacterias del ácido acético.

Las bacterias del ácido acético presentan una tolerancia relativamente elevada a entornos ácidos; la mayoría de las cepas pueden crecer sin problemas a valores de pH inferiores a 5. Esta tolerancia a la acidez es por supuesto esencial para un organismo que produce gran cantidad de ácidos. Las bacterias del ácido acético son un grupo heterogéneo que incluye tanto organismos con ???? peritricos como con flagelos polares. Los organismos con flagelos polares se clasifican dentro del género *Gluconobacter* mientras que los peritricos se agrupan en el género *Acetobacter*. Todas las bacterias del ácido acético se agrupan filogenéticamente dentro de las alfaproteobacteria (**Tabla 15.1**).

Además de la disposición de sus flagelos, *Acetobacter* se diferencia de *Gluconobacter* en su capacidad de oxidar posteriormente el ácido acético para generar CO_2. Esta diferencia en su capacidad para oxidar el ácido acético se basa en la presencia de un ciclo completo del ácido cítrico. *Gluconobacter*, que carece de un ciclo completo del ácido cítrico, no es capaz de oxidar ácido acético, mientras que *Acetobacter*, que posee todas las enzimas de dicho ciclo, sí puede hacerlo.

Ecología y uso industrial

Las bacterias del ácido acético se encuentran habitualmente en bebidas alcohólicas. Las bacterias del ácido acético se aíslan a menudo de bebidas alcohólicas derivadas de la fruta como la sidra y el vino y también de la cerveza. Las colonias de bacterias del ácido acético se reconocen en placas de agar con $CaCO_3$ que contengan etanol, porque el ácido acético que producen disuelve el $CaCO_3$ que de por sí es insoluble y se produce un aclaramiento en la placa (**Figura 15.17**). Los cultivos de bacterias del ácido acético se emplean en la producción comercial de vinagre (Sección 25.12).

Además de etanol, las bacterias del ácido acético llevan a cabo la oxidación incompleta de compuestos orgánicos como alcoholes de cadena larga y azúcares. Por ejemplo, la glucosa es oxidada sólo hasta ácido glucónico, la galactosa hasta ácido galactónico, la arabinosa hasta ácido arabónico y así sucesivamente. Esta característica «suboxidante» se aprovecha en la producción del ácido ascórbico (vitamina C). El ácido ascórbico puede formarse a partir de sorbosa pero la síntesis química de la sorbosa es difícil de conseguir. Sin embargo puede obtenerse muy fácilmente usando las bacterias del ácido acético,

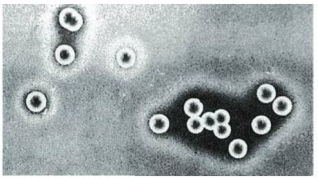


Figura 15.17 **Colonias de *Acetobacter aceti* crecidas en agar con carbonato de calcio que contiene etanol como fuente de energía.** Obsérvese el aclaramiento alrededor de las colonias debido a la disolución del carbonato de calcio ($CaCO_3$) por acción del ácido acético producido por las bacterias.

que oxidan sorbitol (un alcohol muy fácil de conseguir) hasta sorbosa, en un proceso denominado biotransformación (Sección 25.8).

Otra propiedad interesante de algunas bacterias del ácido acético es su capacidad de sintetizar celulosa. La celulosa que producen no se diferencia significativamente de la producida por las plantas, excepto en que es pura y no está mezclada con otros polímeros como la hemicelulosa, pectinas o ligninas. La celulosa producida por las bacterias del ácido acético forma una matriz por fuera de la pared celular y hace que las células acaben integradas en una masa enredada de microfibrillas de celulosa. Cuando estas especies de bacterias del ácido acético crecen en un recipiente sin agitación, forman una película superficial de celulosa en la que se desarrollan las bacterias. Como estas bacterias son aerobios estrictos, su capacidad para producir esta película podría ser la forma en la que estos organismos se mantienen en la superficie de un líquido, donde el oxígeno está disponible en abundancia.

15.9 Bacterias fijadoras de nitrógeno aerobias de vida libre

Géneros clave: *Azotobacter, Azomonas*

Diversos organismos que habitan en el suelo son capaces de fijar N_2 aeróbicamente (**Tabla 15.12**). El género *Azotobacter* incluye bacilos gramnegativos de gran tamaño, aerobios estrictos que son capaces de fijar N_2 de forma no simbiótica (**Figura 15.18**). La primera especie de este género fue descubierta por el microbiólogo holandés Martinus Beijerinck a principios del siglo veinte (Sección 1.9). Beijerinck utilizó una técnica de cultivo aeróbico de enriquecimiento en un medio que contenía N_2 (aire) pero que carecía de una fuente de nitrógeno combinado (Sección 22.1 y Figura 22.1). La mayoría de las bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno son filogenéticamente alfa-, beta-, o gammaproteobacterias (**Tabla 15.12**).

Tabla 15.12 Géneros de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre

Características	*Género*
Gammaproteobacterias	
Bacilos grandes; producen quistes; principalmente aislados de suelos neutros o alcalinos	*Azotobacter*
Bacilos grandes; no producen quistes; principalmente acuáticas	*Azomonas*
Alfaproteobacterias	
Bacilos microaerofílicos; asociados a plantas	*Azospirillum*
Bacilo con forma de pera y largos cuerpos lipídicos en cada extremo; produce secreciones mucosas en gran cantidad; habitan suelos ácidicos	*Beijerinckia*
Betaproteobacterias	
Pequeñas células curvadas; no producen quistes	*Azoarcus*
Células curvadas muy finas; no producen quistes	*Azovibrio*
Bacilos muy finos o vibrios; no producen quistes	*Azospira*
Células enrolladas de hasta 50 μm de largo; no producen quistes	*Azonexus*
Bacilos; forman colonias abundantes y arrugadas	*Derxia*

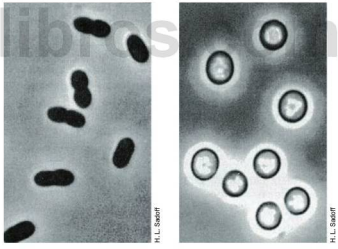


Figura 15.18 ***Azotobacter vinelandii.*** *(a)* Células vegetativas y *(b)* quistes visualizados por microscopía de contraste de fase. Una célula mide aproximadamente 2 μm de diámetro y un quiste aproximadamente 3 μm. Compare con la figura 1.17b.

Taxonomía

Las principales bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno que se han estudiado incluyen *Azotobacter*, *Azospirillum* y *Beijerinckia*. Las células de *Azotobacter* son grandes, con muchos aislamientos de un tamaño cercano al de las levaduras, con diámetros de 2-4 mm o incluso mayores. El pleomorfismo es común, con diversos tamaños y formas celulares descritas. Algunas cepas son móviles por medio de flagelos peritricos. Cuando fijan nitrógeno

en un medio con carbohidratos, las bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno producen extensas cápsulas o cubiertas mucosas (**Figura 15.19**; **Figura 20.37**).

A pesar de que *Azotobacter* es un aerobio estricto, su nitrogenasa, que es la enzima que cataliza la fijación biológica de N_2 (Sección 20.14), es sensible al O_2. Se cree que el elevado ritmo respiratorio característico de *Azotobacter* y la abundante cápsula mucosa que lo rodea contribuyen a proteger del O_2 a dicha nitrogenasa. *Azotobacter* es capaz de crecer en numerosos carbohidratos, alcoholes y ácidos orgánicos. El metabolismo de los compuestos de carbono es estrictamente oxidativo, siendo poco usual la producción de ácidos u otros productos de fermentación. Todos los miembros fijan nitrógeno, pero también pueden crecer utilizando formas sencillas de nitrógeno combinado: amoníaco, urea y nitrato.

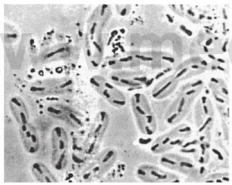
Azotobacter puede formar estructuras de resistencia denominadas quistes. Al igual que las endosporas bacterianas, los quistes de *Azotobacter* (**Figura 15.18***b*) presentan niveles despreciables de respiración endógena y son resistentes a la desecación, rotura mecánica y a radiaciones ultravioletas e ionizantes. Sin embargo, a diferencia de las endosporas, los quistes no son particularmente resistentes al calor y no están completamente latentes, ya que sí se les suministra una fuente de carbono pueden oxidarla rápidamente.

Los restantes géneros clave de bacterias de vida libre fijadoras de nitrógeno incluyen *Azomonas*, un género de bacterias de morfología intermedia entre cocos y bacilos, parecidos a *Azotobacter* excepto en que no producen quistes y son principalmente acuáticos, además de *Beijerinckia* (**Figuras 15.19***b* y **15.20***a*) y *Derxia* (**Figura 15.20***b*), dos géneros que crecen bien en suelos ácidos. Cerrando este grupo se encuentra *Azospirillum*, una bacteria fijadora de nitrógeno de morfología intermedia entre bacilos y espirilos que forma asociaciones simbióticas no específicas con plantas, en particular con maíz (**Tabla 15.12**).

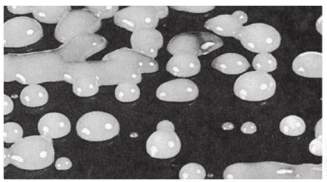
Azotobacter y nitrogenasas alternativas

Estudiaremos el importante proceso de la fijación biológica de N_2 en la Sección 20.14. En dicha sección aprenderemos la importancia esencial de los metales molibdeno (Mo) y hierro (Fe) para la enzima nitrogenasa. La especie *Azotobacter chroococcum* fue la primera bacteria fijadora de nitrógeno que se demostró capaz de crecer utilizando N_2 en ausencia de molibdeno. En *A. chroococcum* se demostró por vez primera que en lugar de una nitrogenasa con Mo, en ciertas condiciones se podían formar dos «nitrogenasas alternativas» que contenían los metales vanadio (V) y Fe, o tan sólo Fe. Investigaciones posteriores sobre otras bacterias fijadoras de nitrógeno han demostrado que estas nitrogenasas «de emergencia» están presentes en muchas bacterias fijadoras de nitrógeno, incluyendo arqueas, algunas de cuyas especies fijan N_2.

www.mdil

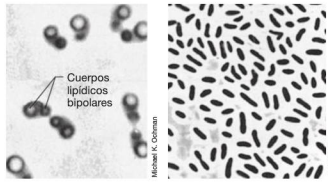


(a)



(b)

Figura 15.19 **Ejemplos de la producción de mucosidad por bacterias de vida libre fijadoras de N_2.** *(a) Células de Derxia gummosa* envueltas en mucosidad. Las células miden aproximadamente 1-1.2 mm de ancho. *(b)* Colonias de especies de *Beijerinckia* creciendo en un medio con carbohidratos. Obsérvese el aspecto brillante y abultado de las colonias debido a la abundante mucosidad capsular.



(a) (b)

Figura 15.20 **Microfotografía de contraste de fase de dos géneros de bacterias de vida libre fijadoras de N_2 y tolerantes al ácido.** *(a) Beijerinckia indica.* Las células tienen forma parecida a una pera, de aproximadamente 0,8 μm de diámetro y contienen un gran glóbulo de polihidroxibutirato en cada extremo. *(b) Derxia gummosa.* Las células miden aproximadamente 1 μm de diámetro.

15.7-15.9 Minirrevisión

Las pseudomonas incluyen bacilos gramnegativos quimioorganótrofos aerobios; muchas especies fijadoras de N_2 están muy cercanas filogenéticamente. Las bacterias del ácido acético también están relacionadas filogenéticamente con las pseudomonas y se caracterizan por su capacidad de oxidar aeróbicamente etanol hasta acetato.

- Compare las pseudomonas, *Azotobacter* y las bacterias del ácido acético en base a sus necesidades de O_2 y nitrógeno, sus donadores de electrones, su patogenicidad y sus hábitats.
- Compare los organismos *Acetobacter* y *Gluconobacter*.

15.10 *Neisseria, Chromobacterium* y géneros relacionados

Géneros clave: *Neisseria, Chromobacterium*

Este grupo de *Beta-* y *Gamma*proteobacterias incluye una variada colección de organismos, relacionados filogenéticamente, por su tinción Gram, su morfología, su movilidad y por su metabolismo aeróbico. Los géneros *Neisseria*, *Moraxella*, *Branhamella*, *Kingella* y *Acinetobacter* se diferencian según se establece en la **Tabla 15.13.**

En el género *Neisseria* las células son siempre cocos (**Figura 15.21c** y **Figura 34.29**), mientras que en los demás géneros hay bacilos, que se transforman en cocos sólo durante la fase estacionaria de crecimiento. Esto ha llevado a designar estos organismos como cocobacilos. Los organismos de los géneros *Neisseria*, *Kingella* y *Moraxella* son aislados normalmente de animales y algunos son patógenos. Analizaremos la microbiología clínica de *Neisseria gonorrhoeae*, el agente causante de la gonorrea, en la Sección 32.1 y la patogénesis de la gonorrea en la sección 34.13.

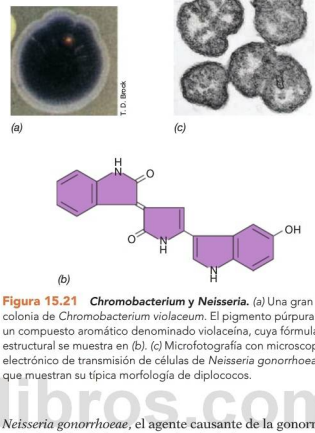


Figura 15.21 ***Chromobacterium* y *Neisseria*.** *(a)* Una gran colonia de *Chromobacterium violaceum*. El pigmento púrpura es un compuesto aromático denominado violaceína, cuya fórmula estructural se muestra en *(b)*. *(c)* Microfotografía con microscopio electrónico de transmisión de células de *Neisseria gonorrhoeae* que muestran su típica morfología de diplococos.

edilibros.com

Tabla 15.13 Características de los géneros de cocos gramnegativos[a]

Características	*Géneros*
I. Oxidasa-positivos, sensibles a penicilina:	
Cocos; nutrición compleja, utiliza carbohidratos, aerobios obligados; *Betaproteobacteria* o *Gammaproteobacteria*	*Neisseria* *Moraxella*
Bacilos o cocos; generalmente no requieren factores de crecimiento, generalmente no utilizan carbohidratos; no tienen flagelos, aunque algunas especies exhiben movimiento «espasmódico» (sustrato sólido); muchos son comensales o patógenos de animales; *Betaproteobacteria*	*Branhamella* *Kingella*
II. Oxidasa-negativos, resistentes a penicilina:	
Algunas cepas utilizan un rango de azúcares restringido y otras exhiben movimiento «espasmódico» (sustrato sólido); saprófitos en suelo, agua y aguas residuales; *Gammaproteobacteria*	*Acinetobacter*

[a]Todos son *Proteobacteria*.

Las especies de *Acinetobacter* son organismos comunes en agua y suelos, aunque se encuentran ocasionalmente como parásitos de animales y han sido implicados en infecciones nocosomiales (asociadas a hospitales). Algunas especies de *Acinetobacter* y *Moraxella* poseen la interesante capacidad de movimiento tipo «*espasmódico*» que se muestra en forma de breves desplazamientos o «saltos» que cubren distancias de aproximadamente 1-5 μm. Las bacterias capaces de «*espasmódico*» contienen *pili* especiales generadores de fuerza (Sección 4.9) que permiten su movimiento.

Chromobacterium es un pariente filogenéticamente cercano de *Neisseria* pero morfológicamente es un bacilo, parecido a las pseudomonas o a las enterobacterias. La especie más conocida de *Chromobacterium* es *C. violaceum*, un organismo de pigmentación púrpura (**Figura 15.21a**) que se encuentra en agua, suelos y ocasionalmente en infecciones purulentas de humanos y otros animales. *C. violaceum* y algunas otras cromobacterias producen el pigmento púrpureo violaceína (**Figura 15.21b**), un pigmento insoluble en agua que tiene propiedades antibióticas y sólo se produce en medio que contenga el aminoácido triptófano. Como las enterobacterias, *Chromobacterium* es un anaerobio facultativo, que crece fermentativamente utilizando azúcares y aeróbicamente utilizando diversas fuentes de carbono.

15.10 Minirrevisión

Neisseria, *Chromobacterium* y organismos relacionados pueden aislarse de animales y algunas especies de este grupo son patógenas.

- ¿Qué especie es la causante de la enfermedad gonorrea?
- ¿En qué consiste el movimiento espasmódico y qué estructura celular la genera?
- ¿Cómo se llama el pigmento purpúreo insoluble en agua producido por *Chromobacterium violaceum*?

15.11 Enterobacterias

Géneros clave: *Escherichia, Salmonella, Proteus, Enterobacter*

Las **enterobacterias** forman un grupo relativamente homogéneo filogenéticamente dentro de las gammaproteobacterias que está formado por bacilos gramnegativos anaerobios facultativos no formadores de esporas que o bien carecen de movilidad o son móviles mediante flagelos peritricos (**Figura 15.22**). Las enterobacterias son también oxidasa negativas, tienen requerimientos nutricionales relativamente sencillos y fermentan azúcares hasta varios productos finales. Las características fenotípicas que diferencian a las enterobacterias de otras bacterias de similar morfología y fisiología se detallan en la **Tabla 15.14**.

Entre las enterobacterias existen numerosas especies que son patógenas para el hombre, otros animales o para plantas, pero también especies de aplicación industrial. *Escherichia coli*, el organismo más conocido, es un ejemplo clásico de enterobacteria. Debido a la importancia médica de las enterobacterias, se han estudiado y caracterizado un número extremadamente grande de cepas y se han definido numerosos géneros. A pesar del llamativo parecido genético entre muchas enterobacterias, como queda demostrado por el alto nivel de hibridación entre sus DNA genómicos (Sección 14.11) y su extensa recombinación genética, se han mantenido géneros individuales principalmente por razones prácticas, tales como la identificación en microbiología clínica. Como estos organismos se aíslan frecuentemente de hospedadores enfermos, son necesarios los medios para su identificación para un rápido tratamiento y en consecuencia las características fenotípicas han sido tradicionalmente muy importantes para distinguir entre diferentes géneros de enterobacterias.

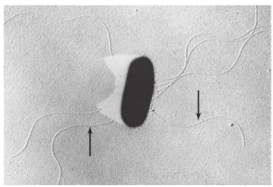


Figura 15.22 Bacteria productora de butanodiol. Microfotografía con microscopio electrónico de una preparación de células de la enterobacteria productora de butanodiol *Erwinia carotovora*. La célula mide aproximadamente 0,8 μm de ancho. Obsérvense los flagelos peritricos (flechas).

Tabla 15.14 Características que definen a las enterobacterias

Características generales:

Bacilos rectos Gramnegativos; moviles por flagelos peritricos, o inmóviles; no esporulantes; anaeróbios facultativos, producen ácido a partir de glucosa; no requieren sodio ni estimula el crecimiento; catalasa-positivos; oxidasa-negativos; normalmente reduce nitrato a nitrito (no a N_2); tienen el gen de rRNA 16S de *Gammaproteobacteria* (ver Tabla 15.1).

Pruebas clave para diferenciar enterobacterias de otras bacterias de morfologías similares[a]:

Pruebas de la oxidasa, las enterobacterias son siempre negativas —separa enterobacterias de bacterias oxidasapositivas de los géneros *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Alcaligenes*, *Achromobacter, Flavobacterium, Cardiobacterium*, que pueden tener una morfología similar; nitrato reducido sólo a nitrito (ensayo de detección de nitrito tras el crecimiento)— distingue enterobacterias de bacterias que reducen nitrato a N_2 (se detecta formación de gas), tales como *Pseudomonas* y muchas otras bacterias oxidasa-positivas; capacidad de fermentar glucosa — diferencia enterobacterias de bacterias aerobias estrictas.

[a]Ver Sección 32.2 y Figura 32.7.

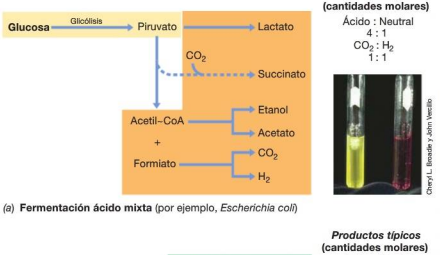
Perfiles de fermentación en enterobacterias

Una importante característica taxonómica que diferencia los diversos géneros de enterobacterias es el tipo y la proporción de productos de fermentación producidos por la fermentación de la glucosa. Se pueden distinguir dos amplios perfiles, la fermentación ácido mixta y la fermentación butanodiólica (**Figura 15.23**).

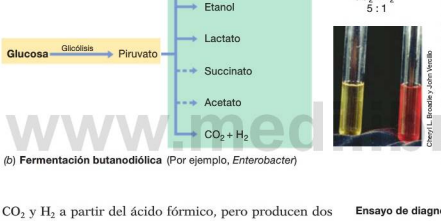
En la fermentación ácido mixta se generan tres ácidos en cantidades significativas: acético, láctico y succínico; también se genera etanol, CO_2 y H_2, pero no butanodiol. En la fermentación butanodiólica se genera menor cantidad de ácidos, mientras que los productos principales son butanodiol, etanol, CO_2 y H_2. Como resultado de la fermentación ácido mixta se producen cantidades equivalentes de CO_2 y H_2, mientras que en la fermentación butanodiólica se produce considerablemente más CO_2 que H_2. Esto se debe a que los fermentadores de tipo ácido mixto producen CO_2 sólo a partir de ácido fórmico por medio del sistema enzimático de la formato hidrogenoliasa

$$HCOOH \rightarrow H_2 + CO_2$$

y esta reacción produce cantidades iguales de CO_2 y H_2. Los fermentadores butanodiólicos también producen



(*a*) **Fermentación ácido mixta** (por ejemplo, *Escherichia coli*)



(*b*) **Fermentación butanodiólica** (Por ejemplo, *Enterobacter*)

Figura 15.23 Fermentación es de las bacterias entéricas. Distinción entre *(a)* la fermentación ácido mixta y *(b)* la fermentación butanodiólica en enterobacterias. Las flechas gruesas marcan las reacciones que dan lugar a los principales productos. Las flechas discontinuas marcan los productos secundarios. La foto superior muestra la producción de ácido (amarillo) y gas (en el tubo Durham invertido) en un cultivo de *Escherichia coli* (el tubo púrpura no está inoculado). La foto inferior muestra el color rojo-rosado en el test de Voges-Proskauer (VP), lo que indica producción de butanodiol, como consecuencia del cultivo de *Enterobacter aerogenes*. El tubo izquierdo (amarillo) no está inoculado. Obsérvese la gran diferencia en generación de CO_2 entre ambas rutas ya que la producción de butanodiol da lugar a cantidades de CO_2 considerablemente mayores. Como la producción de una molécula de butanodiol a partir de dos piruvatos consume tan sólo un NADH, por cada butanodiol producido se deben producir 0,5 moléculas de etanol para consumir el segundo NADH generado en glicólisis.

www.medilibros.com

CO_2 y H_2 a partir del ácido fórmico, pero producen dos moléculas adicionales de CO_2 durante la formación de cada molécula de butanodiol (**Figura 15.23b**).

Identificación de enterobacterias

Para distinguir los diferentes géneros de los dos grupos principales de enterobacterias se emplean ensayos de diagnóstico y medios diferenciales. Según estos ensayos, los géneros pueden definirse como se establece en las **Tablas 15.15** y 15.16. Como las enterobacterias están muy relacionadas genéticamente, su identificación a menudo presenta considerable dificultad. En los laboratorios clínicos la identificación se basa frecuentemente en el análisis informático de un gran número de ensayos diagnósticos llevados a cabo utilizando sistemas de medios de diagnóstico rápido miniaturizados y sondas de ácidos nucleicos e inmunológicas (**Figura 32.1**), teniendo en cuenta la variación en las reacciones de cepas inusuales. La clasificación de géneros que se muestra en las **Tablas 15.15** y **15.16** debe considerarse sólo como una aproximación, en tanto que siempre es posible aislar una cepa que no posea alguna característica de las normalmente consideradas positivas para el conjunto de cepas en un género. Teniendo en cuenta estas limitaciones, la **Figura 15.24** muestra una clasificación aún más simplificada de

Ensayo de diagnóstico	Ir al número
1 MR +; VP – (fermentadores ácido-mixtos)	2
MR –; VP + (productores de butanodiol)	7
2 Ureasa +	*Proteus*
Ureasa –	3
3 H_2S (TSI) +	4
H_2S (TSI) –	6
4 KCN +	*Citrobacter*
KCN –	5
5 Indol +; citrato –	*Edwardsiella*
Indol –; citrato +	*Salmonella*
6 Gas a partir de glucosa	*Escherichia*
Sin gas a partir de glucosa	*Shigella*
7 Sin movilidad; ornitina –	*Klebsiella*
Móvil; ornitina +	8
8 Gelatina +; DNAsa +	*Serratia* (pigmento rojo)
Gelatina lento; DNAsa –	*Enterobacter*

Clave
- Fermentadores ácido-mixtos
- Productores de butanodiol

Figura 15.24 Una clave sencilla para los principales géneros de enterobacterias. Sólo se incluyen los géneros más comunes. Consulte el texto sobre las limitaciones en el uso de esta clave. Los ensayos de diagnóstico para la aplicación de esta figura se presentan en la Tabla 32.3. Otras características de estos géneros se presentan en las Tablas 15.14-15.16.

Tabla 15.15 **Reacciones diagnósticas para identificar algunos géneros clave de enterobacterias**[a]

Género	H_2S (TSI)	Ureasa	VP[b]	Indol	Movilidad	Gas a partir de glucosa[b]	β-Galactosidasa
Escherichia	−	−	−	+	+ o −	+	+
Enterobacter	−	−	+	−	+	+	+
Shigella	−	−	−	+ o −	−	−	+ o −
Edwardsiella	+	−	−	+	+	+	−
Salmonella	+	−	−	−	+	+	+ o −
Klebsiella	−	+	+ o −	−	−	+	+
Citrobacter	+ o −	−	−	−	+	+	+
Proteus	+ o −	+	−	+ o −	+	+ o −	−
Providencia	−	−	−	+	+	−	−
Yersinia	−	+	−	−	+[c]	−	+
Hafnia	−	−	+	−	+	+	+ o −

Género	KCN	Citrato	Utilización de mucato	Rojo de metilo	Utilización de tartrato	Alanina deaminasa
Escherichia	−	−	+	+	+	−
Enterobacter	+	+	+	−	−	−
Shigella	−	−	−	+	−	−
Edwardsiella	−	−	−	+ o −	−	−
Salmonella	−	+ o −	+ o −	+	+ o −	−
Klebsiella	+	+	+	−	+ o −	−
Citrobacter	+ o −	+	+	+	+	−
Proteus	+	+ o −	−	+	+	+
Providencia	+	+	−	+	+	+
Yersinia	−	−	−	+	−	−
Hafnia	+	+	−	+	−	−

[a] Véase Tabla 32.3 para ver los procedimientos de estas pruebas diagnósticas.
[b] Véase Figura 15.23 para ver una foto de esta reacción.
[c] Móvil cuando crece a temperatura ambiente; inmóvil cuando crece 37 °C.

www.medilibros.com

los géneros clave. Esta clave nos facilita una decisión rápida sobre el género más probable en el cual encuadrar un nuevo aislamiento de enterobacteria. Ahora analizaremos algunas de las propiedades de los géneros clave.

Existen métodos moleculares para la identificación de las enterobacterias en uso y en desarrollo (Secciones 32.5-32.12). Algunos ejemplos incluyen las sondas específicas de género y de especie para genes individuales utilizando PCR (Sección 32.12), las pruebas sobre genes específicos relacionados con virulencia y el uso de la secuenciación parcial o total del gen del 16S rRNA o el ribotipado de dicho gen (Sección 14.9; Figura 14.18).

El género *Escherichia*

Los miembros del género *Escherichia* son habitantes casi universales del tracto intestinal de los humanos y de otros animales de sangre caliente, aunque no son en absoluto los organismos dominantes en este hábitat. *Escherichia* juega un papel nutricional en el tracto intestinal al sintetizar vitaminas, particularmente vitamina K. Como anaerobio facultativo, este organismo probablemente también ayuda a consumir oxígeno, volviendo anaerobio el intestino grueso. Las cepas salvajes de *Escherichia* rara vez requieren factores de crecimiento y son capaces de crecer utilizando una amplia variedad de fuentes de carbono y energía como azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, etc.

Algunas cepas de *Escherichia* son patógenas. Están implicadas en diarrea en niños, un grave problema de salud en los países en desarrollo. *Escherichia* es responsable de un número considerable de infecciones del tracto urinario femenino. Las *E. coli* enteropatogénicas (abreviado como EPEC) son cada vez más frecuentes en infecciones gastrointestinales y en fiebres generalizadas. Como se indica en las Secciones 28.6, 28.11 y 37.8, algunas de estas cepas forman una estructura conocida como antígeno K, que permite la unión y colonización del intestino delgado y la enterotoxina, responsable de los síntomas de diarrea. Algunas cepas, como la *E. coli* enterohemorrágica (abreviado como EHEC), de las que un representante importante es la cepa O157:H7, pueden causar esporádicamente epidemias de una grave enfermedad transmitida por los alimentos. La infección se produce fundamentalmente por el consumo de alimentos contaminados, como

carne picada cruda o poco cocinada, leche sin pasteurizar o agua contaminada. En un pequeño porcentaje de casos, la enfermedad producida por la *E. coli* O157:H7 puede complicarse por la producción de enterotoxina hasta resultar mortal.

Salmonella y *Shigella*

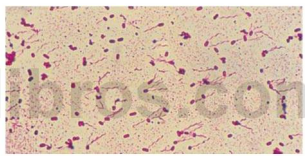
Salmonella y *Escherichia* están bastante emparentadas ya que ambos géneros muestran aproximadamente un 50% de hibridación genómica (Sección 14.11). De todos modos y en contraposición a la mayoría de las *Escherichia*, los miembros del género *Salmonella* son normalmente patógenos, tanto para humanos como para otros animales de sangre caliente; *Salmonella* también está presente en los intestinos de animales poiquilotermos (de sangre fría), como tortugas y lagartos. En humanos las enfermedades más frecuentes causadas por salmonellas son las fiebres tifoideas y la gastroenteritis (Secciones 36.8 y 37.7). Las salmonellas se caracterizan inmunológicamente en base a tres antígenos de superficie, el O, o antígeno de pared celular (somático); el H, o antígeno flagelar; y el antígeno Vi (de la cubierta de polisacáridos externa), que se encuentra fundamentalmente en cepas de *Salmonella* causantes de las fiebres tifoideas.

Los antígenos O forman parte de los lipopolisacáridos que constituyen la capa más externa de la membrana externa de estos organismos (Secciones 4.7 y 28.12). Analizaremos la estructura química de los lipopolisacáridos en la Sección 4.7 (**Figuras 4.22** y **4.23**). El género *Salmonella* contiene más de 1.000 serotipos distintos con diferentes características antigénicas de sus antígenos O. Subdivisiones antigénicas adicionales se basan en las especificidades antigénicas de los antígenos flagelares (H). Hay muy poca o ninguna correlación entre el tipo antigénico de una *Salmonella* y los síntomas de la enfermedad que produce, pero el tipificado inmunológico permite rastrear una cepa específica en un proceso epidémico.

Las shigellas también están muy emparentadas con *Escherichia*. Los ensayos de hibridación de DNA muestran que cepas de *Shigella* tienen un 70% o incluso más hibridación genómica con *E. coli* y por tanto probablemente ambas forman una única especie (Sección 14.11). En contraposición a *Escherichia*, sin embargo, *Shigella* es habitualmente patógena en humanos y causante de una gastroenteritis bastante grave que se denomina disentería bacilar, aunque algunas cepas de *E. coli* también puedan producir diarrea parecida a la disentería. La disentería producida por *Shigella* se transmite por alimentos y agua y es capaz de invadir las células epiteliales del intestino (Sección 37.11). Este organismo produce tanto una endotoxina como una neurotoxina que provoca enterotoxicidad (toxicidad gastrointestinal). Algunas formas comensales de *E. coli* (y de *Shigella*) se han vuelto patógenas, como es el caso de las cepas EPEC, gracias a la adquisición de factores de virulencia de otras especies bacterianas. De hecho, el análisis del genoma completo de *E. coli* sugiere que aproximadamente el 17% de los genes de esta bacteria han sido adquiridos por transferencia genética horizontal (Capítulo 13).

Proteus

El género *Proteus* se caracteriza por su rápida movilidad (**Figura 15.25**) y por la producción de la enzima ureasa. De acuerdo a los datos de hibridación de DNA genómico sólo muestra una distante relación con *E. coli*. *Proteus* es una causa frecuente de infecciones del tracto urinario en humanos y probablemente se beneficia en este aspecto de su capacidad para degradar urea. Gracias a la rápida movilidad de las células de *Proteus*, las colonias que crecen en placa a menudo muestran un fenotipo característico (**Figura 15.25***b*). Las células en el borde de la colonia en crecimiento muestran más motilidad que las situadas en el centro de la colonia. Las células periféricas se alejan a una corta distancia de la colonia y entonces experimentan una reducción en su motilidad, se paran y se dividen, formando una nueva población de células móviles que de



(a)

(b)

Figura 15.25 **Desplazamiento en Proteus.** *(a) Células de Proteus mirabilis* marcadas con una tinción flagelar; los flagelos peritricos de cada célula se agrupan en un haz. *(b)* Foto de una colonia móvil de *Proteus vulgaris*. Obsérvense los anillos concéntricos.

nuevo se desplazan. El resultado es que una colonia madura muestra una serie de círculos concéntricos con altas concentraciones de células alternando con bajas concentraciones (**Figura 15.25*b***).

Productores de butanodiol: *Enterobacter, Klebsiella* y *Serratia*

Los productores de butanodiol están genéticamente más relacionados entre sí que los fermentadores ácido mixtos, un descubrimiento que está de acuerdo con las diferencias fisiológicas observadas. La **Tabla 15.16** esboza una clasificación de este grupo.

Enterobacter aerogenes es una especie habitual tanto en agua y aguas residuales como en el tracto intestinal de animales de sangre caliente y es un patógeno ocasional en infecciones del tracto urinario. Una especie de *Klebsiella*, *K. pneumoniae*, ocasionalmente produce neumonía en humanos, pero las klebsiellas se encuentran más habitualmente en agua y suelos. La mayoría de las cepas de *Klebsiella* también fijan N_2 (Sección 20.14), una propiedad que no se encuentra en otras enterobacterias.

El género *Serratia* produce una serie de pigmentos rojos que contienen pirroles llamados prodigiosinas (**Figura 15.26**). La prodigiosina se produce en fase estacionaria como un metabolito secundario (Sección 25.2) y tiene interés en tanto que contiene el mismo anillo pirrólico que también se encuentra en pigmentos de transferencia de energía: porfirinas, clorofilas y ficobilinas (Secciones 20.2 y 20.3). De todos modos no hay pruebas de que la prodigiosina juegue un papel en la transferencia de energía y su función precisa se desconoce. Las especies de *Serratia* pueden aislarse de agua y suelos así como del intestino de varios insectos y vertebrados y ocasionalmente del intestino humano.

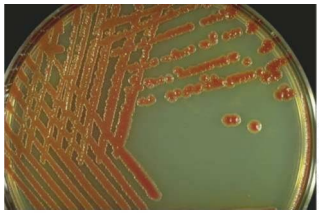


Figura 15.26 **Colonias de *Serratia marcescens*.** La pigmentación rojo-anaranjada se debe al pigmento prodigiosina, que contiene pirroles.

15.12 *Vibrio, Aliivibrio, y Photobacterium*

Generos clave: *Vibrio, Aliivibrio, Photobacterium*

El grupo de los *Vibrio*, familia *Vibrionaceae*, incluye bacilos y bacilos curvados gramnegativos anaerobios facultativos con un metabolismo fermentativo. La mayoría de las especies de *Vibrio* presentan flagelos polares, aunque algunas presentan flagelos peritricos. Una diferencia clave entre el grupo de *Vibrio* y las enterobacterias es que los miembros del primer grupo son oxidasa positivos (**Tabla 32.3**), mientras que los miembros del segundo grupo son oxidasa negativos. Aunque las especies de *Pseudomonas* también presentan flagelos polares y son oxidasa positivas, no son fermentativos y por tanto son claramente distintos de las especies de *Vibrio*. Los géneros mejor conocidos del grupo de *Vibrio* son *Vibrio*, *Aliivibrio* y *Photobacterium*.

La mayoría de los vibrios y bacterias relacionadas son acuáticos y se encuentran en hábitats de agua dulce, agua marina y agua salobre. *Vibrio cholerae* es la causa específica de la enfermedad del cólera en humanos (Secciones 28.11 y 36.5); este organismo no suele causar enfermedad en otros hospedadores. El cólera es una de las enfermedades infecciosas más comunes en humanos en países subdesarrollados y tiene una larga historia (el famoso microbiólogo médico pionero Robert Koch aisló por primera vez *V. cholerae* en 1884). Este organismo se transmite casi exclusivamente por el agua y los estudios de su distribución en el siglo XIX jugaron un papel fundamental para demostrar la importancia de la purificación del

Tabla 15.16 **Reacciones diagnósticas claves para diferenciar los diferentes géneros de productores de 2,3-butanodiol**[a]

Género	*Ornitina descarboxilasa*	*Hidrólisis de gelatina*	*Temperatura óptima (°C)*	*Pigmentación*	*Movilidad*	*Lactosa*	*DNasa*	*Sorbitol*
Klebsiella	–	–	37-40	Ninguna	–	+	–	+
Enterobacter	+	Lento	37-40	Amarilla (o ninguna)	+	+	–	+
Serratia	+	+	37-40	Roja (o ninguna)	+	–	+	–
Erwinia[b]	–	+ o –	27-30	Amarilla (o ninguna)	+	+ o –	–	+
Hafnia	+	–	35	Ninguna	+	–	–	–

[a] *Véase* Tabla 32.3 para una descripción de estos tests diagnósticos.
[b] *Véase* Figura 15.22.

agua en áreas urbanas. Analizaremos la patogénesis de *V. cholerae* en la Sección 28.11.

Vibrio parahaemolyticus es un organismo marino. Es una causa importante de gastroenteritis en Japón (donde se consume mucho pescado crudo) y también ha estado implicado en epidemias de gastroenteritis en otras partes del mundo, incluyendo los Estados Unidos. Este organismo se aísla habitualmente de agua marina o de crustáceos y mariscos y su hábitat principal probablemente sean los animales marinos, siendo la infección en humanos un desarrollo posterior (Sección 36.1).

Bioluminiscencia bacteriana

Diversas especies de bacteria pueden emitir luz en un proceso denominado **bioluminiscencia** (**Figura 15.27**). La mayoría de estas bacterias están clasificadas en los géneros *Photobacterium*, *Aliivibrio* y *Vibrio*, aunque existen unas pocas especies luminosas en *Shewanella*, un género de bacterias fundamentalmente marinas y en *Photorhabdus*, un género de bacterias terrestres. La mayoría de las bacterias bioluminiscentes viven en un medio ambiente marino y pueden aislarse de agua marina, sedimentos marinos y la superficie y los tractos intestinales de animales marinos. Algunas especies también colonizan órganos especializados de ciertos peces marinos y calamares (Sección 24.12), denominados órganos luminiscentes, que producen luz que el animal utiliza para enviar señales, evitar predadores y atraer a sus presas (**Figura 15.27c-f**; Sección 24.12). Cuando viven simbióticamente en los órganos luminiscentes de peces o calamares, o saprofíticamente por ejemplo en la piel de peces muertos, o parasíticamente en el cuerpo de algún crustáceo, las bacterias luminiscentes pueden reconocerse por la luz que emiten. (Para ver bioluminiscencia uno debe observar el material en completa oscuridad una vez que los ojos se hayan adaptado a ella, **Figura 15.27a, b**). Como algunas cepas patógenas de *Vibrio* son luminiscentes, como por ejemplo ciertas cepas de *V. cholerae* y *V. vulnificus*, las bacterias luminiscentes deben manipularse con precaución.

Aunque los aislamientos de *Photobacterium*, *Aliivibrio* y *Vibrio* son aerobios facultativos, son bioluminiscentes sólo en presencia de O_2. La luminiscencia en bacterias está catalizada por la luciferasa bacteriana, que utiliza como sustratos O_2, un aldehído alifático de cadena larga (por ejemplo tetradecanal) y un flavín mononucleótido reducido ($FMNH_2$). El donante principal de electrones es NADH y la reacción de la luciferasa bacteriana procede como sigue:

$$FMNH_2 + O_2 + RCHO \xrightarrow{\text{Luciferasa}} FMN + RCOOH + H_2O + Luz$$

www.medilibros.com

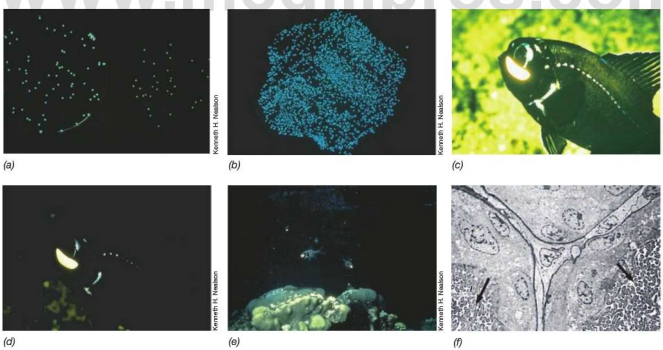


Figura 15.27 Bacterias bioluminiscentes y su papel como simbiontes en los órganos luminiscentes del pez linterna. *(a)* Dos placas de *Petri* con bacterias luminiscentes fotografiadas con su propia luz. Obsérvense los diferentes colores. A la izquierda, la cepa MJ-1 de *Aliivibrio fischeri*, luz azul y a la derecha la cepa Y-1, luz verde. *(b)* Colonias de *Photobacterium phosphoreum* fotografiadas con su propia luz. (c) El pez linterna *Photoblepharon palpebratus*; el área brillante es el órgano luminiscente que contiene las bacterias bioluminiscentes. *(d)* El mismo pez fotografiado con su propia luz. *(e)* Fotografía submarina de *P. palpebratus* tomada de noche en los arrecifes coralinos del Golfo de Eliat. *(f)* Microfotografía con microscopio electrónico de una sección fina del órgano emisor de luz de *P. palpebratus* que muestra la densa distribución de bacterias bioluminiscentes (flechas).

El sistema de generación de luz constituye una ruta alternativa para desviar electrones desde $FMNH_2$ hasta O_2, sin la necesidad de utilizar otros transportadores de electrones como las quinonas o los citocromos. El origen evolutivo de la bioluminscencia no está muy claro, aunque es posible que la luciferasa originaria surgiera en un linaje bacteriano, del cual surgieron las especies actuales de vibrionaceas, como un método de detoxificar el oxígeno conforme la atmósfera de la Tierra cada vez contenía más oxígeno (Sección 14.3). En cualquier caso, muchas especies y cepas de *Vibrio*, *Aliivibrio* y *Photobacterium* carecen de luxCDABE, los genes necesarios para producir luciferasa y para la síntesis del aldehído de cadena larga. Aparentemente, estos genes se han perdido en muchos linajes de *Vibrio*, *Aliivibrio* y *Photobacterium* durante el proceso evolutivo.

Regulación de la bioluminiscencia

La expresión de luminiscencia en muchas bacterias luminiscentes está inducida por altas concentraciones de población. La enzima luciferasa y otras proteínas del sistema de luminiscencia bacteriana se inducen en respuesta a la densidad de población, en un proceso denominado **autoinducción**, por el cual la transcripción de los genes luxCDABE está controlada en *Aliivibrio fischeri* y especies relacionadas por una proteína reguladora, LuxR y una molécula inductora, la acyl-homoserina lactona (Sección 9.6).

Durante su crecimiento las células producen el autoinductor, que puede atravesar rápidamente la membrana citoplásmica en ambas direcciones, difundiendo dentro y fuera de las células. En condiciones de elevada densidad local de población, como en un tubo de ensayo, una colonia en una placa, o en el órgano luminiscente de un pez o calamar (Sección 24.12), el autoinductor se acumula. Cuando supera un determinado umbral de concentración en la célula (igual a la concentración en el entorno local de la célula), el autoinductor interactúa con LuxR, formando un complejo que activa la transcripción de *lux*CDABE y hace que las células se vuelvan intensamente luminiscentes (**Figura 15.27**; **Figura 1.1*c***). En contraposición, cuando las células de las bacterias luminosas se encuentran a baja densidad de población, como por ejemplo en el agua marina donde el autoinductor se difunde, no se induce la luminiscencia. El autoinductor principal de *Aliivibrio fischeri* se ha identificado como N-3-oxo-hexanoilhomoserina lactona; otras especies luminosas producen otros tipos de homoserina lactona e incluso clases distintas de compuestos, lo que resulta en mecanismos de autoinducción muy específicos. Este sistema de regulación génica se denomina también percepción de quórum (*quorum sensing*) por su dependencia de la densidad poblacional (Sección 9.6).

En hábitats saprofíticos, parasíticos y simbióticos (Figura 15.27c-f) la lógica detrás de una inducción de la luminiscencia en respuesta a la densidad de población podría ser que la luminiscencia sólo se desarrolle cuando la población sea lo suficientemente densa como para que la luz producida sea visible por los animales. La luz bacteriana puede entonces atraer a los animales para que se alimenten del material luminiscente, llevando por tanto a las bacterias al tracto intestinal rico en nutrientes del animal para un mayor crecimiento, o para servir de fuente de luz en las asociaciones simbióticas de los órganos luminiscentes. La genética de la percepción de quorum se ha estudiado muy activamente utilizando la bioluminiscencia como modelo experimental; se ha descubierto que este modelo de regulación es un elemento presente en muchas bacterias no luminiscentes, incluyendo varios patógenos de animales y de plantas, a pesar de que controla en estas bacterias actividades como la producción de enzimas extracelulares y la expresión de factores de virulencia para los que se cree que una elevada densidad de población puede ser beneficiosa para la bacteria (Sección 9.6).

15.11-15.12 Minirrevisión

Las enterobacterias forman un gran grupo de bacilos aerobios facultativos con relevancia en medicina y biología molecular. Especies de *Vibrio*, *Aliivibrio* y *Photobacterium* son organismos marinos; algunas especies son patógenas y algunas son bioluminiscentes.

- ¿Cómo se distingue *Escherichia* coli de *Enterobacter aerogenes* en sentido fisiológico?
- Describe dos propiedades principales de la especie *Proteus* que la diferencien de otras enterobacterias.
- ¿Qué necesita un organismo como *Aliivibrio* para producir luz visible?

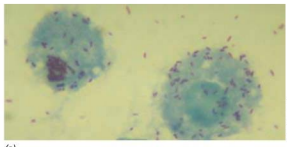
15.13 Rickettsias

Géneros clave: *Rickettsia, Wolbachia*

Las rickettsias son proteobacterias con morfología de pequeños cocos o bacilos gramnegativos, con un tamaño entre 0,3-0,7 μm de ancho y 1-2 μm de largo. Con una sola excepción, son parásitos intracelulares estrictos y todavía no han podido cultivarse en ausencia de sus células hospedadoras (**Figura 15.28*a***). Las rickettsias son los agentes causales de diversas enfermedades en humanos, incluyendo el tifus (cualquiera de las varias enfermedades bacterianas similares transmitidas por piojos), la fiebre moteada de las Montañas Rocosas y la fiebre Q (Sección 35.3).

Fotografías con microscopio electrónico de secciones de células de rickettsias revelan una morfología procariótica típica (**Figura 15.28*b***); tanto la pared celular como la membrana citoplásmica se perciben claramente. La pared celular de rickettsias contiene ácido murámico y ácido diaminopimélico y las células se dividen por fisión binaria con tiempos de generación de unas 8 h. La entra-

www.medilibros.com



(a)

(b)

Figura 15.28 Rickettsias creciendo dentro de sus células hospedadoras. *(a) Rickettsia rickettsii* en células de la *tunica vaginalis* del testículo del roedor *Microtus pennsylvanicus*. Las células miden aproximadamente 0,3 mm de diámetro. *(b)* Microfotografía con microscopio electrónico de células de *Rickettsiella popilliae* dentro de una célula sanguínea de su hospedador, el escarabajo *Melolontha melolontha*. Obsérvese que las bacterias están creciendo dentro de una vacuola de la célula hospedadora.

da en la célula hospedadora de una célula de rickettsia es un proceso activo, que requiere que tanto el parásito como su hospedador estén vivos y activos metabólicamente. Una vez que está dentro de la célula fagocítica del hospedador, la bacteria se multiplica principalmente en el citoplasma y continúa su replicación hasta que la célula hospedadora está repleta de parásitos (**Figura 15.28; Figura 35.6**). Llegado este punto la célula hospedadora estalla y libera las células bacterianas en el fluido circundante. Se conocen diversos géneros de rickettsias y las características de cuatro géneros clave se muestran en la **Tabla 15.17**.

Metabolismo y patogénesis

Se ha investigado mucho sobre la actividad metabólica y las rutas bioquímicas de las rickettsias en un intento de entender por qué son parásitos intracelulares estrictos. Muchas rickettsias poseen un metabolismo de la energía muy específico: pueden oxidar tan sólo glutamato o glutamina y no pueden oxidar glucosa o ácidos orgánicos. Sin embargo *Coxiella burnetii*, que es el agente causal de la fiebre Q, es capaz de utilizar tanto glucosa como piruvato como donantes de electrones. Las rickettsias poseen una cadena respiratoria completa con citocromos y son capaces de llevar a cabo fosforilación por transporte de electrones utilizando NADH como donante de electrones. También son capaces de sintetizar al menos algunas de las pequeñas moléculas necesarias para la síntesis macromolecular y para el crecimiento y obtienen el resto de los nutrientes de la célula hospedadora. Por tanto, aunque son parásitos, las rickettsias

Tabla 15.17 Características de las rickettsias

Género y Especie	*Grupo de rickettsia*	*Hospedador alternativo*	*Localización celular*	*Grupo filogenético*[a]	*Hibridación de DNA con DNA de R. rickettsii (%)*[b]
Rickettsia					
R. rickettsii	Fiebre moteada	Garrapata	Citoplasma y núcleos	*Alfa*	100
R. prowazekii[c]	Tifus	Piojo	Citoplasma		53
R. typhi	Tifus	Pulga	Citoplasma		36
Rochalimaea					
R. quintana	Fiebre de las trincheras	Piojo	Epicelular	*Alfa*	30
R. vinsonii	—	Ratón de campo	Epicelular		30
Coxiella					
C. burnetii	Fiebre Q	Garrapata	Vacuolas	*Gamma*	—
Ehrlichia					
E. chaffeensis	Erliquiosis (humanos)	Garrapata o animales domésticos	Leucocitos mononuclear	*Alfa*	—
E. equi	Fiebre del Potomac (caballos)	Garrapata	Granulocito	*Alfa*	—
Wolbachia[d]					
W. pipientis	—	Artrópodos	Citoplasma	*Alfa*	—

[a] Todas son proteobacterias.
[b] Para ver discisuón de la hybridación DNA:DNA, véase Sección 14.11.
[c] El genoma de este organismo ha sido secuenciado y muestra varias similitudes con el genoma mitocondrial.
[d] No es un patógeno de humanos ni de otros animales.

mantienen una serie de funciones metabólicas independientes.

Las rickettsias no pueden sobrevivir por mucho tiempo fuera de su hospedador y esto podría explicar por qué se transmiten entre animales por medio de artrópodos que les sirven de vectores. Cuando el artrópodo se alimenta de la sangre del animal infectado, las rickettsias presentes en la sangre entran en el artrópodo donde penetran en las células epiteliales del tracto gastrointestinal, se multiplican y pasan a las heces. Cuando el artrópodo se alimenta de un animal no infectado le transmite estas rickettsias, bien directamente con sus mandíbulas bien al contaminar el bocado con sus heces. Sin embargo *C. burnetii* (Sección 35.3) también puede transmitirse al sistema respiratorio por medio de aerosoles. *C. burnetii* es la rickettsia más resistente al daño físico, probablemente porque puede generar una forma de resistencia similar a una espora. Esto probablemente explica la capacidad de *C. burnetii* para sobrevivir en el aire.

Rochalimaea es una rickettsia atípica porque puede cultivarse y por tanto no es un parásito intracelular estricto. Además cuando crece en un cultivo de tejidos las células de *Rochalimaea* crecen en la superficie exterior de las células hospedadoras eucariotas y no en su citoplasma o en el núcleo. *Rochalimaea quintana* es el agente causal de la fiebre de las trincheras, una enfermedad que diezmó a las tropas en la Primera Guerra Mundial. Las especies del género *Ehrlichia* producen diversas enfermedades en humanos y otros animales, dos de las cuales, la ehrliquiosis en humanos y la fiebre del Potomac en caballos, pueden ser muy debilitantes (Sección 35.3).

Wolbachia

El género *Wolbachia* incluye especies de alfaproteobacterias de morfología bacilar que son parásitos intracelulares de insectos artrópodos (**Figura 15.29**). Las *Wolbachia* están relacionadas filogenéticamente con las rickettsias y afectan a sus insectos hospedadores de forma muy variada. Su efecto incluye la inducción de la partenogénesis (el desarrollo de huevos sin fertilizar), la muerte de los machos y la feminización (conversión de insectos machos en hembras).

Wolbachia pipientis es la especie más estudiada de todo el género. Sus células colonizan el huevo del insecto (**Figura 15.29**) donde se multiplican en las vacuolas de las células hospedadoras rodeadas de una membrana producida por el propio hospedador. Las células de *W. pipientis* se transmiten de una hembra infectada a su descendencia a través de la infección de sus huevos. La partenogénesis inducida por *Wolbachia* se produce en una serie de especies de avispas. En estos insectos los machos normalmente se generan de huevos sin fecundar (que contienen una única serie de cromosomas), mientras que las hembras surgen de huevos fecundados (que contienen dos series de cromosomas). Sin embargo, en huevos sin fecundar infectados por *Wolbachia* este organismo de algún modo es capaz de inducir la duplicación del número de cromosomas, produciendo de este modo sólo hembras. Como es de esperar, si se suministra a los insectos hembra antibióticos que matan a *Wolbachia*, la partenogénesis se interrumpe.

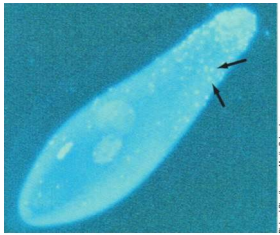


Figura 15.29 ***Wolbachia.*** Microfotografía de una tinción DAPI de un huevo de la avispa parasítica *Trichogramma kaykai* infectada por *Wolbachia pipientis*, que induce partenogénesis. Las células de *W. pipientis* están localizadas principalmente en el extremo estrecho del huevo (flechas).

Como todas las bacterias parásitas en general, *Wolbachia pipientis* tiene un genoma pequeño (de unas 1,5 Mpb), que ha sido secuenciado. Aunque este parásito no produce enfermedades en vertebrados o en sus hospedadores invertebrados, sus diversos efectos sobre la reproducción hacen preguntarse si ha afectado la evolución y especiación de una de las principales clases de insectos (los artrópodos incluyen hasta el 70% de todos los insectos conocidos). En algunos insectos la infección por *Wolbachia* podría ser de hecho esencial para su supervivencia. Por ejemplo, en gusanos nemátodos que producen la enfermedad de la elefantiasis y la ceguera fluvial, el tratamiento con antibióticos aparentemente mata a los gusanos pero sólo porque mata a sus *Wolbachia* simbiontes.

15.13 Minirrevisión

Las rickettsias son parásitos intracelulares estrictos, muchos de los cuales producen enfermedades. Las rickettsias carecen de numerosas funciones metabólicas y obtiene metabolitos esenciales de sus hospedadores.

- Nombre una enfermedad causada por una especie de rickettsia.
- ¿Qué significa el término «parásito intracelular estricto»?
- ¿Qué efectos puede producir *Wolbachia* en sus insectos hospedadores?

IV PROTEOBACTERIAS MORFOLÓGICAMENTE INUSUALES

Algunas proteobacterias presentan morfologías poco habituales o llevan a cabo ciclos de vida fascinantes. Analizaremos algunos de estos casos, centrándonos en bacterias comunes curvadas o con forma espiral, unas cuantas bacterias filamentosas que envuelven sus células en una vaina y las morfológicamente inusuales bacterias con prostecas/pedunculadas. En este último grupo nos centraremos en *Caulobacter*, una importante bacteria modelo para el estudio de la diferenciación celular. Fisiológicamente todos estos organismos son quimioorganótrofos y consumen materia orgánica en una gran variedad de hábitats fundamentalmente acuáticos.

15.14 Espirilos

Géneros clave: *Spirillum, Bdellovibrio, Campylobacter*

Los **espirilos** son proteobacterias gramnegativas, móviles y con forma espiral que muestran una gran variedad de características fisiológicas. Algunos de los criterios taxonómicos clave que se utilizan son la morfología celular, el tamaño, el número de flagelos polares (único o múltiples), su interacción con el oxígeno (aerobios estrictos, microaerobios o anaerobios facultativos), su interacción con las plantas (como patógenos de plantas o simbiontes) o los animales (como patógenos), su capacidad fermentativa y otras características fisiológicas (por ejemplo la capacidad para fijar nitrógeno, el carácter halófilo, el carácter termófilo). Los géneros que se analizarán en este apartado se enumeran en la **Tabla 15.18**, donde puede verse que los espirilos están presentes en las cinco clases de las proteobacterias.

Spirillum, Aquaspirillum, Oceanospirillum, y *Azospirillum*

Los espirilos son bacilos curvados helicoidalmente, son móviles gracias a sus flagelos polares, normalmente mechones en ambos polos (**Figura 15.30b**). El número de giros en la hélice puede variar entre menos de un giro completo (en cuyo caso el organismo parece un vibrio) hasta numerosos giros. Los espirilos con muchos giros pueden en principio parecer espiroquetas (Sección 16.16), pero filogenéticamente se diferencian claramente de estas últimas. Además los espirilos carecen de la vaina externa y de los endoflagelos de las espiroquetas ya que tienen flagelos bacterianos típicos (Sección 4.13).

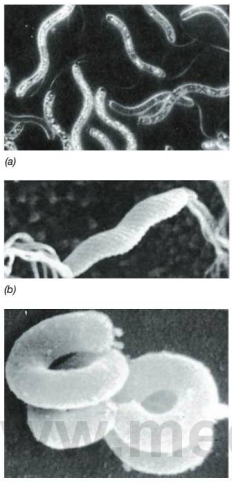
Las células de algunos espirilos son muy grandes y fueron observadas por los primeros microscopistas. Por ejemplo Antoni van Leeuwenhoek observó por vez primera especies de *Spirillum* en el 1670 (Sección 1.6). El organismo descrito por van Leeuwenhoek era probablemente *Spirillum volutans*, un procariota bastante grande (**Figura 15.30a**). Un organismo protótrofo que se parece a *S. volutans* es la bacteria purpúrea *Thiospirillum*, que analizamos previamente (**Figura 15.4b**). *S. volutans* es microaerobio (requiere O_2, pero se inhibe a niveles normales de O_2. Otra característica notable de *S. volutans* es la formación de gránulos (gránulos de volutina) que están formados de polifosfato (**Figura 15.30a**; Sección 4.10).

Azospirillum lipoferum es un organismo fijador de nitrógeno que fue descrito por Beijerinck en 1925 y nombrado *Spirillum lipoferum*. *A. lipoferum* tiene considerable interés porque establece una relación simbiótica con hierbas tropicales y cereales. Aunque su asociación no es tan íntima como la que se establece entre las bacterias del género *Rhizobium* que forman nódulos en la raíz de plantas leguminosas (Sección 24.15), la asociación entre *A. lipoferum* y el maíz beneficia claramente a la planta gracias a la fijación de nitrógeno.

Table 15.18 Características de los géneros de bacterias de morfología espiral[a]

Género	*Grupo filogenético*[b]	*Características*
Spirillum	*Beta*	Diámetro celular 1,7 μm; microaerofílico; agua dulce
Aquaspirillum	*Beta*	Diámetro celular 0,2-1,5 μm; aerobio; agua dulce
Magnetospirillum	*Alfa*	De vibrio a espirilo Diámetro celular aproximadamente 0.3 μm; contiene magnetosomas; microaerofílico
Oceanospirillum	*Gamma*	Diámetro celular 0,3-1,2 μm; aerobio; marina (requiere 3% NaCl)
Azospirillum	*Alfa*	Diámetro celular 1 μm; microaerofílico; suelo y rizosfera; fija N_2
Herbaspirillum	*Beta*	Diámetro celular 0,6-0,7 μm; microaerofílico; suelo y rizosfera; fija N_2
Campylobacter	*Epsilon*	Diámetro celular 0,2-0,8 μm; microaerofílico a anaerobio; patogéno o comensal en humanos y otros animales; flagelo polar único
Helicobacter	*Epsilon*	Diámetro celular 0,5-1 μm; mechón de flagelos polares; asociado a úlceras pilóricas en humanos
Bdellovibrio	*Delta*	Diámetro celular 0,25-0,4 μm; aeróbio; depredador de otras bacterias; único flagelo polar envainado
Ancyclobacter	*Alfa*	Diámetro celular 0,5 μm; bacilos curvados formando anillos; inmovil, aeróbio; a veces contiene vesículas gaseosas

[a] Todas son gramnegativas y respiratorias pero nunca fermentativas.
[b] Todas son proteobacterias.



(a) (b) (c)

Figura 15.30 **Espirilos.** *(a) Spirillum volutans*, visualizado mediante microscopía de campo oscuro, que muestra los haces de flagelos y los gránulos de volutina (polifosfato). Las células miden aproximadamente 1,5 × 25 μm. *(b)* Microfotografía con microscopio electrónico de barrido de un espirilo intestinal. Obsérvense los mechones de flagelos polares y la estructura en espiral de la superficie celular. (c) Microfotografía con microscopio electrónico de barrido de células de *Ancyclobacter aquaticus*. Las células miden aproximadamente 0,5 μm de diámetro.

Los espirilos de pequeño diámetro (que no son microaerobios) han sido separados en dos géneros: *Aquaspirillum* y *Oceanospirillum*. El primero incluye especies de agua dulce y el segundo especies de agua salada que requieren NaCl para crecer (**Tabla 15.18**). Se han descrito numerosas especies de *Aquaspirillum* y *Oceanospirillum*, separadas conforme a criterios fisiológicos y filogenéticos. Estos organismos juegan sin duda un importante papel en el reciclado de materia orgánica en ambientes acuáticos.

Espirilos magnetotácticos

Se han aislado espirilos microaerobios magnéticos, con gran movilidad, en ambientes acuáticos de agua dulce. Estos organismos muestran un marcado movimiento dirigido dentro de un campo magnético, que se denomina magnetotaxis. En un campo magnético generado artificialmente los espirilos magnéticos orientan rápidamente su eje mayor a lo largo del momento magnético Norte-Sur de dicho campo. Dentro de estas células hay cadenas de unas 5-40 partículas magnéticas de magnetita (Fe_3O_4) y greigita (Fe_3S_4) (Sección 4.10 y Figura 4.33). Los magnetosomas funcionan como imanes internos que orientan a las células dentro de un campo magnético específico.

Las bacterias magnéticas muestran una de las dos polaridades posibles, según la orientación de los magnetosomas dentro de la célula. Las células en el hemisferio norte tienen el polo de los magnetosomas que se orienta al norte mirando hacia delante respecto a los flagelos y por tanto se mueven en dirección norte. Las células en el Hemisferio sur tiene la polaridad opuesta y se mueven hacia el sur. Aunque la función de estos imanes en la ecología de la bacteria no está clara, la capacidad de orientarse en un campo magnético puede ser una ventaja evolutiva para mantener a estos organismos microaerobios en zonas con baja concentración de O_2 cerca de la interfase aerobia-anaerobia. *Magnetospirillum magnetotacticum* (**Figura 15.31** y Tabla 15.18) es uno de los principales organismos en este grupo.

www.medilibros.com

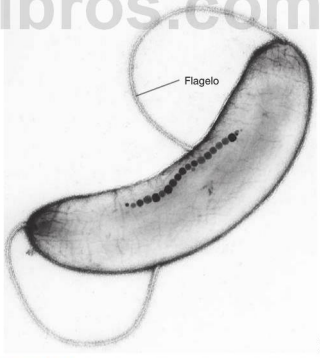


Figura 15.31 **Microfotografía con microscopio electrónico con tinción negativa de *Magnetospirillum magnetotacticum*, un espirilo magnetotáctico.** Cada célula mide aproximadamente 0,3 × 2 μm. Esta bacteria contiene partículas de Fe_3O_4 (magnetita), denominadas magnetosomas (Figura 4.33), dispuestas en cadena; dichas partículas colocan a la célula a lo largo de las líneas geomagnéticas. Este organismo fue aislado en una planta de tratamiento de agua en Durham, New Hampshire.

Bdellovibrio

Estos pequeños organismos curvados poseen la poco habitual capacidad de predación de otras bacterias, usando como nutrientes los componentes citoplásmicos de sus presas. Estos predadores bacterianos tienen células pequeñas y muy móviles que se pegan a la superficie de sus células presa. Por este motivo han recibido el nombre de *Bdellovibrio* (el prefijo bdello significa «sanguijuela»). Se han aislado otras bacterias predadoras a las que se ha asignado nombres tan sugestivos como *Vampirovibrio*. *Bdellovibrio* tiene un método de ataque exclusivo y se desarrolla intraperiplásmicamente.

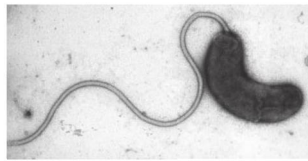
Después de unirse a su presa *Bdellovibrio* penetra a través de la pared de su presa y se explica en el espacio periplásmico, formando finalmente una estructura esférica que se denomina bdelloplasto. Los distintos pasos de unión y penetración se muestran en microfotografías con microscopio electrónico en la **Figura 15.32** y en un diagrama en la **Figura 15.33.** Una gran variedad de bacterias gramnegativas son atacadas por una misma especie de *Bdellovibrio*; las bacterias grampositivas no son atacadas.

Bdellovibrio es un aerobio estricto, que obtiene su energía de la oxidación de aminoácidos y acetato. Además *Bdellovibrio* asimila nucleótidos, ácidos grasos, péptidos, e incluso proteínas completas, directamente desde su hospedador y sin previa degradación. Por tanto

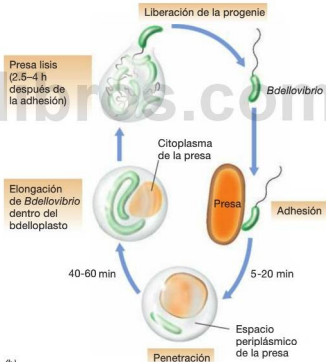
(a)

(b)

Figura 15.32 **Estadios de adhesión y penetración de una célula presa de *Bdellovibrio*.** Cada célula de *Bdellovibrio* mide aproximadamente 0,3 μm de diámetro. (a, b) Microfotografías con microscopio electrónico de secciones finas de *Bdellovibrio* atacando a *Escherichia coli*: *(a)* penetración temprana; *(b)* pentración completa. La célula de *Bdellovibrio* está envuelta por una invaginación membranosa de la célula presa (el bdelloplasto) y se replica en el espacio periplásmico entre la pared y la membrana citoplásmica.



(a)



(b)

Figura 15.33 **Ciclo de desarrollo del predador bacteriano *Bdellovibrio bacteriovorus*.** *(a)* Microfotografía con microscopio electrónico de una célula de *Bdellovibrio bacteriovorus*. Obsérvese el flagelo muy grueso de este organismo (compare con la Figura 4.45). *(b)* Sucesos durante la predación. Después del primer contacto con una bacteria gramnegativa, la célula de *Bdellovibrio* dotada de gran movilidad se adhiere a su presa y penetra en su espacio periplásmico. Una vez dentro, *Bdellovibrio* comienza a alargarse y en unas 4 h se liberan sus células descendientes. El número de descendientes varía según el tamaño de la bacteria presa. Por ejemplo, se liberan 5-6 bdellovibrios de cada célula de *Escherichia coli infectada y 20-30 de una célula más grande como* algunas especies de *Aquaspirillum*.

www.medilibros.com

está claro que como parte de su estilo de vida predatorio *Bdellovibrio* ha desarrollado procesos bioquímicos interesantes e inusuales. Se pueden aislar derivados no predatorios de cepas predadoras de *Bdellovibrio*, lo que demuestra que la predación no es obligatoria. Las cepas no predadoras pueden cultivarse en medios complejos con extracto de levadura y peptona.

Filogenéticamente los bdellovibrios son miembros de las deltaproteobacterias (**Figura 15.1**) y tienen un genoma aproximadamente la mitad de grande que el de *Escherichia coli*. Taxonómicamente se reconocen dos especies de *Bdellovibrio* y una especie del género *Bacteriovorax*, lo que se basa en los resultados de hibridación DNA-DNA entre genomas (Sección 14.11).

Bdellovibrio está muy distribuido en agua y suelos, incluso en el medio marino. Su aislamiento y detección necesita de métodos que recuerdan a los empleados para el estudio de los virus de bacterias (Sección 10.4). Se obtiene un césped de bacterias presa en una placa de agar y se inocula en su superficie una pequeña muestra de suelo en suspensión que ha sido filtrado a través de una membrana; dicha membrana retiene a la mayoría de las bacterias pero deja pasar a los pequeños *Bdellovibrio*. Al incubar la placa así preparada, se forman calvas de lisis análogas a las calvas de lisis producidas por bacteriófagos en aquellos lugares donde estén creciendo las células de *Bdellovibrio*. A diferencia de las calvas de bacteriófagos, que siguen creciendo mientras la bacteria hospedadora sigue creciendo, las calvas de *Bdellovibrio* continúan creciendo incluso cuando sus bacterias presa han dejado de hacerlo. Esto da lugar a calvas cada vez mayores en la superficie del agar. De dichas calvas pueden aislarse cultivos puros de *Bdellovibrio*. Se han obtenido cultivos de *Bdellovibrio* de muchos suelos y por tanto se considera que están ampliamente distribuidos.

Ancyclobacter

Los miembros del género *Ancyclobacter* son bacterias en forma de anillo, inmóviles y quimioorganótrofas, con una extremada diversidad nutricional (**Figura 15.30c**). Parecen vibrios con un enrollamiento muy apretado y están ampliamente distribuidas en medios acuáticos. El equivalente fotótrofo de *Ancyclobacter* es la bacteria purpúrea no sulfurosa *Rhodocyclus purpureus*, que analizamos previamente (Sección 15.2 y **Figura 15.6e**).

15.14 Minirrevisión

Los espirilos son bacterias quimioorganótrofas con forma de espiral, que están muy distribuidas en medios acuáticos. Los géneros *Helicobacter* y *Campylobacter* son espirilos patógenos. Los espirilos están distribuidos entre las cinco clases de proteobacterias.

- ¿Qué es un gránulo de volutina?
- ¿Qué característica es exclusiva en los espirilos *Bdellovibrio* y *Magnetospirillum*?

15.15 Proteobacterias con vainas: *Sphaerotilus* y *Leptothrix*

Géneros clave: *Sphaerotilus, Leptothrix*

Las bacterias con vaina son betaproteobacterias filamentosas (**Tabla 15.1**) con un ciclo de vida único en el cual se forman dentro de un tubo largo o vaina células flageladas nadadoras. En condiciones de crecimiento desfavorables las células nadadoras salen de la vaina y se dispersan en busca de nuevos entornos, dejando tras de sí la vaina vacía. En condiciones favorables, las células crecen vegetativamente dentro del filamento, lo que lleva a la formación de largas vainas repletas de bacterias.

Las bacterias con vaina son habituales en hábitats de agua dulce ricos en materia orgánica, como cursos de agua contaminados. Como normalmente se encuentran en corrientes de agua, también son habituales en filtros de goteo y digestores de residuos en las plantas de tratamiento de aguas residuales (Sección 36.3). En hábitats con hierro (Fe^{2+}) o manganeso (Mn^{2+}) reducidos las vainas pueden acabar recubiertas con hidróxido férrico u óxido de manganeso (**Figura 20.29**). La precipitación del hierro se debe probablemente a reacciones químicas, pero algunas bacterias con vaina tiene la capacidad bioquímica de oxidar iones de manganeso hasta óxido de manganeso. Los principales organismos se encuadran en dos géneros: *Sphaerotilus*, cuyos miembros no pueden oxidar manganeso y *Leptothrix*, cuyos miembros sí son capaces de hacerlo.

Sphaerotilus

El filamento de *Sphaerotilus* está formado por un rosario de células bacilares envueltas en una vaina ajustada. Esta vaina fina y transparente es difícil de ver cuando está llena de células, pero cuando está parcialmente llena se puede observar fácilmente por microscopía de contraste de fase (**Figura 15.34a**) o por tinción. Las células individuales tienen 1-2 μm de anchura y 3-8 μm de longitud y presentan tinción gramnegativa.

Las células dentro de la vaina se dividen por fisión binaria (**Figura 15.34b**) y las nuevas células que son desplazadas al extremo de la vaina, sintetizan nuevo material para ésta. En consecuencia, la vaina siempre está en formación en los extremos del filamento. Finalmente las células nadadoras se liberan de la vaina, probablemente cuando hay un bajo suministro de nutrientes. Estas células son móviles, con flagelos lofotricos (formando un haz en un mismo polo) (**Figura 15.34c**). Probablemente los flagelos se sintetizan antes de que las células abandonen la vaina y, si este es el caso, podrían incluso ayudar a la salida. Se cree que las células nadadoras migran, se unen a una superficie sólida y comienzan a crecer, convirtiéndose cada célula individual en la fundadora de un nuevo filamento. La vaina, que carece de ácido murámico y otros componentes de la pared celular de peptidoglicano, es un complejo de proteínas y polisacáridos.

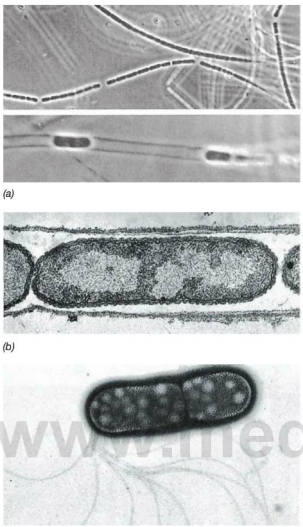


Figura 15.34 ***Sphaerotilus natans.*** Cada célula mide aproximadamente 2 µm de ancho. *(a)* Microfotografía de contraste de fase de material obtenido de un arroyo contaminado. Estadio de crecimiento activo (arriba) y células nadadoras saliendo de la vaina. *(b)* Microfotografía con microscopio electrónico de una sección fina de un filamento. *(c)* Microfotografía con microscopio electrónico de la tinción negativa de una célula nadadora. Observe el mechón de flagelos polares.

Los cultivos de *Sphaerotilus* son versátiles nutricionalmente y son capaces de utilizar compuestos orgánicos sencillos como fuentes de carbono y energía, junto a fuentes inorgánicas de nitrógeno. De modo acorde con su hábitat en corrientes de agua, *Sphaerotilus* es un aerobio estricto. Las explosiones de crecimiento de *Sphaerotilus* se producen a menudo en corrientes y arroyos en otoño, cuando la caída de las hojas provoca un incremento temporal del contenido de materia orgánica del agua. Sus filamentos son el componente principal del complejo microbiano que los ingenieros de las plantas de tratamiento de residuos denominan «hongo de los residuos» unos filamentos mucosos que se encuentran en las rocas de corrientes de agua que soportan contaminación con aguas residuales. En el fango activado de las plantas de tratamiento de aguas residuales (Sección 36.2) *Sphaerotilus* es frecuentemente responsable del engrosamiento, el problema mencionado con anterioridad en relación con *Beggiatoa* (Sección 15.4). Las masas enmarañadas de filamentos de *Sphaerotilus* incrementan tanto la masa del fango que no sedimenta adecuadamente. Esto tiene un efecto negativo en la oxidación de la materia orgánica y en el reciclado de los nutrientes inorgánicos.

Leptothrix

La capacidad de *Sphaerotilus* y *Leptothrix* para precipitar óxidos de hierro sobre sus vainas está confirmado y cuando estas vainas acaban cubiertas de hierro, como sucede en aguas ricas en hierro, es posible verlas por el microscopio (**Figura 15.35**). Los precipitados se forman cuando el hierro, quelado por materiales orgánicos como los ácidos tánico o húmico, es metabolizado hasta óxido de hierro. El hierro se une a la vaina y los componentes orgánicos son absorbidos y se utilizan como fuente de carbono o energía.

Además de la oxidación del hierro, *Leptothrix* puede oxidar Mn^{2+} hasta Mn^{4+}. Se ha aislado el gen de *Leptothrix* que codifica su proteína oxidadora de manganeso y los análisis bioquímicos han revelado que dicha proteína se localiza en la vaina y no dentro de la célula. Por tanto, la vaina de *Leptothrix* es esencial para el metabolismo de la energía de esta bacteria.

www.imedi...com

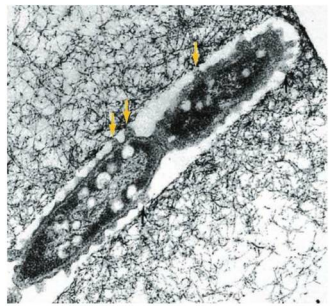


Figura 15.35 ***Leptothrix* y la precipitación del hierro.** Microfotografía con microscopio electrónico de transmisión de una sección fina de *Leptothrix* en una muestra obtenida de una película de ferromanganeso de un pantano en Ithaca, Nueva York. Cada célula mide aproximadamente 0,9 µm de diámetro. Observe las protuberancias de la envoltura celular que conectan con la vaina (flechas).

15.16 Bacterias pedunculadas con prostecas y que forman yemas

Géneros clave: *Hyphomicrobium, Caulobacter*

Este grupo grande y heterogéneo, principalmente de alfaproteobacterias, incluye organismos que forman diversos tipos de extrusiones citoplásmicas: pedúnculos, hifas o apéndices (**Tabla 15.19**). Este tipo de extrusiones, que son de diámetro menor que la célula madura, contienen citoplasma y están unidas por la pared celular, reciben el nombre conjunto de **prostecas** (**Figura 15.36**).

División por gemación

Las bacterias que geman se dividen como resultado de un crecimiento celular desigual. En contraposición a la fisión binaria que genera dos células de tamaño equivalente (**Figura 6.1**), la división celular en bacterias pedunculadas y bacterias que geman genera una célula hija totalmente nueva, manteniendo la célula madre su identidad original (**Figura 15.37**). Los géneros principales de bacterias que geman y un resumen de sus procesos de división celular se muestran en la **Figura 15.37**.

Una diferencia fundamental entre estas bacterias y las bacterias convencionales no es la formación de yemas o pedúnculos, sino la formación de nuevo material de la pared celular a partir de un solo punto (crecimiento polar) en lugar de alrededor de toda la célula (crecimiento intercalar) como sucede en la fisión binaria (Secciones 6.1-6.4). Diversos géneros que no suelen considerarse bacterias que geman muestran crecimiento polar sin diferenciación del tamaño celular (**Figura 15.37**). Una consecuencia importante del crecimiento polar es que las estructuras internas, como por ejemplo los complejos membranosos, no están implicados en el proceso de división celular y por tanto deben formarse de nuevo. Sin embargo, esto presenta la ventaja de que en células que geman pueden formarse estructuras internas más complejas que en células que se dividen por fisión binaria ya que estas últimas tendrían que dividir estas estructuras entre las dos células hijas de nueva formación. Muchas bacterias que geman, particularmente las especies protótrofas y quimiolitótrofas, contienen extensos sistemas de membranas internas. (**www.microbiologyplace.com**. **Tutorial online 15.1: División celular en bacterias convencionales, gemantes y pedunculadas).**

Bacteria que: *Hyphomicrobium*

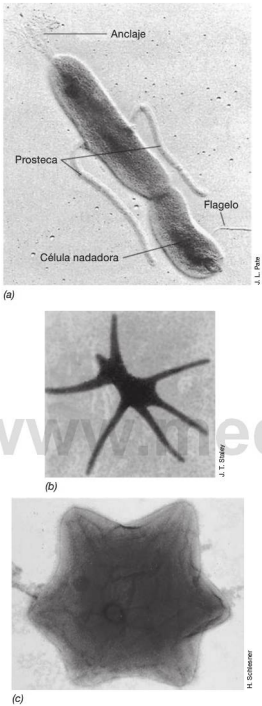
Dos bacterias que geman bien estudiadas están muy cercanas filogenéticamente: *Hyphomicrobium*, que es quimioorganótrofo y *Rhodomicrobium*, que es fotótrofo. Estos organismos liberan yemas a partir de los extremos de hifas finas y largas. Las hifas son extensiones celulares directas de la célula madre y contienen pared celular, membrana citoplásmica, ribosomas y, ocasionalmente, DNA.

La **Figura 15.38** ilustra el proceso reproductivo de *Hyphomicrobium*. De la célula madre, que a menudo está unida en su base a un sustrato sólido, crece una fina ex-

Tabla 15.19 Características de bacterias pedunculadas, con apéndices (con prostecas) y que forman yemas

Características	*Género*	*Grupo filogenético*[a]
Bacterias pedunculadas:		
Pedúnculo una extensión del citoplasma que está implicada en la división celular	*Caulobacter*	*Alfa*
Células fusiformes y pedunculadas	*Prosthecobacter*	*Verrucomicrobiaceas*[b]
Pedunculada, pero el pedúnculo es un producto de excreción y no contiene citoplasma:		
Pedúnculo que deposita hierro, célula vibrioide	*Gallionella*	*Beta*
Pedúnculo gelatinoso excretado lateralmente que no deposita hierro	*Nevskia*	*Gamma*
Bacteria con apéndices (prostecas):		
Prostecas dobles o sencillas	*Asticcacaulis*	*Alfa*
Prostecas múltiples		
Prostecas cortas, multiplicación por fisión, algunas tienen vesículas de gas	*Prosthecomicrobium*	*Alfa*
Células estrelladas planas, algunas tienen vesículas gaseosas	*Stella*	*Alfa*
Prostecas largas, multiplicación por gemación, algunas tienen vesículas de gas	*Ancalomicrobium*	*Alfa*
Bacterias gemantes:		
Fototróficas, producen hifas	*Rhodomicrobium*	*Alfa*
Fotótrofas, geman sin hifas	*Rhodopseudomonas*	*Alfa*
Quimioorganótrofos, células con forma de bacilo	*Blastobacter*	*Alfa*
Quimioorganótrofos yemas en la punta de hifas finas		
Hifas únicas de cada célula parental	*Hyphomicrobium*	*Alfa*
Múltiples hifas en células parentales	*Pedomicrobium*	*Alfa*

[a] Todas las especies de *Prosthecobacter* son proteobacterias.
[b] *Véase* Sección 16.11.



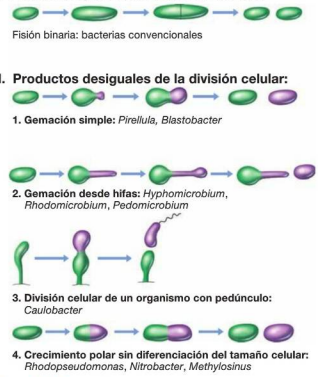


Figura 15.37 **División celular.** Diferencias entre la división celular en bacterias convencionales y en bacterias que geman y pedunculadas.

www.medilibros.com

Figura 15.36 **Bacterias pedunculadas.** *(a)* Microfotografía con microscopio electrónico de una preparación de *Asticcacaulis biprosthecum*, que muestra la localización y distribución de las prostecas. Las células miden aproximadamente 0,6 μm de ancho. Observe también el material de anclaje y la célula nadadora en el proceso de diferenciación. *(b)* Microfotografía con microscopio electrónico de una preparación por tinción negativa de la bacteria con prostecas *Ancalomicrobium adetum*. Los apéndices son celulares (prostecas) porque están unidos por la pared celular, contienen citoplasma y miden aproximadamente 0,2 μ en diámetro. *(c)* Microfotografía con microscopio electrónico de *Stella*, una bacteria de forma de estrella. Cada célula mide aproximadamente 0,8 μm de diámetro.

tensión que se alarga hasta convertirse en una hifa. En el extremo de dicha hifa se forma una yema. Esta yema se agranda, forma un flagelo, se libera de la célula madre y se aleja nadando. Más tarde, la célula hija pierde su flagelo y después de un período de maduración forma un hifa y yemas. Se pueden formar varias yemas en el extremo de la hifa de la célula madre, dando lugar a grupos de células conectados por hifas. En algunos casos, se forma una yema directamente a partir de la célula madre sin la formación previa de una hifa, mientras que en otros casos una sola célula puede formar hifas en ambos extremos (**Figura 15.39a**).

Los eventos de replicación del nucleoide durante el ciclo de gemación resultan interesantes (**Figura 15.38**). Primero, el DNA localizado en la célula madre se replica. Más tarde y una vez que la yema ya se ha formado, una de las copias del cromosoma circular se desplaza por la hifa y se introduce en la yema. Entonces se forma un septo que separa la yema todavía en formación de la hifa y la célula madre.

Hyphomicrobium es una bacteria metilótrofa (Sección 15.6) y está muy extendida en hábitats terrestres, de agua dulce y de agua marina. Sus fuentes preferidas de carbono son compuestos de un solo carbono como el metanol, la metilamina, el formaldehído y el formato. Los cultivos para el enriquecimiento de *Hyphomicrobium* se preparan aprovechando la capacidad de dicho organismo para cre-

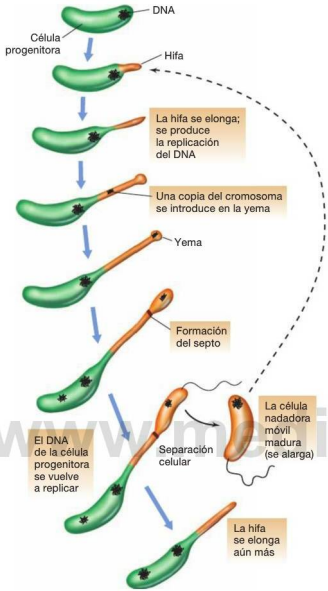
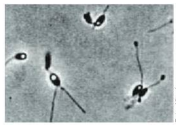
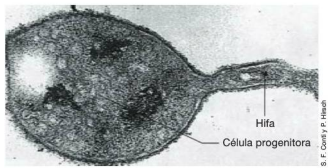


Figura 15.38 **Estadios del ciclo celular de *Hyphomicrobium*.** El único cromosoma de *Hyphomicrobium* es circular.



(a)



(b)

Figura 15.39 **Morfología de *Hyphomicrobium*.** *(a)* Microfotografía de contraste de fase de células de *Hyphomicrobium*. Cada célula mide aproximadamente 0,7 µm de ancho. *(b)* Microfotografía con microscopio electrónico de una sección fina de una sola célula de *Hyphomicrobium*. La hifa mide aproximadamente 0,2 µm de ancho.

www.milibros.com

cer en condiciones de gran dilución. Todo lo que se necesita es un medio con sales minerales carente de carbono orgánico y nitrógeno en el que se inocula suelo, barro o agua. Después de varias semanas de incubación, se desarrolla una película superficial que se extiende en un medio sólido que contiene metilamina o metanol como única fuente de carbono. Las colonias se analizan al microscopio para comprobar la morfología celular característica de *Hyphomicrobium* (**Figura 15.39**). Un método de enriquecimiento bastante específico para *Hyphomicrobium* utiliza metanol como donante de electrones y nitrato como aceptor de electrones en condiciones de anaerobiosis. Prácticamente la única bacteria desnitrificante (Sección 21.7) que emplea metanol es *Hyphomicrobium* y por tanto este método puede seleccionar a este organismo partiendo de una gran variedad de muestras.

Bacterias con prostecas y pedunculadas

Bacteria con prostecas y pedunculadas (**Figuras 15.36** y **15.40**) son bacterias con apéndices que se unen a materia particulada, material vegetal o a otros microorganismos en hábitats acuáticos. Aunque no cabe duda de que la adherencia es una de las principales funciones de estos apéndices, también incrementan significativamente la proporción superficie-volumen de las células (las prostecas tienen una gran superficie pero apenas tienen volumen). Recuerde de nuestros comentarios previos que una elevada proporción superficie-volumen en células procariotas confiere una mayor capacidad para absorber nutrientes y para excretar residuos (Sección 4.2). La inusual morfología de las bacterias con apéndices (**Figura 15.36**) lleva esta proporción al extremo y podría constituir una adaptación evolutiva a la vida en las aguas oligótrofas (pobres en nutrientes) donde viven habitualmente estos organismos.

Otra función de las prostecas podría ser reducir la velocidad de sedimentación de la célula en ambientes acuáticos. Se ha demostrado que la centrifugación en el laboratorio de células con prostecas requiere una mayor fuerza centrífuga que para células que carecen de ellas. Esta tendencia inherente a resistirse al hundimiento es debida probablemente a las prostecas y podría conceder una ventaja a las células con prostecas en su hábitat natural. Como estos organismos son en general aerobios estrictos, las prostecas podrían evitar el hundimiento de las

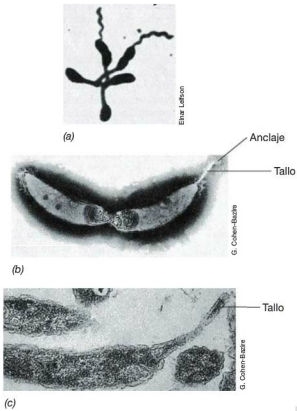


Figura 15.40 **Bacteria pedunculadas.** *(a)* Una roseta de *Caulobacter*. Cada célula mide aproximadamente 0,5 µm de ancho. Las cinco células están unidas por sus pedúnculos (prostecas). Dos de las células se han dividido y las células hijas han formado flagelos. *(b, c)* Microfotografía con microscopio electrónico de células de *Caulobacter*. *(b)* Preparación por tinción negativa de una célula en división. *(c)* Sección fina. Observe que hay componentes citoplásmicos en la región del pedúnculo.

células hacia los sedimentos u otras zonas sin oxígeno donde no podrían respirar.

El aislamiento selectivo de bacterias con prostecas/pedunculadas puede conseguirse mezclando el inóculo con una solución nutritiva muy diluida, como por ejemplo 0,01% peptona y dejándola reposar sin alterarla. En unos días suele desarrollarse una película superficial que contiene las bacterias con prostecas/pedunculadas. El aislamiento se consigue extendiendo dicha película sobre medio sólido de la misma solución diluida anterior.

Caulobacter y *Gallionella*

Dos bacterias pedunculadas muy comunes son *Caulobacter* (**Figura 15.40**) y *Gallionella* (ver **Figura 15.42**). La primera es un quimioorganótrofo que produce un pedúnculo lleno de citoplasma, es decir, una prosteca, mientras que el segundo es un quimiolitótrofo oxidador de hierro cuyo pedúnculo está compuesto de hidróxido de hierro.

Las células de *Caulobacter* se encuentran a menudo en la superficie de ambientes acuáticos con los pedúnculos de varias células unidos para formar rosetas (**Figura 15.40a**). En el extremo del pedúnculo hay una estructura denominada anclaje el cual el pedúnculo une a la célula a una superficie. El ciclo de división celular de *Caulobacter* (**Figura 15.41**; **Figura 9.23**) presenta un especial interés porque implica fisión binaria desigual.

Se ha realizado mucha investigación molecular sobre *Caulobacter* como sistema modelo para la división celular y eventos de desarrollo (Sección 9.13). Una célula de *Caulobacter* con pedúnculo se divide por elongación de la célula seguida de fisión, con la formación de un único flagelo en el polo opuesto al pedúnculo. La célula flagelada así formada, denominada célula nadadora, se separa de la célula madre no flagelada, se desplaza y se une a una nueva superficie, formando un nuevo pedúnculo en su extremo flagelado; en este punto el flagelo se pierde (**Figura 15.41**). La formación del pedúnculo es precursora necesaria de la división celular y está coordinada con la síntesis de DNA (**Figura 14.41**; **Figura 9.23**). El ciclo de división celular de *Caulobacter* es por tanto más complejo que la simple fisión binaria o la gemación, porque la célula con pedúnculo y la célula flagelada son estructuralmente distintas y el ciclo de crecimiento debe incluirlas a ambas.

Gallionella forma una estructura de pedúnculo retorcido que contiene hidróxido férrico [$Fe(OH)_3$] (**Figura 15.42**). Sin embargo el pedúnculo de *Gallionella* no es parte integral de la célula sino que es simplemente excretada por la superficie celular. Contiene una matriz orgánica sobre la que se acumula el hidróxido férrico. *Gallionella* es habitual de las aguas de drenaje de turbas, fuentes termales ferrosas y otros hábitats donde existe ión ferroso (Fe^{2+}), normalmente en asociación con bacterias con vaina como *Sphaerotilus*. *Gallionella* es un quimiolitótrofo autótrofo que posee las enzimas del Ciclo de Calvin (Sección 20.6) por las cuales incorpora CO_2 en el material celular usando Fe^{2+} como donador de electrones.

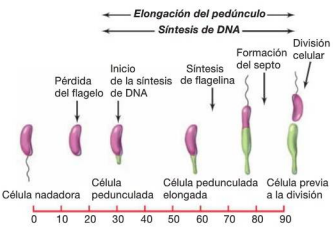
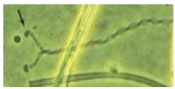
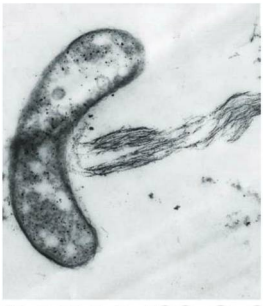


Figura 15.41 **Crecimiento de *Caulobacter*.** Estadios del ciclo celular de *Caulobacter*, comenzando como una célula nadadora. Compare con la Figura 9.23.



(a)



(b)

Figura 15.42 El oxidador de hierro ferroso *Gallionella ferruginea*. *(a)* Microfotografía de células procedentes de un zona de filtrados de hierro cerca de Ithaca, Nueva York. Observe el pedúnculo retorcido que lleva hasta las dos células en forma de judía (flecha). *(b)* Microfotografía con microscopio electrónico de transmisión de una sección fina de una célula. Cada célula mide aproximadamente 0,6 μm de ancho. Observe el pedúnculo retorcido de hidróxido de hierro que surge desde el centro de la célula en ambas fotos.

www.medi

15.15-15.16 Minirrevisión

Las bacterias con vaina son proteobacterias filamentosas en las cuales las células individuales forman rosarios envueltos por una cubierta externa denominada vaina. Las bacterias que geman y con prostecas son bacterias con apéndices que forman pedúnculos o prostecas, que utilizan para adherirse o para la absorción de nutrientes, y son principalmente acuáticas.

- Fisiológicamente, ¿qué es exclusivo de la bacteria con vaina Leptothrix?
- ¿En qué difiere la división por gemación de la división por fisión binaria? ¿En qué se diferencia la fisión binaria del proceso de división de Caulobacter?
- ¿Qué ventajas puede tener un organismo con prostecas en un medio ambiente pobre en nutrientes?

V DELTA Y EPSILONPROTEOBACTERIAS

Para terminar con las proteobacterias consideraremos ahora algunas delta- y epsilonproteobacterias. Como es típico de las proteobacterias en general, entre las especies de estas dos clases de proteobacterias podemos encontrar una variedad de patrones metabólicos y algunas propiedades fenotípicas que son específicas para cada grupo. Comenzaremos con las mixobacterias, unos procariotas socialmente activos que interaccionan para formar masas celulares visibles sin la ayuda del microscopio.

15.17 Mixobacterias deslizantes

Géneros clave: *Myxococcus, Stigmatella*

Algunas bacterias muestran un tipo de movilidad denominada deslizamiento (Sección 4.14). Las bacterias deslizantes, que morfológicamente suelen ser filamentos o bacilos largos, carecen de flagelos pero pueden moverse cuando están en contacto con alguna superficie. Un grupo de bacterias deslizantes, las mixobacterias fructificantes, forman estructuras multicelulares denominadas cuerpos fructificantes y muestran ciclos de vida y desarrollo complejos que incluyen comunicación intercelular (ver **Figura 15.46**). Filogenéticamente, las mixobacterias deslizantes forman parte de las deltaproteobacterias (**Tabla 15.20**).

Las mixobacterias fructificantes muestran los ciclos de vida y patrones de comportamiento más complejos de todas las bacterias conocidas. Para ser capaz de codificar toda esta complejidad, el cromosoma de algunas mixobacterias es muy grande. Por ejemplo *Myxococcus xanthus* tiene un único cromosoma de 9,2 Mpb, el doble que el de *Escherichia coli* (Sección 13.2). De hecho, esto corresponde a dos tercios del tamaño del genoma completo de la levadura, un eucariota cuyo genoma está repartido en 16 cromosomas (Sección 13.5). Las células vegetativas de las mixobacterias fructificantes son sencillos bacilos gramnegativos no flagelados (**Figura 15.43*a***) que se deslizan sobre distintas superficies y consiguen sus nutrientes fundamentalmente lisando otras bacterias y utilizando los nutrientes así liberados. En las condiciones adecuadas, una serie de células vegetativas se agregan y construyen un cuerpo fructificante, dentro del cual algunas de las células se convertirán en estructuras de resistencia denominadas mixosporas (**Figura 15.43*b***).

Cuerpos fructificantes

Los cuerpos fructificantes de las mixobacterias varían desde simples masas globulares de mixosporas en una mucosidad ligera hasta formas complejas con un cuerpo fructificantes con pared y con tallo (**Figura 15.44**). Los cuerpos fructificantes a menudo exhiben colores llamativos y son morfológicamente complejos (**Figuras 15.44** y **15.45**). Normalmente pueden verse sobre pedazos húme-

Tabla 15.20 Clasificación de las mixobacterias fructificantes[a]

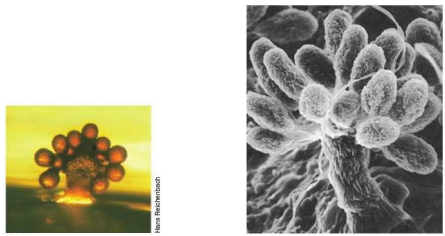
Característica	*Género*
Células vegetativas apuntadas:	
Mixosporas esféricas u ovales, cuerpos fructificantes normalmentes blandos y viscosos sin esporangios definidos o pedúnculos	*Mixococcus*
Mixosporas con forma bacilar:	*Archangium*
Mixosporas no contenidas en esporangios, cuerpos fructificantes sin pedúnculos	
Mixosporas embebidas en una envuelta viscosa:	
Cuerpos fructificantes sin pedúnculos	*Cystobacter*
Cuerpos fructificantes pedunculados, esporangio único	*Melittangium*
Cuerpos fructificantes pedunculados, múltiples esporangios	*Stigmatella*
Los cuerpos fructificantes son grupos marrón oscuro formados por pequeños esporangios esféricos o discoidales con una pared externa	*Angiococcus*
Células vegetativas no apuntadas (extremos romos y redondeados); mixosporas parecidas a las células vegetativas; no siempre producen esporangios:	
Cuerpos fructificantes sin pedúnculos; mixoesporas con forma bacilar	*Polyangium*
Cuerpos fructificantes sin pedúnculos; mixoesporas ovales; altamente celulolíticos	*Sorangium*
Cuerpos fructificantes sin pedúnculos; mixoesporas cocoidales	*Nannocystis*
Cuerpos fructificantes pedunculados	*Chondromyces*

[a] Filogenéticamente, las especies examinadas son miembros de las *Deltaproteobacterias* (véase Tabla 15.1).

www.medilibros.com

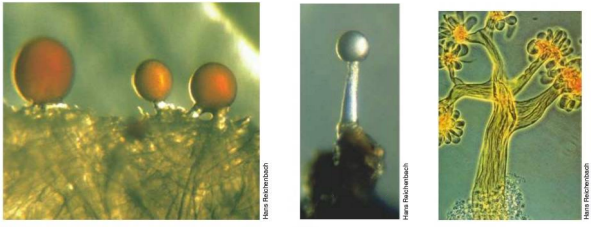
(a) (b)

Figura 15.43 ***Myxococcus.*** *(a)* Microfotografía con microscopio electrónico de una sección fina de una célula vegetativa de *Myxococcus xanthus*. Cada célula mide aproximadamente 0,75 μm de ancho. *(b) Mixospora de M. xanthus* que muestra su pared celular con múltiples capas. Las mixosporas miden aproximadamente 2 μm de diámetro.



(a) (b)

Figura 15.44 ***Stigmatella aurantiaca.*** *(a)* Foto a color de un solo cuerpo fructificante. La estructura mide aproximadamente 150 μm de altura. *(b)* Microfotografía con microscopio electrónico de barrido de un cuerpo fructificante creciendo sobre un pedazo de madera. Observe las células individuales que son visibles en cada estructura fructificante. El color del cuerpo fructificante que se muestra en *(a)* se debe a la producción de pigmentos carotenoides.



(a) (b) (c)

Figura 15.45 **Cuerpos fructificantes de tres especies de mixobacterias.** *(a) Myxococcus fulvus* (125 μm de altura). *(b) Myxococcus stipitatus* (170 μm de altura). *(c) Chondromyces crocatus* (560 μm de altura).

dos de madera en descomposición u otro material vegetal usando una lupa de mano o un microscopio de disección. Los cuerpos fructificantes de las mixobacterias se desarrollan a menudo sobre excrementos (por ejemplo sobre deyecciones de conejo) una vez que éstas han sido incubadas durante unos días en una cámara húmeda.

Otro método para aislar mixobacterias fructificantes implica preparar placas de Petri de agar agua (1,5% de agar en agua destilada sin nutrientes añadidos) sobre las que se ha extendido una suspensión densa de virtualmente cualquier bacteria. En el centro de la placa se coloca una pequeña cantidad de tierra, cortezas en descomposición o cualquier otro material de campo. Las mixobacterias en el inóculo lisan las células bacterianas y emplean como nutrientes los productos así liberados; conforme van creciendo se agregan y se desplazan agrupadas por la placa a partir del sitio de inóculo. Después de algunos días o hasta una semana más tarde, las placas pueden examinarse bajo el microscopio de disección para identificar los grupos de mixobacterias o los cuerpos fructificantes y pueden obtenerse cultivos puros transfiriendo a medio orgánico las células de los cuerpos fructificantes o de los bordes del grupo. Muchas mixobacterias, la mayoría de las cuales son aerobios estrictos, pueden cultivarse en el laboratorio sobre medios complejos que incluyen peptona o caseína hidrolizada, lo que proporciona aminoácidos o pequeños péptidos como nutrientes. Una notable excepción es el organismo aerobio facultativo *Anaeromyxobacter*, cuyas células pueden crecer por respiración anaerobia acoplada a la reducción de nitrato, fumarato o de varios compuestos clorados.

Ciclo de vida de una mixobacteria fructificante

El ciclo de vida de una típica mixobacteria fructificantes se ilustra en la **Figura 15.46**. Una célula vegetativa secreta mucosidad y conforme se desplaza sobre una superficie sólida va dejando un rastro de dicha mucosidad (**Figura 15.47**). Este rastro es utilizado por otras células en el grupo de manera que se va creando un patrón radial característico, en el que las células migran a lo largo de los rastros de mucosidad establecidos previamente (**Figura 15.47**). Finalmente se forma el cuerpo fructificante (**Figuras 15.44** y **15.45**) que es una estructura compleja generado por la diferenciación de células en una región del tallo y en una cabeza portadora de mixosporas.

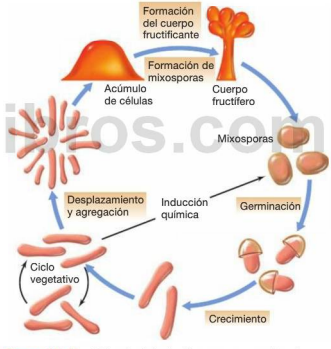


Figura 15.46 **Ciclo de vida de *Myxococcus xanthus*.** La agregación ensambla células vegetativas que llevan a cabo la formación del cuerpo fructificante, dentro del cual algunas células vegetativas sufren morfogénesis hasta células de resistencia denominadas mixosporas. Las mixosporas germinarán en condiciones nutricionales y físicas favorables para dar lugar a células vegetativas.

www.libros.com

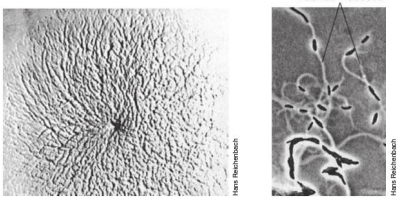


Figura 15.47 **Agregación en Myxococcus.** *(a)* Microfotografía con microscopio electrónico de una agregación (radio de 5-mm) de *Myxococcus xanthus* sobre agar. *(b)* Células individuales de *Myxococcus fulvus* de un cultivo deslizando activamente, que muestran los característicos rastros mucosos sobre el agar. Una célula de *M. fulvus* mide aproximadamente 0,8 μm de diámetro.

Los cuerpos fructificantes no se forman si están disponibles los nutrientes necesarios para el crecimiento vegetativo, pero al agotarse dichos nutrientes los grupos de células vegetativas comienzan a asociarse. Las células se agregan, probablemente por medio de una respuesta quimiotáctica (Secciones 4.14 y 4.15), migrando unas junto a otras y formando montículos (**Figura 15.48**); un único cuerpo fructificante puede constar de 10^5 o más células. Conforme estas masas de células se hacen más altas, comienza la diferenciación entre el tallo y la cabeza del cuerpo fructicante (Figura 15.48*b* y *c*). La Figura 15.48*d* ilustra claramente la diferenciación del cuerpo fructificante en tallo y cabeza. El tallo está compuesto de mucosidad, dentro de la cual unas pocas células pueden estar atrapadas. La mayoría de las células se acumulan en la cabeza del cuerpo fructificante, donde sufren su diferenciación hasta mixosporas (Figuras 15.43-15.46). En algunos géneros las mixosporas están encerradas en grandes estructuras con pared denominadas quistes.

En comparación con la célula vegetativa, la mixospora es más resistente a la desecación, las vibraciónes sonoras, la radiación UV y el calor, aunque su grado de resistencia al calor es mucho menor que el de las endosporas bacterianas (Sección 4.12). La función principal de las mixosporas enquistadas es por tanto permitir al organismo sobrevivir a la desecación durante su dispersión o durante la desecación de su hábitat. Tras diseminarse a un hábitat apropiado o al restaurarse las condiciones de crecimiento adecuadas, la mixospora acaba germinando a través de una ruptura localizada de su cápsula, con el consiguiente crecimiento y la salida de una nueva célula vegetativa.

Las mixobacterias están habitualmente pigmentadas con pigmentos carotenoides (Figuras 15.44 y 15.45), siendo los pigmentos principales los glicósidos de carotenoides. La formación del pigmento se estimula por la luz y al menos una de las funciones de dicho pigmento es la fotoprotección, que se hace necesaria porque en la naturaleza las mixobacterias normalmente forman cuerpos fructificantes bajo la luz. En el género *Stigmatella* (Figura 15.44), la luz estimula tremendamente la formación de cuerpos fructificantes y cataliza la producción de la feromona lipídica 2,5,8-trimetil-8-hidroxi-nonano-4-ona. Esta substancia inicia el paso de agregación. Las mixobacterias fructificantes se clasifican conforme a la morfología de sus células vegetativas, las mixosporas y de la estructura del cuerpo fructificantes (Tabla 15.20) y conforme a criterios filogenéticos empleando el análisis de la secuencia de sus genes del 16S rRNA.

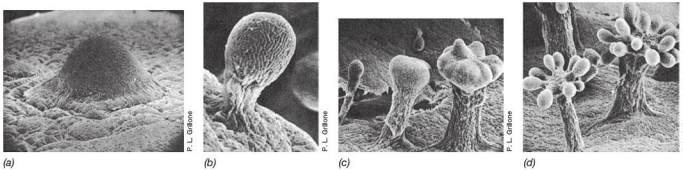


Figura 15.48 **Microfotografía con microscopio electrónico de barrido de la formación de un cuerpo fructificante de *Chondromyces crocatus*.** *(a)* Estadio temprano, que muestra la agregación y la formación del montículo. *(b)* Estadio inicial de formación del tallo. La formación de mucosidad en la cabeza todavía no ha comenzado y por tanto las células que la componen todavía son visibles. *(c)* Tres estadios en la formación de la cabeza. Observe que el diámetro del tallo también se incrementa. *(d)* Cuerpos fructificantes maduros. La estructura fructificante completa mide aproximadamente 600 μm de altura (compare con la Figura 15.45c).

15.17 Minirrevisión

Las mixobacterias fructificantes son bacilos deslizantes que se agregan para formar masas complejas de células denominadas cuerpos fructíferos. Las mixobacterias son bacterias del suelo quimioorganótrofas que viven mediante el consumo de materia orgánica muerta o de otras células bacterianas.

- ¿Qué condiciones ambientales disparan la formación de cuerpos fructificantes en las mixobacterias?
- ¿Qué es una mixospora y en qué se diferencia de una endospora?
- ¿A qué grupo filogenético específico pertenecen las mixobacterias?

15.18 Proteobacterias reductoras de sulfato y reductoras de azufre

Géneros clave: *Desulfovibrio, Desulfobacter, Desulfuromonas*

El sulfato (SO_4^{2-}) y el azufre (S^0) son los aceptores de electrones para un gran grupo de deltaproteobacterias anaerobias que utilizan compuestos orgánicos o H_2 como donantes de electrones. El sulfuro de hidrógeno (H_2S) es el producto de la reducción tanto del SO_4^{2-} como del S^0. Se conocen más de 40 géneros de estos organismos, denominados colectivamente **bacterias reductoras de sulfato** y **bacterias reductoras del azufre** y en la **Tabla 15.21** se muestran algunos de los principales. La palabra *desasimilatorias* se refiere al uso del sulfato o del azufre como aceptores de electrones para la generación de energía, en contraposición a su asimilación como fuentes biosintéticas de azufre (Sección 21.8).

Propiedades generales

Los géneros de bacterias reductoras de sulfato que forman el grupo I, incluyendo *Desulfovibrio* (**Figura 15.49a**), *Desulfomonas*, *Desulfotomaculum* y *Desulfobulbus* (Figura 15.49*c*), utilizan lactato, piruvato, etanol o ciertos ácidos grasos como donadores de electrones, reduciendo sulfato a sulfuro de hidrógeno; son incapaces de catabolizar acetato. Los géneros que forman el grupo II, como *Desulfobacter* (Figura 15.49*d*), *Desulfococcus*, *Desulfosarcina* (Figura 15.49*e*) y *Desulfonema* (Figura 15.49*b*), se especializan en la oxidación de ácidos grasos, particularmente acetato, reduciendo el sulfato hasta sulfuro. Las bacterias reductoras de sulfato son en su mayor parte anaerobios estrictos y por tanto para su cultivo deben emplearse métodos que implican una estricta ausencia de oxígeno (Figura 15.49*g*).

Las bacterias reductoras de sulfato están presentes en ambientes acuáticos y terrestres que se han vuelto anaerobios como resultado de procesos microbianos de descomposición. El género mejor estudiado es *Desulfovibrio* (Figura 15.49*a*), habitual en ambientes acuáticos o en suelos encharcados que contengan abundante materia orgánica y niveles suficientes de sulfato. *Desulfotomaculum*, que filogenéticamente es miembro de las bacterias grampositivas, está compuesto por bacilos formadores de endosporas que habitan principalmente en el suelo. La reducción de sulfato y el crecimiento de *Desulfotomaculum* en ciertos alimentos enlatados lleva a un deterioro debido a su olor a ácido sulfhídrico. Los restantes géneros de reductores de sulfato viven en agua dulce carente de oxígeno (grupo I) o en ambientes marinos (grupo II) y pueden ser aislados ocasionalmente del intestino de mamíferos.

Reducción del azufre

Las bacterias desasimilatorias reductoras de azufre pueden reducir azufre elemental hasta sulfuro pero son incapaces de reducir el sulfato hasta sulfuro. Las especies de *Desulfuromonas* (Figura 15.49*f*) crecen anaeróbicamente acoplando la oxidación del acetato o del etanol a la reducción de azufre hasta sulfuro. Sin embargo, la capacidad de reducir azufre elemental, así como otros compuestos del azufre como tiosulfato, sulfitos o dimetil sulfóxido (DMSO) está muy extendida en una serie de bacterias quimioorganótrofas, generalmente aerobias facultativas (como por ejemplo *Proteus*, *Campylobacter*, *Pseudomonas* y *Salmonella*). *Desulfuromonas* se diferencia de estas bacterias aeróbicas en que es un anaerobio estricto que sólo puede usar sulfuro como aceptor de electrones (Tabla 15.21).

Las bacterias desasimilatorias reductoras de azufre residen en muchos de los mismos hábitats que las bacterias reductoras de sulfato y a menudo se asocian con bacterias que oxidan H_2S hasta S^0, como por ejemplo las bacterias verdes del azufre (Sección 16.15). El azufre producido por la oxidación del sulfuro vuelve a reducirse hasta H_2S por medio del metabolismo del reductor de sulfuro, completándose así el ciclo anaerobio del azufre (Sección 24.4).

Fisiología de las Bacterias reductoras de sulfato

La bioquímica de la reducción del sulfato se analiza en la Sección 21.8. Aquí tan sólo tocaremos algunas de las propiedades fisiológicas generales de este grupo. El rango de donadores de electrones empleado por las bacterias reductoras de sulfato es considerablemente amplio. Hidrógeno, lactato y piruvato se emplean casi universalmente y muchas de las especies del grupo I también emplean como donadores de electrones al malato, los sulfonatos y ciertos alcoholes primarios (por ejemplo etanol, propanol y butanol). Algunas cepas de *Desulfotomaculum* emplean glucosa, pero esto es algo poco habitual entre los reductores de sulfato. Los reductores de sulfato del grupo I oxidan lactato, piruvato o etanol hasta acetato y luego secretan este ácido graso como producto final.

Tabla 15.21 Características de algunos géneros clave de bacterias reductoras de sulfato y azufre[a]

Género	*Características*
Grupo I sulfato-reductoras: No acetato oxidantes	
Desulfovibrio	Flagelos polares, bacilos curvos, no esporas; gramnegativos; contiene desulfoviridina; termófilo
Desulfomicrobium	Bacilos móviles, no esporas; gramnegativos; ausencia de desulfoviridina
Desulfobotulus	Vibrios; gramnegativos; móviles; ausencia de desulfoviridina
Desulfofustis	Bacilos móviles, especializados en la degradación de glicolato y glioxalato
Desulfotomaculum	Bacilos rectos o curvados; móviles por flagelos polares o perítricos; gramnegativos; ausencia de desulfoviridina: produce endosporas; capaces de utilizar acetato como fuente de energía
Desulfomonile	Bacilos; capaces de la decloración reductiva de 3-clorobenzoato a benzoato (Sección 21.12)
Desulfobacula	Células ovales a cocoidales, marinas; puede oxidar varios compuestos aromáticos, incluyendo el hidrocarburo aromático tolueno, a CO_2
Archaeoglobus	Archaeon; hipertermófilo, temperatura óptima, 83 °C; contiene algunas coenzimas únicas de bacterias metanogénicas, produce pequeñas cantidades de metano durante su crecimiento; H_2, fórmico, glucosa, lactato y piruvato actúan como donadores de electrones, SO_4^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, o SO_3^{2-}, como aceptores de electrones (Sección 17.7)
Desulfobulbus	Células ovoides o con forma de limón; no esporas; gramnegativos; ausencia de desulfoviridina; si son móviles, lo son por un flagelo polar único; utilizan propionato como donador de electrones con acetato + CO_2 como productos
Desulforhopalus	Bacilos curvados, con vacuolas de gas, psicrófilo; usa propionato, lactato o alcoholes como donadores de electrones
Thermodesulfobacterium	Pequeños bacilos gramnegativos; presente desulfoviridina; termófilos, crecimiento óptimo a 70 °C; miembro de Bacteria pero contiene lípidos con enlace éter (Sección 16.19)
Grupo II sulfato-reductores: Acetato-oxidantes	
Desulfobacter	Bacilos; no esporas, gramnegativos; ausencia de desulfoviridina; si móviles, por flagelo polar único; utiliza únicamente acetato como donador de electrones y lo oxida a CO_2 vía el ciclo del ácido cítrico
Desulfobacterium	Bacilos, algunos contienen vacuolas de gas, marinas; capaces de crecimiento autotrófico vía la ruta del acetil-CoA
Desulfococcus	Células esféricas; inmóviles; gramnegativos; desulfoviridina presente, no esporas; utiliza ácidos grasos C_1 a C_{14} como donadores de electron y los oxida completamente a CO_2; capaces de crecimiento autotrófico vía la ruta del acetil-CoA
Desulfonema	Bacterias grandes filamentosas y deslizantes; gramposítivos, no esporas; desulfoviridina presente o ausente; utiliza ácidos grasos C_3 a C_{12} como donadores de electrones y los oxida completamente a CO_2; capaces de crecimiento autotrófico vía la ruta del acetil-CoA (H_2 como donador de electrones)
Desulfosarcina	Células en paquetes (organización en sarcina); gramnegativos; no esporas; desulfoviridina ausente; utiliza ácidos grasos C_3 a C_{14} como donadores de electrones y los oxida completamente a CO_2; capaces de crecimiento autotrófico vía la ruta del acetil-CoA (H_2 como donador de electrones)
Desulfarculus	Vibrios; gramnegativos; móviles; desulfoviridina ausentes; utiliza unicamente ácidos grasos C_1 a C_{18} como donadores de electrones
Desulfacinum	Cocos a células ovales; gramnegativos; utiliza ácidos grasos C_1 a C_{18}, nutricionalmente muy diversos, capaces de crecimiento autotrófico; termófilos
Desulforhabdus	Bacilos; no esporas; gramnegativos; inmóviles; utiliza ácidos grasos y los oxida completamente a CO_2
Thermodesulforhabdus	Bacilos móviles gramnegativos; termófilos, utiliza ácidos grasos de hasta C_{18}
Reductoras de azufre (desasimiladoras):	
Desulfuromonas	Bacilos rectos, flagelo lateral único; no esporas; gramnegativos; no reduce sulfato; usa acetato, succinato, etanol, o propanol como donadores de electrones; anaerobio estricto; una especie es capaz de producir la desclaración reductiva de tricloroetileno (Sección 21.12)
Desulfurella	Bacilos cortos móviles; gramnegativos; requieren acetato; termófilos
Sulfurospirillum	Vibrios pequeños, reducen S^0 con H_2 o fórmico como donadores de electrones
Campylobacter	Bacilos curvados o con forma de vibrios; flagelos polares; gramnegativos; no esporas; incapaces de reducir sulfato pero pueden reducir azufre, sulfito, tiosulfato, nitrato, o fumarato anaeróbicamente con acetato o una variedad de otras fuentes de carbono o donadores de electrones; aerobios facultativos; microaerofílicos

[a] Filogenéticamente, la mayoría de las bacterias sulfato- y sulfo-reductoras son miembros de las *Deltaproteobacteria*. *Archaeoglobus* es un miembro del dominio arqueas (Capítulo 17); Thermodesulfobacterium es una bacteria hipertermófila separada evolutivamente hace mucho tiempo (Sección 16.19); y *Sulfurospirillum* y *Campylobacter* son miembros de las *Epsilonproteobacteria* (Sección 15.19 y Tabla 15.22).

Los reductores de sulfato del grupo II oxidan completamente hasta CO_2 a ácidos grasos (incluyendo el acetato), lactato, succinato, e incluso benzoato en algunas especies. *Desulfosarcina*, *Desulfonema*, *Desulfococcus*, *Desulfobacterium*, *Desulfotomaculum* y ciertas especies de *Desulfovibrio* son únicas entre los reductores de sulfato en su capacidad de crecer quimiolitotróficamente y autotróficamente con H_2 como donante de electrones, SO_4^{2-} como aceptor de electrones y CO_2 como única fuente de carbono. Unos pocos reductores de sulfato pueden

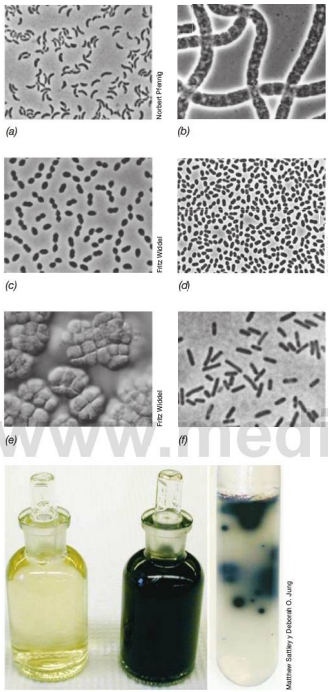


Figura 15.49 **Algunas bacterias reducturas de sulfato y reductoras de sulfuro representativas.** *(a) Desulfovibrio desulfuricans*; diámetro celular 0,7 μm. *(b) Desulfonema limicola*; diámetro celular 3 μm. *(c) Desulfobulbus propionicus*; diámetro celular 1,2 μm. *(d) Desulfobacter postgatei*; diámetro celular 1,5 μm. *(e) Desulfosarcina variabilis*; diámetro celular 1,25 μm. *(f) Desulfuromonas acetoxidans*; diámetro celular 0,6 μm. *(g)* Cultivo enriquecido de bacterias reductoras de sulfatos. A la izquierda, medio estéril; en el centro, enriquecimiento positivo que muestra sulfuro ferroso (FeS) negro; a la derecha, colonias de bacterias reductoras de sulfato diluidas en un tubo. *(a-d, f)* Microfotografías de contraste de fase; *(e)* Microfotografía de contraste por interferencia.

usar hidrocarburos, incluso petróleo crudo, como donantes de electrones. Este proceso es digno de mención porque hasta que estos organismos fueron descubiertos se creía que los hidrocarburos tan sólo podían ser oxidados en presencia de oxígeno (Secciones 21.13 y 21.15).

Además de usar sulfato como aceptor de electrones, muchas bacterias reductoras de sulfato pueden reducir nitrato hasta NH_3 o reducir sulfonatos, como el isotionato ($HO—CH_2—CH_2—SO_3^-$), hasta sulfuro. El azufre elemental también puede ser reducido hasta sulfuro por la mayoría de las bacterias reductoras de sulfato.

Ciertos compuestos orgánicos pueden también ser fermentados por las bacterias reductoras de sulfato. El compuesto fermentable más común es el piruvato, que se convierte mediante una reacción fosforoclástica en acetato, CO_2 y H_2 (Figura 21.3). Además, aunque se consideran anaerobios estrictos, ciertas bacterias reductoras de sulfato son bastante tolerantes al oxígeno y pueden respirar utilizando O_2 como aceptor de electrones, fundamentalmente ciertas cepas aisladas de tapices bacterianos en los que coexisten con cianobacterias productoras de O_2. Al menos una especie, *Desulfovibrio oxyclinae*, puede crecer utilizando O_2 como aceptor de electrones en condiciones microaerobias.

Aislamiento

El enriquecimiento de especies de *Desulfovibrio* es fácil si se emplea un medio de lactato-sulfato que contenga hierro ferroso, en condiciones de ausencia de oxígeno. Se necesita un agente reductor, como el tioglicolato o el ascorbato, para conseguir una baja E'_0. Cuando las bacterias reductoras de sulfato están creciendo el sulfuro formado por la reducción del sulfato se combina con el hierro ferroso para formar sulfuro ferroso insoluble y de color negro (Figura 15.49*g*). Este ennegrecimiento no sólo indica la reducción del sulfato ya que el hierro se une y detoxifica el sulfuro, permitiendo un crecimiento más eficiente.

Una vez que se ha obtenido algún crecimiento, lo que queda demostrado por el ennegrecimiento del medio, se puede conseguir la purificación aislando colonias en un tubo recubierto en su interior por una fina capa de agar, denominados tubos rodantes, o sobre placas de Petri encerradas dentro de una cámara de anaerobios (Figura 6.28). Alternativamente, también se pueden emplear tubos de agar fundido para la purificación. En el método del tubo de agar fundido, toma un volumen pequeño de líquido procedente del cultivo de enriquecimiento y se añade a un tubo de medio de crecimiento con el agar todavía sin solidificar, se mezcla concienzudamente y se preparan diluciones seriadas empleando una serie de tubos con el mismo medio fundido (Sección 22.2 y Figura 22.3). Al solidificarse, células individuales de bacterias reductoras de sulfato acaban distribuidas por todo el agar y crecen formando colonias negras (Figura 15.49*g*) que pueden recogerse en esterilidad para obtener cultivos puros.

www.medil

15.18 Minirrevisión

Las bacterias reductoras de sulfato y reductoras de azufre forman un gran grupo de deltaproteobacterias que se agrupan por su capacidad de reducir SO_4^{2-} o S^0 hasta H_2S en ausencia de oxígeno. Se conocen dos subgrupos de bacterias reductoras de sulfato: el grupo I, que son incapaces de oxidar acetato hasta CO_2 y el grupo II, que sí pueden hacerlo.

- ¿Qué sustrato orgánico usaría para enriquecer y aislar un reductor de sulfato del grupo II de su medio natural?
- Para las bacterias reductoras de sulfato capaces de crecimiento quimiolitótrofo y autótrofo: (1) ¿Cual es el donante de electrones? (2) ¿Cual es el aceptor de electrones? (3) ¿Cuál es la fuente de carbono?
- ¿En qué difiere fisiológicamente *desulfuromonas* de *desulfovibrio*?

15.19 Las epsilonproteobacterias

Las epsilonproteobacterias son la quinta clase de proteobacterias y fueron definidas originalmente ciertas bacterias patógenas, en particular *Campylobacter* y *Helicobacter*. En cualquier caso, estudios ambientales de hábitats terrestres y marinos han mostrado que pueden encontrarse diversas epsilonproteobacterias en una serie de hábitats naturales, donde parecen jugar un papel ecológicamente importante a juzgar por su número y capacidades metabólicas.

Las epsilonproteobacterias son particularmente abundantes en las interfases aerobia-anaerobia de ambientes ricos en azufre, como alrededor de las chimeneas hidrotermales del fondo del océano (Sección 24.11), donde catalizan la transformación metabólica del azufre y viven asociadas con animales que habitan en dichas áreas. Muchas de estas bacterias son autótrofos y emplean H_2, formato, sulfuro, o tiosulfato como donantes de electrones y como aceptores de electrones nitrito, oxígeno, o azufre elemental, según las especies. En esta sección describiremos los grupos principales de epsilonproteobacterias que se han cultivado en laboratorio y comentaremos la diversidad en el medio ambiente natural de los miembros de esta clase que todavía no han sido cultivados.

Campylobacter y *Helicobacter*

Estos dos géneros son representantes clave de las epsilonproteobacterias. Aunque representan distintas familias dentro de esta clase, las campylobacteraceae y las helicobacteraceae comparten una serie de características. Todas son espirilos gramnegativos móviles y la mayoría de las especies son patógenas de humanos y otros animales (**Tabla 15.22**). Las especies de *Campylobacter* y *Helicobacter* también son microaerobias (Sección 6.17) y por tanto se cultivan a partir de muestras clínicas en medio incubado a baja concentración de O_2 (3-15%) y alta concentración de CO_2 (3-10%).

Se han descrito más de una docena de especies de *Campylobacter*, que causan una enteritis aguda que acaba

Tabla 15.22 Características de géneros clave de *Epsilonproteobacteria*

Género	*Hábitat*	*Caracteres descriptivos*	*Fisiología y metabolismo*
Campylobacter	Organos reproductivos, cavidad oral y tracto intestinal de humanos y otros animales; patogénico	Bacilos finos con curvatura espiral; movimiento parecido a un sacacorchos; movilidad por un flagelo polar único	Microaerofílicos; quimioorganótrofos
Arcobacter	Hábitats diversos (agua dulce, aguas residuales, ambientes salinos, tracto reproductivo animal, plantas); algunas especies son patogénias en humanos y otros animales	Bacilos curvados y finos; movilidad por un flagelo polar único	Microaerofílicos; aerotolerantes o aeróbicos; quimioorganótrofos; algunas especies oxidan sulfatos a azufre elemental (S^0); una especie fija nitrógeno
Helicobacter	Tracto intestinal y cavidad oral en humanos y otros animales; patogéno	Bacilos espiraliformes; algunas especies con fibras periplásmicas fuertemente enrolladas	Microaerofílicos; quimioorganótrofos; producen altos niveles de ureasa (asimilación de nitrógeno)
Sulfurospirillum	Hábitats marino y agua dulce que contengan azufre	Vibrioides o células espiraliformes; móviles por flagelos polares	Microaerofílicos; reduce azufre elemental (S^0)
Thiovulvum	Hábitats marino y agua dulce que contengan azufre; no se ha obtenido en cultivo puro	Las células contienen gránulos ortorrómbicos de azufre; movilidad rápida por flagelos peritríquios	Microaerofílicos; quimiolitótrofos que oxidan compuestos de azufre reducido (H_2S)
Wolinella	Rumen bovino	Movilidad rápida por flagelo polar; única especie, *W. succinogenes*	Conocido anaeróbio; respiración anaeróbica usando fumarato, nitrato, u otros compuestos como aceptor final de electrones y H_2 o fórmico como donador.

produciendo diarrea sanguinolenta y cuya patogénesis se debe a varios factores, incluyendo una enterotoxina relacionada con la toxina colérica (Sección 28.11). *Helicobacter pylori* también es un patógeno que causa gastritis aguda o crónica que resulta en la formación de úlceras pépticas (Figura 34.25). El descubrimiento de *H. Pylori* y su papel en la gastritis y el desarrollo de úlceras pépticas sirvió a Barry Marshall y Robin Warren para ganar el Premio Nobel de Fisiología y Medicina del 2005. En las Secciones 34.11 y 37.9 analizaremos con más detalle las enfermedades producidas por *Campylobacter* y *Helicobacter*, incluyendo los métodos de transmisión de dichos organismos y sus síntomas clínicos.

Arcobacter

El género *Arcobacter* es otro miembro de las *Campylobacteraceae* que es inusual entre las epsilonproteobacterias en tanto que sus diversas especies ocupan una diversidad de hábitats infrecuentemente amplia. Algunas especies son patógenas, e infectan los tractos intestinales y reproductivos de humanos y otros animales, produciendo problemas reproductivos del hombre y animales en algunos animales, enfermedades que cursan con diarrea en un amplio rango de animales y gastroenteritis y apendicitis en humanos. También se ha detectado *Arcobacter* en aguas fecales y en depósitos de agua (Tabla 15.22), por tanto la ruta de infección fecal-agua-oral debe ser la más habitual en las infecciones gastrointestinales causadas por *Arcobacter*. La especie *Arcobacter nitrofigilis* está asociada con el sedimento y las raíces de la planta de marismas salobres *Spartina* y es capaz de fijar nitrógeno.

Sulfurospirillum y *Thiovulvum*

Los *Sulfurospirillum* son organismos microaerófilos no patógenos de vida libre de la familia de las Campylobacteraceae, que habitan ambientes marinos y de agua dulce. Son capaces de reducir azufre elemental (S^0) y algunas especies también pueden usar selenato o arsenato como aceptores de electrones (Sección 21.12). *Thiovulvum*, de la familia de las Helicobacteraceae, también es un microaerófilo que habita ambientes marinos y de agua dulce en los cuales se forma una interfase entre lodos ricos en sulfuro con agua cargada de oxígeno, donde puede oxidar sulfuro formando grandes gránulos internos de azufre que ocupan la mayoría del contenido citoplasmático de la célula. Las células de *Thiovulvum* tienen flagelos peritricos y se mueven a velocidades excepcionales. Los miembros de este género, que todavía no han podido cultivar en cultivo puro, también secretan un tallo mucoso que adhiere sus células a superficies sólidas.

Wolinella

Wolinella succinogenes es la única especie descrita para el género *Wolinella* y es una bacteria anaerobia aislada del rumen bovino (Tabla 15.22). En contraposición a otras epsilonproteobacterias, *W. succinogenes* crece preferentemente en anaerobiosis y sólo de modo ineficiente a muy bajas tensiones de oxígeno (< 2%). Sin embargo esta bacteria es capaz de respiración anaerobia utilizando fumarato o nitrato como aceptores de electrones y H_2 o formato como donadores de electrones.

Aunque hasta ahora sólo se ha encontrado en el rumen, el genoma de *W. succinogenes*, que en su mayor parte muestra una notable homología con los de *Campylobacter* y *Helicobacter*, contiene genes adicionales que codifican para la fijación de nitrógeno, numerosos mecanismos celulares de señalización y rutas metabólicas en principio completas, que están ausentes de los genomas de sus parientes cercanos. Todo esto sugiere que *Wolinella* habita en diversos ambientes fuera del rumen.

Epsilonproteobacteria no cultivadas

Además de los miembros representativos de los géneros mencionados previamente que han sido cultivados en laboratorio y de numerosas especies y géneros no mencionados en esta sección, existen grandes grupos dentro de esta clase que tan sólo se conocen por sus secuencias del gen del 16S rRNA que se han obtenido de muestras del medio ambiente. Por medio de estudios de secuenciación de muestras ambientales y de los intentos de cultivo en laboratorio que están en proceso, se está empezando a aceptar que los miembros de las epsilonproteobacterias están presentes de modo ubicuo en aquellos ambientes marinos y terrestres donde hay azufre presente, particularmente en las fuentes hidrotermales del fondo del océano donde las aguas oxigenadas del océano se mezclan con aguas ricas en sulfuro. También como epibiontes de animales que viven en las proximidades de dichas fuentes hidrotermales, como el gusano *Alvinella* o la gamba *Rimicaris*, algunas epsilonproteobacterias filamentosas y aún por cultivar podrían utilizar su metabolismo del azufre para detoxificar el sulfuro, que de otro modo sería dañino para sus hospedadores animales, permitiendo a éstos multiplicarse en un hábitat por lo demás hostil (Sección 24.11). Los estudios filogenéticos, de la actividad metabólica y del papel ecológico de las bacterias que componen esta quinta clase de las proteobacterias, nos proporcionan un nuevo y excitante campo de diversidad procariota.

15.19 Minirrevisión

Las epsilonproteobacterias incluyen patógenos y no patógenos que son abundantes en ciertos ambientes. Muchas de las formas no patógenas se encuentran en la interfase aerobia-anaerobia de ambientes ricos en sulfuro.

- ¿Qué descubrimiento obtuvo el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en el 2005?
- ¿De qué hábitat sería más probable conseguir nuevos representantes de Wolinella?
- ¿En qué tipo de hábitats sería más probable encontrar especies no descritas de epsilonproteobacterias?

Glosario de términos

Autoinducción: un mecanismo de regulación génica que implica pequeñas moléculas señal difusibles.

Bacterias nitrificantes: quimiolitótrofos capaces de llevar a cabo la transformación $NH_3 \rightarrow NO_2^-$, o $NO_2^- \rightarrow NO_3^-$.

Bacterias reductoras de sulfato y reductoras de azufre: dos grupos de bacterias anaerobias que respiran anaeróbicamente utilizando respectivamente SO_4^{2-} y S^0 como donantes de electrones y produciendo H_2S.

Bacteria rojas del azufre: un grupo de bacterias fotótrofas que contienen bacterioclorofilas *a* o *b* y que se caracterizan por su capacidad para oxidar H_2S y para acumular azufre elemental dentro de las células (y en los géneros *Ectothiorhodospira* y *Halorhodospira*, fuera de la célula).

Bacteria rojas no del azufre: un grupo de bacterias fotótrofas que contienen bacterioclorofilas *a* o *b* y que crecen preferentemente como fotoheterótrofos y que tienen una tolerancia más bien baja al H_2S.

Bioluminiscencia: la generación enzimática de luz visible por organismos vivos.

Carboxisoma: una inclusión celular poliédrica de ribulosa bisfosfato carboxilasa (RubisCO). La enzima clave del ciclo de Calvin.

Enterobacterias: un gran grupo de bacterias gramnegativas con morfología bacilar que se caracterizan por un metabolismo anaerobio facultativo y que se encuentran habitualmente en los intestinos de animales.

Espirilos: células en forma de espiral.

Metanótrofo: un organismo capaz de oxidar metano (CH_4) como donador de electrones en su metabolismo energético.

Metilótrofo: un organismo capaz de oxidar compuestos orgánicos que no contengan enlaces carbono-carbono; si es capaz de oxidar CH_4, se le considera también un metanótrofo.

Mixótrofo: un organismo que puede obtener energía de la oxidación de compuestos inorgánicos pero que requiere compuestos orgánicos como fuente de carbono.

Prostecas: extrusiones del citoplasma, que a menudo forman apéndices característicos, rodeados por la pared celular.

Proteobacteria: uno de los linajes principales de bacterias que incluye un gran número de bacilos y cocos gramnegativos.

Quimiolitótrofo: un organismo capaz de oxidar compuestos inorgánicos (como H_2, Fe^{2+}, S^0 o NH^{4+}) como fuentes de energía (donadores de electrones).

www.medilibros.com

Preguntas de repaso

1. Compare el metabolismo, la morfología y la filogenia de las bacterias rojas del azufre y no del azufre.
2. ¿En qué clases de proteobacterias se encuentran las especies fijadoras de nitrógeno?
3. Compare el metabolismo del nitrógeno de las bacterias nitrosificantes con el de las bacterias nitrificantes.
4. Compare la filogenia, la ecología y el metabolismo del azufre de *Thiobacillus* y *Desulfovibrio*.
5. Dé algunos ejemplos de este capítulo de bacterias mixotrofas. ¿Qué otros rasgos comparten estas bacterias?
6. *Pseudomonas* y *Vibrio* son bacterias con flagelos polares y oxidasa positivas que se encuentran habitualmente en ambientes acuáticos. ¿Qué rasgo fisiológico diferencia estas bacterias y cómo se comprueba dicho rasgo?
7. De las cinco clases de proteobacterias, ¿cuál cuenta con el mayor número de miembros asociados a animales como comensales, patógenos o simbiontes?
8. Nombre un donador de electrones para el metabolismo de la energía para cada una de las siguientes proteobacterias y diga si dicho organismo es aerobio o anaerobio: *Thiobacillus*, *Nitrosomonas*, *Ralstonia eutropha*, *Methylomonas*, *Acetobacter* y *Gallionella*.
9. ¿Qué atributo morfológico asemeja a *Caulobacter* e *Hyphomicrobium*? ¿Cómo distinguiría morfológicamente estos organismos?
10. Compare el ciclo de vida de *Myxococcus* con el de *Bdellovibrio*.
11. Describa una característica fisiológica clave de las siguientes proteobacterias que permita diferenciarlas entre sí: *Acetobacter*, *Methylococcus*, *Azotobacter*, *Photobacterium*, *Desulfovibrio*.
12. ¿Qué rasgo fisiológico asocia a la mayoría de las epsilonproteobacterias en cultivo?

Ejercicios prácticos

1. Defienda la siguiente afirmación empleando argumentos filogenéticos, ecológicos y fisiológicos: *Wolbachia pipientis* es una bacteria más evolucionada que *Escherichia coli*.
2. Defienda o rebata las siguientes afirmaciones empleando ejemplos de este capítulo: (a) La morfología celular tiene valor predictivo de carácter filogenético. (b) Las principales diferencias fisiológicas entre las proteobacterias se correlacionan con las diferentes clases en de este filum.

16

Dominio *Bacteria*: grampositivas y otras bacterias

Las cianobacterias son un grupo de bacterias fotótrofas, muy diverso morfológicamente y ecológicamente muy bien distribuido. Como son fotótrofos oxigénicos, liberan oxígeno como producto de desecho de su metabolismo energético.

I VISIÓN GENERAL DE LAS BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y OTRAS BACTERIAS 492

II BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y ACTINOBACTERIAS 492

16.1 Bacterias grampositivas no formadoras de endosporas 492

16.2 Bacterias grampositivas formadoras de endosporas 496

16.3 Bacterias grampositivas que carecen de pared: los micoplasmas 501

16.4 Actinobacterias: corineformes y bacterias del ácido propiónico 503

16.5 Actinobacteria: *Mycobacterium* 504

16.6 Actinobacterias filamentosas: *Streptomyces* y organismos relacionados 507

III CIANOBACTERIAS Y PROCLOROFITAS 511

16.7 Cianobacterias 511

16.8 Proclorofitas 515

IV CLAMIDIAS 516

16.9 Clamidias 516

V *PLANCTOMYCES/PIRELLULA* 519

16.10 *Planctomyces*: una bacteria pedunculada filogenéticamente única 519

VI LOS VERRUCOMICROBIOS 520

16.11 *Verrucomicrobium* y *Prosthecobacter* 520

VII LAS FLAVOBACTERIAS 521

16.12 *Bacteroides* y *Flavobacterium* 521

16.13 Acidobacterias 521

VIII EL GRUPO *CYTOPHAGA* 522

16.14 *Cytophaga* y organismos relacionados 522

IX BACTERIAS VERDES DEL AZUFRE 523

16.15 *Chlorobium* y otras bacterias verdes del azufre 523

X LAS ESPIROQUETAS 526

16.16 Espiroquetas 526

XI DEINOCOCOS 529

16.17 *Deinococcus* y *Thermus* 529

XII BACTERIAS VERDES NO DEL AZUFRE 531

16.18 *Chloroflexus* y organismos relacionados 531

XIII BACTERIAS HIPERTERMÓFILAS 533

16.19 *Thermotoga* y *Thermodesulfobacterium* 533

16.20 *Aquifex*, *Thermocrinis* y organismos relacionados 534

XIV *NITROSPIRA* Y *DEFERRIBACTER* 535

16.21 *Nitrospira*, *Deferribacter* y organismos relacionados 535

I VISIÓN GENERAL DE LAS BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y OTRAS BACTERIAS

En el Capítulo 15 analizamos las proteobacterias, un amplio y variado filum de las bacterias. En este capítulo nos centraremos en varios de los otros filums de las bacterias (Figura 15.1) y analizaremos las especies más conocidas cultivadas en laboratorio, con un énfasis especial en aquellas de las que disponemos de más información. Entre estos filums incluiremos a las bacterias grampositivas, que constituyen un gran grupo de bacterias principalmente quimioorganótrofas; las cianobacterias, un grupo ecológica y morfológicamente muy variado de fotótrofos oxigénicos, que tiene unas raíces evolutivas muy cercanas a las de las bacterias grampositivas; filums filogenéticamente muy primitivos como *Aquifex*; y otros grupos evolutivamente distintos. Una vez más, nos referimos a la información disponible en el *Manual de Bergey de Bacteriología Sistemática* y a *Los Procariotas* (Sección 14.14) para una información más detallada sobre estos grupos y especies bacterianas. Comenzaremos con un análisis de las bacterias grampositivas.

II BACTERIAS GRAMPOSITIVAS Y ACTINOBACTERIAS

Las bacterias grampositivas son un grupo muy grande y muy diverso. Antiguamente las bacterias grampositivas se dividían en dos grupos, denominados de GC bajo y de GC alto (actinobacterias), según las proporciones en contenido GC de su DNA (Sección 14.11) fueran inferiores (GC bajo) o superiores (GC alto) al 50%. Aunque esta división cada vez tiene menos utilidad con la aparición del análisis de secuencias de DNA y por tanto no le daremos mucho énfasis en este apartado, las grandes diferencias en contenido GC entre las bacterias grampositivas y las actinobacterias deben servirnos como recordatorio de sus grandes diferencias filogenéticas.

16.1 Bacterias grampositivas no formadoras de endosporas

Géneros clave: *Staphylococcus, Micrococcus, Streptococcus, Lactobacillus, Sarcina*

En esta sección analizaremos géneros de bacterias grampositivas no formadoras de endosporas, agrupadas antiguamente junto a las bacterias grampositivas formadoras de endosporas (Sección 16.2) y los micoplasmas (Sección 16.3) como bacterias *grampositivas de bajo GC*. A este grupo también se le conoce como *Firmicutes* y está formado por las bacterias del ácido láctico, que son clásicos bacilos y cocos grampositivos no formadoras de endosporas y sus diversos parientes. También analizaremos a *Micrococcus*, porque morfológicamente es bastante similar a *Staphylococcus*, pese a que de hecho pertenece a la otra subdivisión principal, las actinobacterias (**Tabla 16.1**).

Staphylococcus y *Micrococcus*

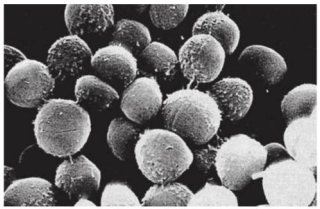
Staphylococcus (**Figura 16.1**) y *Micrococcus* son organismos aerobios con un típico metabolismo respiratorio. Son catalasa positivos, lo que permite su distinción frente a *Streptococcus* y algunos otros géneros de cocos gram-

Tabla 16.1 Aspectos que diferencian los cocos grampositivos más importantes

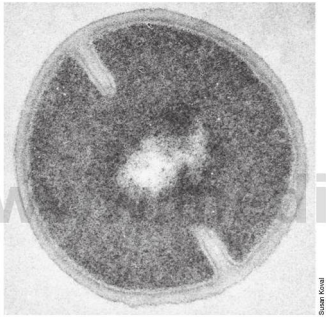
Género	*Movilidad*	*Organización celular*	*Crecimiento fermentativo*	*Grupo filogenético*[a]	*Otras características*
Micrococcus	−	Grupos, tétradas	−	*Actinobacteria*	Aerobio estricto
Staphylococcus	−	Grupos, parejas	+	*Bajo GC*	Único género del grupo que contiene ácido teicoico en su pared celular
Stomatococcus	−	Grupos, parejas	+	*Actinobacteria*	Único género del grupo que tiene cápsula
Planococcus	+	Parejas, tétradas	−	*Bajo GC*	Principalmente marinos
Sarcina	−	Grupos en forma de cubo de ocho o más células	+	*Bajo GC*	Extremadamente tolerantes a la acidez; tiene celulosa en su pared celular
Ruminococcus	+	Parejas, cadenas	+	*Bajo GC*	Anaerobio estricto; vive en rumen, ciego e intestino grueso de muchos animales
Peptococcus	−	Grupos, parejas	+	*Bajo GC*	Anaerobio estricto; fermenta peptona pero no azúcares
Peptostreptococcus	−	Grupos pequeños, cadenas cortas	+	*Bajo GC*	Anaerobio estricto; fermenta peptona; común en la flora intestinal humana, en la piel, instestino, vagina; también se puede aislar de secreciones vaginales y purulentas

[a] Todos son miembros de las bacterias grampositivas (Figura 15.1).

www.medilibros.com



(a)



(b)

Figura 16.1 ***Staphylococcus.*** *(a)* Microfotografía con el microscopio electrónico de barrido de células típicas de *Staphylococcus aureus*, que muestran la ordenación irregular de los agrupamientos de células. Cada célula mide aproximadamente 0,8 μm de diámetro. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de una célula en división de *S. aureus*. Obsérvese la gruesa pared celular grampositiva.

positivos. Los cocos grampositivos son parcialmente resistentes a un bajo potencial hídrico y toleran bastante bien la desecación y las altas concentraciones de sal. Su capacidad para crecer en medios con alta concentración de sal proporciona un método selectivo para su aislamiento. Por ejemplo, si extendemos el inóculo apropiado en una placa de medio rico que contenga 7,5% NaCl e incubamos dicha placa aeróbicamente, las colonias predominantes suelen estar formadas por cocos grampositivos. Muchas especies están pigmentadas, lo que proporciona una ayuda adicional para la selección de cocos grampositivos.

Los géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus* pueden diferenciarse fácilmente mediante un ensayo de oxidación-fermentación (Tabla 32.3). *Micrococcus* es un aerobio estricto y produce ácido a partir de glucosa sólo en condiciones aeróbicas, mientras que *Staphylococcus* es un anaerobio facultativo y produce ácido a partir de glucosa tanto aeróbica como anaeróbicamente. También es típico de *Staphylococcus* la formación de agrupaciones de células (Figura 16.1*a*), algo que *Micrococcus* no hace.

Los *Staphylococcus* son comensales y parásitos habituales de humanos y de animales y pueden causar ocasionalmente serias infecciones. En humanos hay dos especies principales, *Staphylococcus epidermidis* que es un organismo no pigmentado y no patógeno que se encuentra habitualmente en la piel o en las membranas de las mucosas y *Staphylococcus aureus* (Figura 16.1), una especie de pigmentación amarilla que está asociada muy habitualmente a diversas patologías, que incluyen furúnculos, pústulas, neumonía, osteomielitis, meningitis y artritis. Analizaremos la patogénesis de *S. aureus* en la Sección 28.2 y las enfermedades producidas por *Staphylococcus* en las Secciones 34.10 y 37.5. Las especies de *Micrococcus* también pueden aislarse de piel pero son mucho más habituales sobre la superficie de objetos inanimados, partículas de polvo y en el suelo.

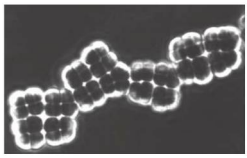
Sarcina

El género *Sarcina* incluye especies bacterianas que se dividen en tres planos perpendiculares para dar lugar a paquetes de ocho o más células (**Figura 16.2*a***). Las *Sarcina* son anaerobios estrictos y son tremendamente resistentes al ácido ya que son capaces de crecer fermentando azúcares incluso a pH 2. Las células de una de sus especies, *Sarcina ventriculi*, poseen una capa gruesa y fibrosa de celulosa que envuelve su pared celular (Figura 16.2*b*). Las capas de celulosa de células adyacentes acaban uniéndose y actúan como un material de cementado que mantiene unidos los paquetes de células de *S. ventriculi*.

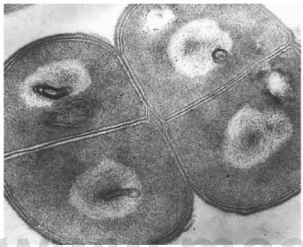
Pueden aislarse especies de *Sarcina* a partir de tierra, barro, heces y contenido estomacal. Debido a su extrema resistencia a la acidez, *S. ventriculi* es una de las pocas bacterias que pueden vivir en el estómago de humanos y otros animales monogástricos. Se ha observado un rápido crecimiento de *S. ventriculi* en el estómago de personas afectadas por ciertas enfermedades gastrointestinales, como por ejemplo ulceraciones del píloro. Estas patologías retrasan el flujo de alimentos hacia el intestino y su tratamiento requiere frecuentemente una intervención quirúrgica.

Bacterias del ácido láctico y fermentaciones lácticas

Las bacterias del ácido láctico son bacilos y cocos grampositivos que producen ácido láctico como único o principal producto de fermentación. Los miembros de este grupo carecen de porfirinas y citocromos, no llevan a cabo fosforilación oxidativa y por tanto obtienen su energía exclusivamente mediante fosforilación a nivel de



(a)



(b)

Figura 16.2 ***Sarcina.*** *(a)* Microfotografía de contraste de fase de células típicas del coco grampositivo *Sarcina*. Cada célula mide aproximadamente 2 μm de diámetro. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. La capa más externa de la célula está compuesta de celulosa.

sustrato. Todas las bacterias del ácido láctico crecen anaeróbicamente. Sin embargo y en contraposición a muchos anaerobios, la mayoría de las bacterias del ácido láctico no son sensibles al O_2 y pueden crecer en su presencia; por tanto se denominan anaerobios aerotolerantes. La mayoría de las bacterias del ácido láctico obtienen energía exclusivamente mediante el metabolismo de azúcares y por tanto están normalmente restringidas a ambientes en los que hay azúcares disponibles. Tienen por lo general capacidades biosintéticas limitadas y sus complejas necesidades nutricionales incluyen aminoácidos, vitaminas, purinas y pirimidinas (Tabla 5.4).

Una importante diferencia entre los subgrupos de las bacterias del ácido láctico se basa en el patrón de productos que generan como consecuencia de la fermentación de azúcares. Uno de estos grupos, el denominado homofermentativo, produce ácido láctico como único producto de fermentación. El otro grupo, denominado heterofermentativo, produce otros compuestos, fundamentalmente etanol y CO_2, así como lactato (**Tabla 16.2**). La Sección 21.2 proporciona información adicional sobre las rutas **homofermentativa** y **heterofermentativa** en estas bacterias.

Tabla 16.2 Diferencias entre los principales géneros de bacterias lácticas[a]

Forma y organización celulares	*Género*
Cocos en cadenas o tétradas	
Homofermentativos	*Streptococcus*
	Enterococcus
	Lactococcus
	Pediococcus
Heterofermentativos	*Leuconostoc*
Bacilos típicamente en cadenas	
Homofermentativos	*Lactobacillus*
Heterofermentativos	*Lactobacillus*

[a] Para más información en bacterias lácticas homofermentativas y heterofermentativas, véase Sección 21.2 y Figura 21.4.

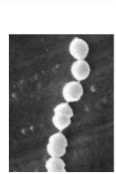
Los diversos géneros de bacterias del ácido láctico se definen en base a morfología celular, filogenia y tipo de metabolismo fermentativo, como se muestra en la Tabla 16.2.

Streptococcus y otros cocos

El género *Streptococcus* (**Figura 16.3b**) incluye especies homofermentativas con hábitats y actividades bastante diferentes, que tienen una considerable importancia práctica para el hombre. Algunas especies son patógenas para hombres y animales (Sección 34.2). Como productores de ácido láctico, otros estreptococos juegan un importante papel en la producción de suero de leche, forraje fermentado en silos y otros productos fermentados (Sección 37.2) y ciertas especies son muy relevantes en la formación de caries dentales (Sección 28.3). Para diferenciar los estreptococos patógenos de humanos de los no patógenos, se definen dos géneros. El género *Lactococcus* incluye aquellos estreptococos con relevancia en productos derivados de la leche, mientras que el género *Enterococcus* incluye aquellos de origen básicamente fecal.

Los organismos del género *Streptococcus* se han separado en dos grupos de especies relacionadas conforme a las características enumeradas en la **Tabla 16.3.** La hemó-

(a)



(b)

Figura 16.3 Cocos grampositivos. *(a) Lactococcus lactis*, en contraste de fase. *(b) Streptococcus* sp., microscopio electrónico de barrido. Las células tanto en *(a)* como en *(b)* miden aproximadamente 0,5-1 μm de diámetro.

www.medi

Tabla 16.3 Características diferenciales de estreptococos, lactococos y enterococos

Grupo	Grupos antigénicos (Lancefield)	Especies representativas	Tipo de hemólisis en agar-sangre	Buen crecimiento a 10 °C	Buen crecimiento a 45 °C	Sobrevive a 60 °C durante 30 min	Crecimiento en Leche con 0,1% azul de metileno	Crecimiento en Medio con 40% de bilis	Hábitat
Streptococos									
Subgrupo *Pyogenes*	A,B,C,F,G	*Streptococcus pyogenes*	β-*hemólisis*	−	−	−	−	−	Tracto respiratorio, sistémico
Subgrupo *Viridans*	−	*Streptococcus mutans*	α-*hemólisis (enverdecimiento),*	−	+	−	−	−	Boca, intestino
Enterococos	D	*Enterococcus faecalis*	β-*hemólisis* α-*hemólisis (enverdecimiento),* o ninguna	+	+	+	+	+	Intestino, vagina, plantas
Lactococos	N	*Lactococcus lactis* (Figura 16.3a)	Ninguna	+	−	+	+	+	Plantas, productos lácteos

lisis en agar sangre es un carácter de importancia considerable en la subdivisión del género. Cuando se siembran en placas de agar sangre, las colonias de aquellas cepas que producen estreptolisina O o S están rodeadas por un gran halo de hemólisis completa de hematíes, una circunstancia que se denomina *β-hemólisis* (Figura 28.18*a*). Por otro lado, muchos estreptococos, lactococos y enterococos no producen hemolisinas, pero en cambio producen un halo verdoso o marrón alrededor de sus colonias cuando crecen en agar sangre. No se debe a una auténtica hemólisis, sino a la decoloración y pérdida de potasio de los hematíes. Este tipo de reacción se denomina *α-hemólisis*.

Los estreptococos y cocos relacionados también se dividen en grupos inmunológicos conforme a la presencia de antígenos específicos de tipo carbohidrato (antígenos son substancias que inducen una respuesta inmune). Estos grupos antigénicos (o grupos *Lancefield* como se conocen normalmente, en reconocimiento a Rebeca Lancefield, una pionera en la taxonomía de *Streptococcus*) están designados por letras, de la A hasta la O. Los estreptococos *β*-hemolíticos que se encuentran en humanos normalmente poseen el antígeno A, mientras que los enterococos poseen el antígeno D. Los estreptococos que poseen el antígeno B, que suelen encontrarse asociados a animales, son los causantes de la mastitis (inflamación de la ubre) en vacas y también se les ha relacionado con ciertas infecciones en el hombre. Los lactococos forman parte del grupo antigénico N y no son patógenos.

Los cocos heterofermentativos se incluyen en el género *Leuconostoc*. Las cepas de *Leuconostoc* producen los compuestos aromatizantes diacetil y acetoína a partir del metabolismo del citrato; se han empleado como cultivos iniciadores en la fermentación de productos lácteos. Ciertas cepas de *Leuconostoc* producen grandes cantidades de polisacáridos de dextrano (α-1,6-glucano) cuando se cultivan en sacarosa (Figura 21.38) y algunos de éstos se emplean en medicina como sustitutos de plasma en transfusiones de sangre. Otras estirpes de *Leuconostoc* producen otros polímeros polisacarídicos, como por ejemplo polímeros de fructosa (levanos).

Lactobacillus

Los lactobacilos presentan normalmente morfología bacilar, que puede variar desde bacilos largos y esbeltos a bacilos cortos y curvados (**Figura 16.4**). La mayoría de las especies son homofermentativas, pero algunas son heterofermentativas (Tabla 16.2). Los lactobacilos son habituales en los productos derivados de la leche y algunas cepas se emplean para la preparación de leches fermentadas. Por ejemplo, *Lactobacillus acidophilus* (Figura 16.4*a*) se emplea en la producción de leche ácida; *L. delbrueckii* (Figura 16.4*c*) se emplea en la preparación de yogur; y otras especies se emplean en la producción de Chucrut, forraje fermentado y encurtidos (Sección 37.2). Los lactobacilos normalmente son más resistentes a condiciones ácidas que otras bacterias del ácido láctico ya que son capaces de crecer eficientemente a valores de pH de hasta 4. Es por ello que pueden ser aislados selectivamente de muestras naturales usando un medio rico ácido con carbohidratos como por ejemplo agar peptona con jugo de tomate.

La resistencia a la acidez de los lactobacilos les permite continuar creciendo durante la fermentación láctica, incluso cuando los valores de pH son ya demasiado bajos para el crecimiento de otras bacterias del ácido láctico. Los lactobacilos son por tanto responsables de los últimos estadios de la mayoría de las fermentaciones lácticas. Nunca o prácticamente nunca, son patógenos.

Listeria

Las *Listeria* son cocobacilos grampositivos que tienden a formar cadenas de entre tres a cinco células (Figura 37.9). *Listeria* está relacionada filogenéticamente con es-

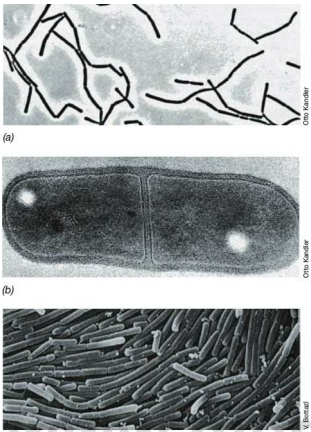


Figura 16.4 **Especies de *Lactobacillus*.** *(a) Lactobacillus acidophilus*, en contraste de fase. *(b) Lactobacillus brevis*, microscopio electrónico de transmisión. Cada célula mide aproximadamente 0,8 × 2 μm. *(c) Lactobacillus delbrueckii*, microscopio electrónico de barrido. Cada célula mide aproximadamente 0,7 μm de diámetro.

pecies de *Lactobacillus* y, al igual que las bacterias del ácido láctico homofermentativas, producen ácido pero no gas a partir de glucosa. Sin embargo las auténticas bacterias del ácido láctico son capaces de crecer en total ausencia de oxígeno y carecen de la enzima catalasa. Por el contrario *Listeria* necesita condiciones microaerobias o totalmente aerobias para crecer y produce catalasa.

Aunque se conocen diversas especies de *Listeria*, la especie *L. monocytogenes* es digna de mención por ser el agente causante de la listeriosis, una importante enfermedad transmitida por los alimentos (Sección 37.10). Este organismo se transmite a través de alimentos contaminados, normalmente no cocinados (normalmente, el queso) y puede producir desde una suave enfermedad hasta una forma mortal de meningitis.

16.2 Bacterias grampositivas formadoras de endosporas

Géneros clave: *Bacillus, Clostridium, Sporosarcina, Heliobacterium*

Existen una serie de géneros aceptados de bacterias formadoras de endosporas (**Tabla 16.4**) que se diferencian según su morfología celular, su forma, la posición de la endospora dentro de la célula (**Figura 16.5**), su relación con el O_2 y su metabolismo energético. La estructura y la resistencia al calor de las endosporas bacterianas, así como el proceso de formación de dichas endosporas, ha sido analizado en la Sección 4.12. Los dos géneros de los que más se sabe son *Bacillus*, cuyas especies son aerobios o anaerobios facultativos y *Clostridium*, que incluye especies fermentativas. Las heliobacterias son un grupo bacterias fotótrofas (la palabra helio proviene de la palabra griega que significa sol) que forman endosporas.

Las bacterias que forman endosporas presentan una considerable heterogeneidad genética, sin embargo todas estas bacterias están ecológicamente relacionadas en tanto que en la naturaleza se encuentran fundamentalmente en suelos. Incluso aquellas especies que son patógenas de humanos u otros animales son fundamentalmente organismos saprofíticos del suelo y tan sólo infectan animales fortuitamente. De hecho la capacidad para formar endosporas debe constituir una ventaja para un organismo del suelo ya que este es un ambiente muy variable en términos nutricionales, de temperatura y de nivel hídrico. De ahí que esta estructura capaz de resistir el calor y la desecación y de permanecer latente durante largos períodos (quizás incluso millones de años, Sección 4.12) tenga considerable valor para la supervivencia en la naturaleza.

Los formadores de endosporas pueden aislarse de manera selectiva a partir de tierra, comida, polvo y otros materiales calentando la muestra a 80 °C durante 10 min, un tratamiento que mata las células vegetativas pero que mantiene viables todas las endosporas presentes. Si se aíslan colonias de las muestras así calentadas en placas con el medio adecuado se obtendrán especies de *Bacillus* o *Clostridium*, según se incuben aeróbica o anaeróbicamente.

Bacillus y *Paenibacillus*

Una lista de representantes del grupo *Bacillus* se muestra en la **Tabla 16.5**. Las especies de *Bacillus* y de *Paenibacillus* crecen bien en medios definidos que contengan alguna de una serie determinada de fuentes de carbono. Muchos *Bacillus* producen enzimas hidrolíticas extracelulares que degradan polímeros complejos tales como polisacáridos (Figura 21.37), ácidos nucleicos y lípidos, permitiendo a estos organismos utilizar dichos productos como fuentes de carbono y como donadores de electrones. Muchos *Bacillus* producen antibióticos, incluyendo bacitracina, polimixinas, tirocidina, gramicidina y circulina. En la mayoría de los casos estos antibióticos se liberan durante la esporulación, cuando el cultivo entra en fase estacionaria de crecimiento y una vez que está comprometido a la esporulación.

www.medi

Tabla 16.4 Grandes géneros de bacterias formadoras de endosporas[a]

Características	*Géneros*
Bacilos	
Aeróbicos y facultativos, produce catalasa	*Bacillus*
	Paenibacillus
Microaerofílicos, sin catalasa; homofermentadores del A. láctico	*Sporolactobacillus*
Anaerobios:	
Reductores de azufre	*Desulfotomaculum*
No reducen azufre, fermentativos	*Clostridium* (*véase* Figura 16.5)
Termófilos, temperatura óptima 65-70 °C, fermentativos	*Thermoanaerobacter*
Gramnegativos; pueden crecer como homoacetógenos en $H_2 + CO_2$	*Sporomusa*
Halófilos, aislados del Mar Muerto	*Sporohalobacter*
Producen hasta cinco esporas por célula; fijan N_2	*Anaerobacter*
Otros bacilos formadores de endosporas	
Acidófilos, pH óptimo 3	*Alicyclobacillus*
Alcalófilos, pH óptimo 9	*Amphibacillus*
Fotótrofos	*Heliobacterium, Heliophilum, Heliorestis*
Sintróficos, degradan ácidos grasos pero sólo co-cultivados con una bacteria que utilice H_2 (Sección 21.5)	*Syntrophospora*
Declora de forma reductiva clorofenoles (Sección 21.12)	*Desulfitobacterium*
Cocos (habitualmente organizados en tétradas o paquetes), aerobios	
	Sporosarcina (*véase* Figura 16.7)

[a] Filogenéticamente todos estos organismos son miembros de la subdivisión de bajo GC de bacterias grampositivas.

www.medilibros.com

(a) (b) (c)

Figura 16.5 Especies de *Clostridium* y localización de las endosporas. Cada célula mide aproximadamente 0,9 μm de ancho. *(b) Clostridium sporogenes*, endosporas subterminales. Cada célula mide aproximadamente 1 μm de ancho. *(c) Clostridium bifermentans*, endosporas centrales. Todas las microfotografías son de contraste de fase. Cada célula mide aproximadamente 1,2 μm de ancho.

Diversos *Bacillus* y más notablemente *Paenibacillus popilliae* y *B. thuringiensis,* producen larvicidas de insectos. *P. popilliae* causa una enfermedad mortal, denominada enfermedad lechosa, en las larvas del escarabajo japonés y en larvas de otros escarabajos relacionados de la familia *Scarabaeidae*. *Bacillus thuringiensis* causa una enfermedad mortal en larvas de muchos grupos distintos de insectos, aunque ciertas cepas son específicas en cuanto al hospedador que afectan. Algunas cepas son específicas de lepidópteros como el gusano de seda, el gusano de las coles, oruga de librea y la polilla gitana. Otras cepas matan dípteros como mosquitos o moscas negras. Hay otras que matan coleópteros como los escarabajos de la patata de Colorado. También se han descubierto cepas de *B. thuringiensis* que resultan tóxicas para el escarabajo japonés. Existen preparaciones comerciales de endosporas de *B. thuringiensis* y de *P. popilliae* para su uso como insecticidas biológicos.

La enfermedad producida por *P. popilliae* es una septicemia, mientras que la enfermedad causada por *B. thuringiensis* es básicamente una intoxicación. Estos dos patógenos de insectos producen una proteína cristalina durante la esporulación, que se denomina el cuerpo paraesporal y que se deposita dentro del esporangio pero fuera de la endospora en sí (**Figura 16.6**). En *B. thuringiensis* el cuerpo paraesporal es una protoxina que se transforma en toxina mediante rotura proteolítica en el intestino larval. La toxina se une a las células del epitelio intestinal e induce la formación de poros que provocan la pérdida de citoplasma de las células hospedadoras, resultando en la lisis celular.

Se han aislado los genes que codifican las proteínas cristalinas de diversas cepas de *B. thuringiensis*. Los genes que codifican la proteína cristalina de *B. thuringiensis* (conocida comercialmente como «toxina Bt») han sido introducidos en plantas para volverlas «naturalmente» resistentes a los insectos. También se han desarrollado mediante ingeniería genética toxinas Bt alteradas genéticamente para incrementar su toxicidad y reducir el desarrollo de resistencia (Sección 26.10).

Tabla 16.5 Características de especies representativas de bacilos

Características	*Género/especie*	*Posición de la endospora*
I. Endosporas ovales o cilíndricas, anaeróbios facultativos, hidrolizan caseína y almidón; esporangios no hinchados, pared de la endospora fina		
Termófilos y acidófilos	*Bacillus coagulans*	Central o terminal
	Alicyclobacillus acidocaldarius	Terminal
Mesófilos	*Bacillus licheniformis*	Central
	Bacillus cereus	Central
	Bacillus anthracis	Central
	Bacillus megaterium	Central
	Bacillus subtilis	Central
Patógenos de insectos	*Bacillus thuringiensis*	Central
Esporangios claramente hinchados, pared de la espora gruesa		
Termófilos	*Geobacillus stearothermophilus*	Terminal
Mesófilos	*Paenibacillus polymyxa*	Terminal
	Bacillus macerans	Terminal
	Bacillus circulans	Central o terminal
Patógenos de insectos	*Paenibacillus larvae*	Central o terminal
	Paenibacillus popilliae	Central
II. Endosporas esféricas, aerobios estrictos, no hidrolizan caseína ni almidón		
Esporangios hinchados	*Bacillus sphaericus*	Terminal
Esporangios no hinchados	*Sporosarcina pasteurii*	Terminal

www.medilibros.com

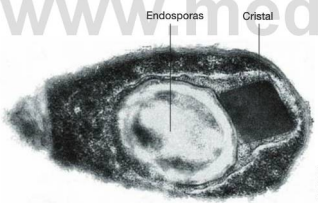


Figura 16.6 El cristal paraesporal tóxico en el patógeno de insectos *Bacillus thuringiensis*. Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina de la célula esporulando. La proteína cristalina (toxina Bt) es tóxica para ciertos insectos al causar la lisis de sus células intestinales.

Clostridium

Los *Clostridium* carecen de cadena respiratoria; en contraposición a las especies de *Bacillus*, obtienen su ATP exclusivamente mediante fosforilación a nivel de sustrato. Se conocen numerosos mecanismos anaerobios de producción de energía en *Clostridium* (las fermentaciones clostridiales se comentan en la Sección 21.3). De hecho, la división del género *Clostridium* en subgrupos se basa fundamentalmente en estas propiedades y en el sustrato fermentable utilizado (**Tabla 16.6**).

Algunos *Clostridium* fermentan azúcares, produciendo ácido butírico como principal producto final. Algunos también producen acetona y butanol y hubo un tiempo en el que la fermentación clostridial para producir acetona-butanol tuvo relevancia industrial como la principal fuente industrial de dichos productos. Algunos de los *Clostridium* que producen acetona-butanol pueden fijar nitrógeno. El fijador de N_2 más potente es *Clostridium pasteurianum*, que probablemente es el responsable de la mayoría de la fijación anaeróbica de nitrógeno en el suelo. Un grupo de *Clostridium* fermenta celulosa produciendo ácidos y alcoholes y probablemente estos sean los organismos responsables de la mayoría de la descomposición anaeróbica de celulosa en el suelo.

Otro grupo de *Clostridium* obtiene su energía de la fermentación de aminoácidos. Algunas especies fermentan aminoácidos individuales, mientras que otras sólo fermentan parejas de aminoácidos. Los aminoácidos que pueden fermentarse individualmente son alanina, cisteína, glutamato, glicina, histidina, serina y treonina. Los productos de fermentación son normalmente acetato, butirato, CO_2 y H_2. Al catabolismo enlazado de una mezcla de aminoácidos se le conoce como la **reacción de Stickland**; por ejemplo *Clostridium sporogenes* enlaza el uso de glicina y de alanina. En la reacción de Stickland un aminoácido ejerce de donante de electrones y se oxida, mientras que el otro ejerce de aceptor de electrones y se reduce (Figura 21.7). Muchos de los productos de la fermentación de aminoácidos por *Clostridium* son substancias malolientes y el olor resultante de la putrefacción es

Tabla 16.6 Características de algunos grupos de clostridios

Características clave	*Otras características*	*Especie*
I. Fermentan carbohidratos		
Fermentan celulosa	Productos de fermentación: acetato, lactato, succinato, etanol, CO_2, H_2	*C. cellobioparum** *C. thermocellum*
Fermentan azúcares, almidón y pectina; algunos fermentan celulosa	Productos de fermentación: acetona, butanol, etanol, isopropanol, butirato, acetato, propionato, succinato, CO_2, H_2; algunos fijan N_2	*C. butyricum* *C. cellobioparum* *C. acetobutylicum* *C. pasteurianum* *C. perfringens*
Fermentan azúcares principalmente a ácido acético	Síntesis total de acetato a partir de CO_2; citocromos presente en algunas especies	*C. aceticum* *Moorella thermoacetica* *C. formicaceticum*
Fermenta sólo pentosas o metilpentosas	Células con forma de anillo, cadenas helicoidales; productos de la fermentación: acetato, propionato, n-propanol, CO_2, H_2	*C. methylpentosum*
II. Fermentan aminoácidos	Productos de fermentación: acetato, otros ácidos grasos, NH_3, CO_2, a veces H_2; algunos también fermentan azúcares a butirato y acetato; pueden producir exotoxinas (Secciones 28.8, 28.10 y 37.5)	*C. sporogenes* *C. histolyticum* *C. putrefaciens* *C. tetani* *C. botulinum* *C. tetanomorphum*
	Fermenta aminoácidos de tres carbonos (por ejemplo, alanina) a propionato, acetato y CO_2	*C. propionicum*
III. Fermenta carbohidratos o aminoácidos	Productos de la fermentación a partir de glucosa: acetato, fórmico, pequeñas cantidades de isobutirato e isovalerato	*C. bifermentans*
IV. Fermentadores de purinas	Fermenta ácido úrico y otras purinass, dando lugar a acetato, CO_2, NH_3	*C. acidurici*
V. Fermentación de etanol a ácidos grasos	Produce butirato, caproato y H_2; requiere acetato como aceptor de electrones; no utiliza azúcares, aminoácidos o purinas	*C. kluyveri*

* Todos los listados que comienzan con «C.» son especies del género *Clostridium*.

www.marbros.com

resultado principalmente de la acción clostridial. Además de ácido butírico, otros compuestos malolientes que se producen son el ácido isobutírico, ácido isovalérico, ácido caproico, sulfuro de hidrógeno, metilmercaptano (de aminoácidos azufrados), cadaverina (de la lisina), putrescina (de la ornitina) y amoníaco.

El hábitat principal de los *Clostridium* es el suelo, donde viven fundamentalmente en «bolsillos» carentes de oxígeno como resultado de la metabolización de compuestos orgánicos por parte de organismos aerobios facultativos. Además, una serie de *Clostridium* habita en ambiente anaerobio del tracto intestinal de los mamíferos. Diversos *Clostridium* son capaces, en circunstancias muy específicas, de producir graves enfermedades en humanos, como se analizó en la Sección 28.10. El botulismo está producido por *Clostridium botulinum*, el tétanos por *Clostridium tetani* y la gangrena gaseosa por *Clostridium perfringens* y algunos otros *Clostridium*, tanto fermentadores de azúcar como de aminoácidos. Estos *Clostridium* patógenos no presentan características metabólicas fuera de lo común, pero se diferencian en su capacidad de producir toxinas específicas o, en aquellos que causan la gangrena gaseosa, un conjunto de toxinas. *C. perfringens* y especies relacionadas también pueden provocar gastroenteritis en humanos y animales domésticos (Sección 37.6) y el botulismo también se da en ovejas, patos y otros animales. Una importante pregunta ecológica sin resolver es qué papel tienen estas potentes toxinas en el suelo, que es el hábitat natural de estos organismos.

Sporosarcina

El género *Sporosarcina* es único entre los formadores de endosporas porque sus células son cocos en lugar de bacilos. *Sporosarcina* comprende células aerobias estrictas de forma entre oval y esférica que se dividen en dos o tres planos perpendiculares para formar tétradas o paquetes de ocho o más células (**Figura 16.7**). La especie principal es *Sporosarcina ureae*. Este organismo (Figura 16.7) puede aislarse a partir de muestras de suelo sembrado en placa diluciones de muestras pasteurizadas en un agar nutritivo alcalino suplementado con un 8% de urea e incubado al aire. La mayoría de las bacterias del suelo se inhiben fuertemente con tan sólo un 2% de urea. Sin embrago, *S. ureae* descompone activamente incluso niveles altos de urea hasta CO_2 y NH_3, subiendo el pH de mane-

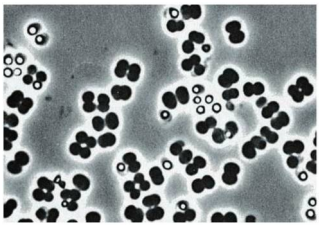


Figura 16.7 ***Sporosarcina ureae.*** Microfotografía de contraste de fase. Cada célula mide aproximadamente 2 μm de ancho. Observe la brillante refracción de las endosporas. La mayoría de los paquetes contienen ocho células.

ra dramática. *Sporosarcina ureae* es notablemente resistente a la alcalinidad y puede crecer en medio de hasta pH 10. Esta característica puede aprovecharse para su enriquecimiento a partir de muestras de suelo.

Sporosarcina ureae es muy común en suelos y el análisis de su distribución sugiere que el número de *S. ureae* es mayor en suelos que reciben una entrada de orina (una fuente de urea), como por ejemplo suelos donde suelen orinar animales. Como muchos microorganismos del suelo son sensibles a la urea, este dato sugiere que *S. ureae* tiene relevancia ecológica en la naturaleza como un importante degradador de urea.

Heliobacterias

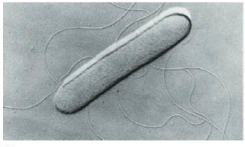
Las heliobacterias son bacterias grampositivas fotótrofas. Las **heliobacterias** son fototrofos anoxigénicos que producen una forma exclusiva de bacteriocloro fila, la bacteriocloro fila *g* (Sección 20.2). Este grupo comprende cuatro géneros: *Heliobacterium*, *Heliophilum*, *Heliorestis* y *Heliobacillus*. Morfológicamente todas las heliobacterias conocidas son bacilos, largos o cortos y frecuentemente con extremos puntiagudos (**Figura 16.8**). *Heliophilum* es interesante morfológicamente porque sus células en forma de bacilo se agrupan en puñados (Figura 16.8*b*) que se mueven como una unidad.

Las heliobacterias son anaerobios estrictos, pero además de su crecimiento fotótrofo anaerobio también pueden crecer quimiolitotróficamente en la oscuridad realizando fermentación para producir piruvato (como tantos *Clostridium*, parientes cercanos de las Heliobacterias). Las endosporas de las heliobacterias (Figura 16.8*c*), al igual que las de las especies de *Bacillus* o de *Clostridium*, contienen altos niveles de Ca^{2+} y la molécula característica de la endospora, el ácido dipicolínico (Sección 4.12). Las heliobacterias residen en el suelo, especialmente en campos de arrozal, donde su actividad como fijadores de N_2– puede beneficiar la producción de arroz. También se han encontrado una gran diversidad de heliobacterias en ambientes muy alcalinos, como en lagos alcalinos y en los suelos alcalinos circundantes.

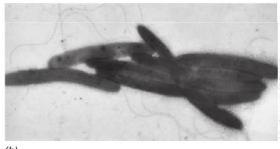
16.1-16.2 Minirrevisión

Las bacterias grampositivas (Firmicutes), que se agrupaban antiguamente en la subdivisión de bajo GC, son un grupo grande y relacionado filogenéticamente que incluye bacilos y cocos, con especies formadoras y no formadoras de esporas. La producción de endosporas es un sello distintivo de los géneros clave *Bacillus* y *Clostridium*. Las bacterias grampositivas son importantes agentes de degradación de materia orgánica en los suelos y algunas especies son patógenas.

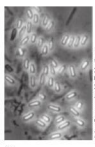
- ¿Cuáles son las principales características que diferencian a *Staphylococcus* de *Bacillus*?
- ¿Cómo distinguiría entre una bacteria del ácido láctico heterofermentativa y otra homofermentativa?
- ¿Cuál es la principal diferencia fisiológica entre las especies de *Bacillus* y las de *Clostridium*?
- De entre los géneros formadores de endosporas, ¿qué caracteriza a las heliobacterias?



(a)



(b)



(c)

Figura 16.8 **Células y endosporas de heliobacterias.** *(a)* Microfotografía con el microscopio electrónico de *Heliobacillus mobilis*, una especie con flagelos peritricos. *(b)* Grupos de *Heliophilum fasciatum* vistos con el microscopio electrónico. *(c)* Microfotografía de contraste de fase de endosporas de *Heliobacterium gestii*.

16.3 Bacterias grampositivas que carecen de pared: los Micoplasmas

Géneros clave: *Mycoplasma, Spiroplasma*

Los micoplasmas son procariotas inusuales en tanto que carecen de paredes celulares y se cuentan entre los más pequeños organismos capaces de crecimiento autónomo. También presentan un interés evolutivo especial debido a su sencilla estructura celular y a sus pequeños genomas. Aunque no se tiñen como grampositivas (porque no tienen pared celular), los micoplasmas están emparentados filogenéticamente a las bacterias grampositivas tanto no esporulantes como formadoras de endosporas. Son organismos que probablemente tuvieron pared celular pero dejaron de necesitarla debido a sus hábitats tan especiales. Los micoplasmas son parásitos y habitan en hospedadores animales y vegetales.

Propiedades de los micoplasmas

La carencia de pared celular en los micoplasmas es fácilmente observable con el microscopio electrónico. La ausencia de pared ha sido confirmada mediante análisis químico, que demuestra la ausencia de componentes clave de la pared como el peptidoglicano, el ácido murámico y el ácido diaminopimélico. En la Sección 4.6 analizamos las paredes celulares y cómo se pueden formar protoplastos cuando se trata a las células en un medio protegido osmóticamente. Cuando se retira el estabilizador osmótico, los protoplastos toman agua, se hinchan y explotan (Figura 4.21). Los micoplasmas parecen protoplastos, pero son más resistentes a la lisis osmótica y son capaces de sobrevivir a condiciones que provocan la lisis de los protoplastos. Su capacidad para evitar la lisis osmótica está al menos parcialmente basada en la presencia de esteroles (Sección 4.3), que hacen que las membranas citoplásmicas de los micoplasmas sean más estables que las de otras bacterias. De hecho, algunos micoplasmas necesitan esteroles en su medio de cultivo y esta necesidad es la base para dividir a los micoplasmas en dos grupos (**Tabla 16.7**).

Además de esteroles, ciertos micoplasmas tienen compuestos denominados *lipoglicanos* (Tabla 16.7). Los lipoglicanos son heteropolisacáridos de cadena larga unidos covalentemente a lípidos de membrana e insertados en la membrana citoplasmática de muchos micoplasmas. Los lipoglicanos se parecen a los lipopolisacáridos de las bacterias gramnegativas (Sección 4.7) excepto en que carecen del lípido A que sirve de base y el fosfato típico de los lipopolisacáridos bacterianos. Los lipoglicanos también ayudan a estabilizar la membrana citoplasmática y se ha descubierto que también facilitan la adhesión de los micoplasmas a los receptores de la superficie celular de las células animales. Al igual que los lipopolisacáridos, los lipoglicanos también inducen la producción de anticuerpos cuando son inyectados en animales de experimentación.

Crecimiento de los micoplasmas

Las células de los micoplasmas son pequeñas y pleomórficas. Un mismo cultivo puede presentar morfologías pequeñas y cocoidales, morfologías mayores e hinchadas e incluso morfologías filamentosas y a menudo muy ramificadas (**Figura 16.9**). Los elementos pequeños de morfología cocoidal (0,2-0,3 μm) son las menores unidades de micoplasma capaces de crecimiento independiente. Derivados de estas células con diámetros cercanos a 0,1 μm pueden verse ocasionalmente en cultivos de micoplasmas, pero no son viables. Incluso así, las unidades

Tabla 16.7 Características principales de micoplasmas

Género	*Propiedades*	*Tamaño del genoma (kilopares de bases)*	*Presencia de lipoglicanos*
Requieren esteroles			
Mycoplasma	Muchos son patogénos; anaerobios facultativos (*véase* Figura 16.9)	600-1350	+
Anaeroplasma	Pueden requerir esteroles o no; anaerobios estrictos; degradan almidón, produciendo ácido acético, ácido láctico y ácido fórmico más etanol y CO_2; se inhiben por acetato de talio; se encuentran en el rumen de vacas y ovejas	1500-1600	+
Spiroplasma	Células espirales; asociadas con varias condiciones fitopatogénicas (enfermedades de plantas) (*véase* Figura 16.11)	940-2200	−
Ureaplasma	Cocos; asociados ocasionalmente en grupos y cadenas cortas; crecimiento óptimo a pH 6; reacción ureasa fuerte; asociados a ciertas infecciones urinarias en humanos; se inhiben por acetato de talio	750	−
Entomoplasma	Anaerobio facultativo; asociados con insectos y plantas	790-1140	?
No requieren esteroles			
Acholeplasma	Anaerobios facultativos	1500	+
Asteroleplasma	Anaerobio estricto; aislados de rumen de vacas y ovejas	1500	+
Mesoplasma	Filogenéticamente y ecológicamente relacionados con *Entomoplasma*	870-1100	?

Figura 16.9 ***Mycoplasma mycoides.*** Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión. Obsérvese los elementos cocoidales y en forma de hifa. El diámetro medio de las células que forman las cadenas es de aproximadamente 0,5 μm.

Figura 16.10 **Típico aspecto de «huevo frito» de las colonias de micoplasmas crecidas en medio sólido.** Las colonias tienen aproximadamente 0,5 mm de diámetro.

reproductivas mínimas de 0,2-0,3 μm representan probablemente las más pequeñas células de vida libre (Sección 4.2).

Los genomas de los micoplasmas son también menores que los de otras bacterias, en la mayoría de los casos de entre 500 y 1.100 kpb de DNA (Tabla 16.7). Esto es comparable al tamaño del genoma de los parásitos intracelulares estrictos *Chlamydia* y *Rickettsia* y aproximadamente entre una quinta y una cuarta parte del de *Escherichia coli*. Por ejemplo, el genoma de *Mycoplasma genitalium* tiene sólo 580 kpb (Sección 13.2). Cuando el genoma de *M. genitalium* se secuenció en 1995 su muy pequeño tamaño se consideró cerca del límite mínimo para que una célula fuera capaz de llevar a cabo los procesos necesarios para la vida. Sin embargo, desde entonces se han encontrado varios genomas procariotas aún más pequeños, algunos radicalmente menores (Sección 13.2).

La forma de crecimiento de los micoplasmas es distinta según estén en cultivo líquido o sólido. En agar estos organismos tienden a crecer de tal modo que quedan incrustados en el medio. Estas colonias presentan el típico aspecto de «huevo frito»: un núcleo central denso que penetra en el agar, rodeado de un área circular extendida de color más claro (**Figura 16.10**). Como es de esperar en células que carecen de pared celular, el crecimiento de los micoplasmas no se inhibe por la penicilina, vancomicina, u otros antibióticos que inhiben la síntesis de dicha pared. Sin embargo los micoplasmas son tan sensibles como cualquier bacteria a antibióticos cuyos objetivos no sean la pared celular.

El medio de crecimiento para micoplasmas es normalmente bastante complejo. Muchas especies no pueden crecer o crecen muy poco, incluso en medios complejos con extracto de levadura, peptona e infusión de corazón bovino. También se necesita suero fresco o fluido ascítico (fluidos peritoneales) para proporcionar ácidos grasos insaturados y esteroles. Sin embargo otros micoplasmas pueden cultivarse en medios de cultivo relativamente sencillos y se han desarrollado medios definidos para ciertas especies. La mayoría de los micoplasmas emplean carbohidratos como fuente de carbono y energía y necesitan vitaminas, aminoácidos, purinas y pirimidinas como factores de crecimiento. El metabolismo de la energía de los micoplasmas es variable y mientras algunas especies son estrictamente aerobias, otras son aerobias facultativas o incluos anaerobias estrictas (Tabla 16.7).

Spiroplasma

El género *Spiroplasma* está formado por células sin pared, helicoidales o con forma espiral. Aunque carecen de pared celular y de flagelos, son móviles por medio de un movimiento rotatorio de giro o de un lento movimiento ondulatorio. Se han descubierto unas fibrillas intracelulares que se creen implicadas en este tipo de motilidad. Este organismo se ha aislado de garrapatas, de la hemolinfa (**Figura 16.11**) y del intestino de insectos, del fluido vascular de plantas y de insectos que se alimentan de dicho fluido y de la superficie de flores y otro material vegetal.

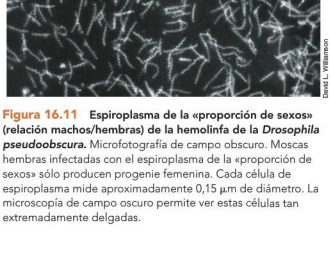


Figura 16.11 **Espiroplasma de la «proporción de sexos» (relación machos/hembras) de la hemolinfa de la *Drosophila pseudoobscura*.** Microfotografía de campo obscuro. Moscas hembras infectadas con el espiroplasma de la «proporción de sexos» sólo producen progenie femenina. Cada célula de espiroplasma mide aproximadamente 0,15 μm de diámetro. La microscopía de campo oscuro permite ver estas células tan extremadamente delgadas.

Spiroplasma citri se ha aislado de hojas de cítricos, donde causa la enfermedad pertinaz de los cítricos y también de plantas de maíz afectadas de la enfermedad del achaparramiento del maíz. Mediante el uso del microscopio electrónico se han detectado en plantas enfermas una serie de elementos similares a los micoplasmas, lo que indica que podría existir un gran grupo de micoplasmas asociados a plantas. Se sabe que algunas especies de *Spiroplasma* pueden causar enfermedades en insectos, como la espiroplasmosis de la abeja melífera y la enfermedad del letargo del escarabajo *Melolontha*.

16.3 Minirrevisión

El grupo de los micoplasmas incluye organismos que carecen de pared celular y que tienen un genoma muy pequeño. Muchas especies necesitan esteroles para reforzar sus membranas citoplasmáticas y varios de ellos son patógenos de humanos, otros animales y de plantas.

- ¿Por qué necesitan los micoplasmas membranas citoplasmáticas más fuertes que las de otras bacterias?
- ¿Dónde se agrupan filogenéticamente los micoplasmas?
- ¿Por qué no pueden tener los espiroplasmas móviles un flagelo bacteriano normal?

www.mmedi

16.4 Actinobacterias: corineformes y Bacterias del ácido propiónico

Géneros clave: *Corynebacterium, Arthrobacter, Propionibacterium*

El segundo grupo principal de las bacterias grampositivas son las actinobacterias, denominadas previamente bacterias grampositivas de alto GC y forman su propio filum. Es un grupo muy grande, que comprende más de 30 familias taxonómicas de organismos (Sección 14.14). Las especies de actinobacterias son normalmente bacilos o filamentos, principalmente aerobias y se encuentran habitualmente en suelos y material vegetal. En su mayoría son comensales inofensivos, con la notable excepción de las especies de *Mycobacterium* (como por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis*). Algunas tienen un gran valor económico como productoras de antibióticos o de ciertos productos fermentados derivados de la leche. Comenzaremos con los representantes de morfología bacilar.

Corinebacterias

Las bacterias corineformes son bacilos grampositivos, aerobios y carentes de movilidad, que presentan la característica de formar durante su proceso normal de crecimiento agrupaciones de forma irregular, en forma de garrote o en forma de V. Los grupos celulares en forma de V surgen como resultado de un movimiento de resorte que se produce justo después de la división celular (denominado movimiento de resorte postfisión o, sencillamente, división por fractura) (**Figura 16.12**). La división por fractura se produce porque la pared celular está formada por dos capas; tan sólo la capa interna participa en la formación del septo y por tanto después de formarse el septo las dos células hijas siguen unidas por la capa externa de la pared celular. La ruptura localizada de esta capa externa en uno de los lados da lugar a una torsión de las dos células en sentido contrario al lado roto (**Figura 16.13**) y por tanto al desarrollo de la morfología en V.

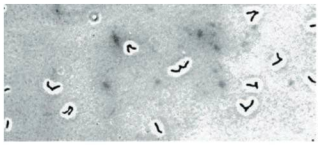


Figura 16.12 División por fractura en *Arthrobacter*. Microfotografía de contraste de fase de los grupos celulares con la característica forma de V en *Arthrobacter crystallopoietes* que se generan por división por fractura. Las células miden aproximadamente 0,9 μm de diámetro.

Los géneros principales de bacterias corineformes son *Corynebacterium* y *Arthrobacter*. El género *Corynebacterium* constituye un grupo extremadamente variado de bacterias, que incluye patógenos de animales y plantas y saprófitos. Algunas especies como *Corynebacterium diphtheriae* son patógenos (difteria, Sección 34.3). El género *Arthrobacter*, que está compuesto fundamentalmente por organismos del suelo, se diferencia de *Corynebacterium* en base a su ciclo de desarrollo que implica la transformación de bacilo a coco y de vuelta a bacilo (**Figura 16.14**). Sin embargo, algunas corinebacterias son pleomórficas y forman células cocoidales durante el crecimiento y por tanto la distinción entre ambos géneros en base a su ciclo de vida no es incuestionable. Es frecuente que las células de *Corynebacterium* tengan un extremo hinchado, de manera que tienen aspecto de garrote (de ahí el nombre del género: *koryne* es la palabra griega para «garrote»), mientras que las especies de *Arthrobacter* no suelen tener este aspecto.

Las especies de *Arthrobacter* se cuentan entre las bacterias del suelo más comunes. Son extraordinariamente resistentes a la desecación y a la falta de nutrientes, pese a no formar esporas u otras formas de resistencia. Los *Arthrobacter* componen un grupo heterogéneo con considerable versatilidad nutricional, habiéndose aislado cepas que descomponen herbicidas, cafeína, nicotina, fenoles y otros compuestos orgánicos inusuales.

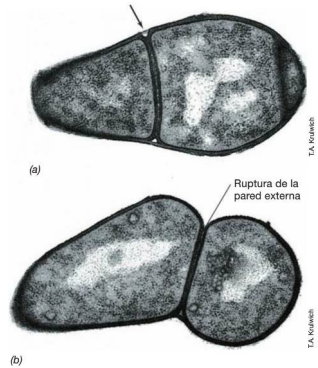


Figura 16.13 **División celular en *Arthrobacter*.** Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de la división celular de *Arthrobacter crystallopoietes*, que muestra cómo se produce la división por fractura y cómo surgen los grupos celulares en forma de V. *(a)* Antes de la ruptura de la capa externa de la pared celular (flecha). *(b)* Después de la ruptura de la capa externa en uno de los lados. Las células miden 0,9-1 μm de diámetro.

Bacterias del ácido propiónico

Las bacterias del ácido propiónico (género *Propionibacterium*) fueron descubiertas por primera vez en queso suizo (Emmental), al que producen los agujeros característicos mediante la producción de CO_2 por fermentación. Lo que es más, el ácido propiónico que producen es al menos parcialmente responsable del sabor único de dicho queso. Aunque algunas otras bacterias pueden producir este ácido, su producción en grandes cantidades es una característica diferencial del género de las bacterias del ácido propiónico. Las bacterias en este grupo son anaerobias grampositivas que fermentan el ácido láctico, carbohidratos y polihidroxialcoholes, generando principalmente ácido propiónico, ácido acético y CO_2 (Sección 21.3 y Figura 21.8). Sus necesidades nutricionales son complejas y normalmente crecen bastante lentamente.

La fermentación anaerobia del ácido láctico hasta propionato tiene interés porque el propio ácido láctico es el producto final de fermentación en muchas bacterias (Sección 16.1). El cultivo iniciador en la producción del queso suizo está compuesto por una mezcla de estreptococos y lactobacilos homofermentativos, además de bacterias del ácido propiónico. Los organismos homofermentativos llevan a cabo la fermentación inicial de la lactosa hasta ácido láctico durante la formación del cuajo (proteína y grasa). Una vez que el cuajo se ha escurrido, las bacterias del ácido propiónico se desarrollan rápidamente. Los ojos (o agujeros) característicos del queso suizo se forman por acumulación de CO_2, cuando el gas se difunde a través del cuajo y se acumula en los puntos más débiles. En la fermentación el lactato se oxida hasta piruvato, que luego es transformado en propionato (Figura 21.8). De este modo las bacterias del ácido propiónico son capaces de obtener energía anaeróbicamente empleando el producto final de la fermentación llevada a cabo por otras bacterias. Esta estrategia metabólica se denomina fermentación secundaria.

El propionato también se forma durante la fermentación del succinato por la bacteria *Propionigenium*. Este organismo no está relacionado con *Propionibacterium*, ni ecológica ni filogenéticamente, pero algunos aspectos energéticos de su fermentación revisten considerable interés. Analizaremos el mecanismo de la fermentación de *Propionigenium* en la Sección 21.4.

16.5 Actinobacterias: *Mycobacterium*

Géneros clave: *Mycobacterium*

El género *Mycobacterium* está formado por bacilos que en cierto momento de su ciclo de vida tienen la propiedad de ser **ácido alcohol resistentes** (AAR). Esta propiedad se debe a la presencia en la superficie de la micobacteria de unos lípidos característicos denominados ácidos micólicos, que tan sólo están presentes en el género *Mycobacterium*. Descubierta por primera vez por Robert Koch

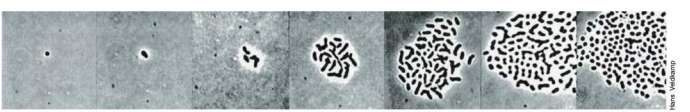


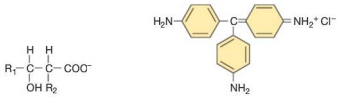
Figura 16.14 **Estadios en el ciclo de vida de *Arthrobacter globiformis* observados en un cultivo sobre portaobjetos.** *(a)* elemento cocoidal individual; *(b-e)* transformación a bacilo y crecimiento de una microcolonia compuesta predominantemente por bacilos; *(f-g)* transformación de bacilos a cocos. Las células miden aproximadamente 0,9 μm de diámetro.

durante sus pioneras investigaciones sobre la tuberculosis (Sección 1.8), la tinción ácido alcohol resistente permitió la identificación del organismo en lesiones tuberculosas. Posteriormente se ha mostrado muy útil taxonómicamente para definir el género *Mycobacterium*.

Tinción ácido alcohol resistente (Ziehl-Neelsen)

Para la tinción ácido alcohol resistente de Ziehl-Neelsen se emplea una mezcla del colorante básico fucsina y fenol. La tinción entra en las células mediante el lento calentamiento del portaobjetos con el frotis celular durante 2-3 min hasta que se produzcan vapores. La función del fenol es mejorar la penetración de la fucsina en los lípidos. Tras lavar con agua destilada, la preparación se decolora con ácido-alcohol. Después de un nuevo lavado, se aplica una tinción final con azul de metileno. Los organismos AAR se ven rojos en la preparación final, mientras que el fondo y los organismos que no son AAR se ven azules (Figura 34.9).

Como se ha comentado, el elemento esencial para que se produzca este peculiar comportamiento es el ácido micólico. Esta substancia de hecho es un grupo de hidroxilípidos de cadena ramificada (la estructura general se muestra en la **Figura 16.15a**). En la tinción ácido alcohol resistente el grupo de ácido carboxílico del ácido micólico reacciona con el colorante fucsina (Figura 16.15*b*). El ácido micólico está unido covalentemente al peptidoglicano de la pared celular de la micobacteria y este complejo confiere a la superficie celular una consistencia hidrofóbica, cerosa. Las micobacterias no se tiñen fácilmente mediante la tinción de Gram debido al alto contenido lipídico en su superficie. Sin embargo, si se elimina la fracción lipídica de la célula usando etanol alcalino, la célula permanece intacta pero se vuelve grampositiva y deja de ser AAR.



(a) Ácido micólico; R_1 y R_2 son hidrocarburos alifáticos de cadena larga

(b) Fucsina básica

Figura 16.15 Tinción ácido alcohol resistente. Estructura de *(a)* ácido micólico y *(b)* fucsina básica, el colorante utilizado en la tinción ácido alcohol resistente. El colorante fucsina se une al ácido micólico mediante enlaces iónicos entre COO^- y NH_2^+.

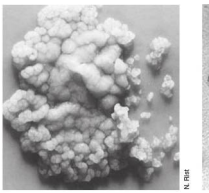
Características de las micobacterias

Las micobacterias son un tanto pleomórficas y pueden desarrollar ramificaciones o filamentación. Sin embargo y en contraposición con los filamentos de los actinomicetos (Sección 16.6), los filamentos de las micobacterias se fragmentan en bacilos o elementos cocoidales a la mínima alteración; no se forma un auténtico micelio. En general, las micobacterias pueden dividirse en dos grupos principales, de crecimiento rápido y de crecimiento lento (**Tabla 16.8**). *Mycobacterium tuberculosis* es un ejemplo típico de micobacteria de crecimiento lento, de modo que partiendo de un inóculo diluido no se obtienen colonias visibles hasta días o incluso semanas de incubación (Koch fue el primero en cultivar con éxito *M. tuberculosis* porque esperó el tiempo suficiente después de inocular el medio; Sección 1.8). Cuando crecen en medio sólido, las micobacterias forman colonias densas, compactas y a menudo arrugadas (**Figura 16.16a**; Figura 1.16). Esta morfología de colonias se debe probablemente al alto contenido lipídico y a la naturaleza hidrofóbica de su superficie celular, lo que hace que las células se peguen unas a otras.

En su mayor parte las micobacterias tienen necesidades nutricionales relativamente sencillas. Pueden crecer en un sencillo medio con sales minerales con amonio como fuente de nitrógeno y glicerol o acetato como única fuente de carbono y donador de electrones e incuba-

Tabla 16.8 Algunas características de micobacterias representativas

Especies	*Crecimiento en 5% NaCl*	*Reducción de nitrato*	*Crecimiento a 45 °C*	*Patógeno humano*	*Pigmentación*
Especies de crecimiento lento					
Mycobacterium tuberculosis	−	+	−	+	Ninguno
Mycobacterium avium	−	−	−	+	Colonias viejas pigmentadas (*véase* Figura 16.16*c*)
Mycobacterium bovis	−	−	+	+	Ninguna
Mycobacterium kansasii	−	+	−	+	Fotocromogénicas
Especies de crecimiento rápido					
Mycobacterium smegmatis	+	+	+	−	Ninguno
Mycobacterium phlei	+	+	+	−	Pigmentadas
Mycobacterium chelonae	+	−	−	+	Ninguno
Mycobacterium parafortuitum	+	+	−	−	Fotocromogénicas



(a) (b) (c)

Figura 16.16 Morfología de colonia característica de micobacterias. *(a) Mycobacterium tuberculosis*, que muestra la apariencia compacta y arrugada de la colonia. La colonia mide aproximadamente 7 mm de diámetro. *(b)* Una colonia de *M. tuberculosis* virulento en un estadio temprano, que muestra el crecimiento en cordón característico. Las células miden aproximadamente 0,5 μm de diámetro. (Vea también los dibujos históricos realizados por Robert Koch, Figura 1.16). *(c)* Colonias de una cepa de *Mycobacterium avium* aislada como patógeno oportunista de un enfermo de SIDA.

das en presencia de aire. El crecimiento de *M. tuberculosis* se estimula por lípidos y ácidos grasos y a menudo se añade yema de huevo (una buena fuente de lípidos) al medio de cultivo para obtener un crecimiento más abundante. Para el aislamiento inicial de *M. tuberculosis* a partir de muestras patológicas suele emplearse un medio con glicerol y huevo entero (medio de Lowenstein-Jensen).

M. tuberculosis resiste productos químicos tales como el álcali o el fenol durante considerables períodos de tiempo, quizás gracias al elevado contenido en lípidos de su pared celular y esta característica se emplea para el aislamiento selectivo de este organismo a partir de esputos de enfermos y de otros materiales extremadamente contaminados. El esputo se trata inicialmente con 1 M NaOH durante 30 min y después se neutraliza y se siembra en placas en medio de aislamiento.

Una característica de muchas micobacterias es su capacidad para producir pigmentos carotenoides amarillos (Figura 16.16*c*). En base a su pigmentación las micobacterias pueden clasificarse en tres grupos: no pigmentadas (incluyen a *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*); aquellas que producen pigmentos sólo cuando crecen en presencia de luz, una propiedad denominada fotocromogénesis (incluyen a *Mycobacterium kansasii*, *Mycobacterium marinum*); y aquellas que producen pigmentos incluso cuando crecen en la oscuridad, una propiedad denominada escotocromogénesis (por ejemplo, *Mycobacterium gordonae*; Tabla 16.8). La fotoinducción de la producción de carotenoides necesita luz de corta longitud de onda (azul) y sólo sucede en presencia de O_2. Las pruebas indican que el suceso crítico en la fotoinducción es un evento de oxidación catalizado por la luz y parece ser que una de las primeras enzimas en la ruta de biosíntesis de carotenoides es fotoinducible. Se ha sugerido que los carotenoides protegen a las micobacterias, así como a otras bacterias productoras de carotenoides, frente al daño oxidativo producido por el oxígeno (Sección 6.18).

La virulencia de cultivos de *M. tuberculosis* se ha correlacionado con la formación de estructuras largas en forma de cordón (Figura 16.16*b*) tanto en medio sólido como líquido, generadas por la agregación de largas cadenas de bacterias, de lado a lado y entrelazadas. Este crecimiento en cordones refleja la presencia de un glicolípido característico en la superficie celular, el factor cuerda (**Figura 16.17**). En la Sección 34.5 analizaremos la patogénesis de la tuberculosis, en paralelo con la enfermedad relacionada de la lepra.

16.4-16.5 Minirrevisión

Los miembros de las Actinobacterias incluyen organismos tales como *Corynebacterium*, *Arthrobacter*, *Propionibacterium* y *Mycobacterium*. Son principalmente saprófitos inofensivos que viven en el suelo, pero *M. tuberculosis* es el agente causal de la tuberculosis. Las células de *Mycobacterium tuberculosis* tienen una cubierta celular externa cerosa que hace necesarios métodos especiales de tinción (la tinción ácido alcohol resistente) para su visualización mediante el microscopio.

- ¿Qué es la división por fractura y qué organismos la llevan a cabo?
- ¿Qué organismo participa en la producción de queso suizo y cuál es el compuesto generado por este organismo que añade sabor al queso y forma sus agujeros?
- ¿Qué es el ácido micólico, qué organismo lo produce y qué propiedades confiere a las células que lo poseen?

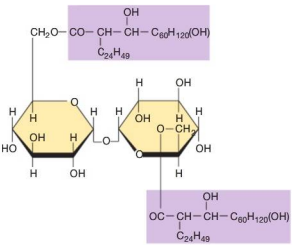


Figura 16.17 **Estructura del factor cuerda, un glicolípido de las micobacterias.** Los dos grupos dialcohol de cadena larga idénticos se muestran en morado.

16.6 *Actinobacterias* filamentosas: *Streptomyces* y organismos relacionados

Géneros clave: *Streptomyces, Actinomyces*

Los actinomicetos forman un gran grupo de bacterias grampositivas filamentosas, de filamentos ramificados. Como resultado de su crecimiento y ramificación se forma una red de filamentos ramificados, denominada micelio (**Figura 16.18**). Aunque tiene las dimensiones propias de las bacterias, este micelio es análogo al formado por los hongos filamentosos (Figura 18.26).

La mayoría de los actinomicetos forman esporas; la forma de producir esporas varía y se utiliza para subdividir las actinobacterias, tal y como se indica en la **Tabla 16.9.** En el sentido filogenético los actinomicetos forman un grupo coherente. Por tanto, la formación de micelio y esporas tiene relevancia tanto filogenética como taxonómica. Nos centraremos en el género *Streptomyces*, que es el género más importante de este grupo.

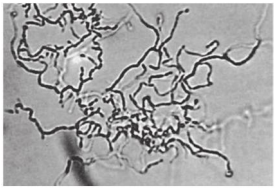


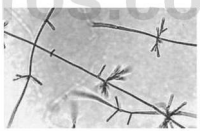
Figura 16.18 ***Nocardia.*** Una colonia joven de un actinomiceto del género *Nocardia*, que muestra la típica estructura celular filamentosa (micelio). Cada filamento mide aproximadamente 0,8-1 μm de diámetro.

Streptomyces

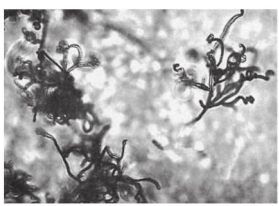
Se conocen más de 500 especies de *Streptomyces*. Los filamentos de *Streptomyces* tienen un diámetro medio de 0,5-1,0 μm, no tienen una longitud fija y suelen carecer de septos durante su fase vegetativa.

Streptomyces crece en las puntas de los filamentos, ramificándose a menudo. En consecuencia la fase vegetativa consiste en una matriz compleja y finamente entrelazada, que da lugar a un micelio compacto y retorcido, que forma la correspondiente colonia. Conforme la colonia madura se van formando filamentos aéreos característicos, denominados esporóforos, que se elevan sobre la superficie de la colonia y producen esporas (**Figura 16.19**). Las esporas de *Streptomyces*, denominadas conidios, son bastante distintas de las endosporas de *Bacillus* y *Clostridium*. En contraposición a la compleja diferenciación celular que da lugar a la endospora, las esporas de los estreptomicetos se producen mediante la formación de septos en los esporóforos multinucleados, a lo que sigue la separación como esporas de las células individuales (**Figura 16.20**).

Las diferencias entre las distintas especies en la forma y la disposición de los filamentos aéreos y de las es-



(a)



(b)

Figura 16.19 **Estructuras portadoras de esporas en actinomicetos.** Microfotografía de contraste de fase. *(a) Streptomyces*, tipo monoverticilado. *(b) Streptomyces*, tipo espiral cerrada. Los filamentos miden aproximadamente 0,8 μm de ancho en ambos tipos. Compare estas fotos con los dibujos de la Figura 16.21.

www.elibros.com

Tabla 16.9 Actinomicetos representativos y géneros de actinobacterias relacionados (todos grampositivos)[a]

Grupos principales
Grupos de bacterias corineformes: bacilos, con frecuencia con forma de mazo, morfológicamente variables; no AAR ni filamentos; división celular por fractura
Corynebacterium: segmentos irregularmente teñidos, a veces gránulos; hinchazón tipo mazo frecuente; patógenos de animales y plantas, también saprófitos del suelos
Arthrobacter: morfogénesis coco-bacilo; organismos del suelo
Cellulomonas: morfología corineforme; digiere celulosa; anaerobios facultativos
Kurthia: bacilos con extremos redondeados que aparecen en cadenas; se muestran cocos más tarde
Brevibacterium: morfogénesis coco-bacilo; queso, piel
Bacterias del ácido propiónico: anaerobios a aerotolerantes; bacilos o filamentos, ramificados
Propionibacterium: inmóviles; anaerobios a aerotolerantes; producen ácido propiónico y acético; productos lácteos (queso suizo); piel, puede ser patógeno
Eubacterium: anaerobios estrictas; producen una mezcla de ácidos orgánicos, incluyendo butírico, acético, fórmico y láctico; intestino, infecciones de tejido blando, suelo; puede ser patógenos; probablemente el miembro predominante de la flora intestinal
Anaerobios estrictos
Bifidobacterium: microcolonias lisas, no filamentan; forma celular corineforme común; se encuentra en el tracto intestinal de lactantes alimentados con leche materna
Acetobacterium: homoacetógenos; sedimentos y aguas residuales
Butyrivibrio: bacilos curvados; rumen
Thermoanaerobacter: bacilos, termófilos, se encuentran en manantiales termales
Actinomycetes: filamentosos, frecuentemente ramificados; altamente diversos
Grupo I. *Actinomicetos*: no AAR; anaerobios facultativos; no forman micelio; se pueden producir filamentos ramificados; bacilos, cocos o células corineformes
Actinomyces: anaerobio a facultativo; microcolonia filamentosa, con filamentos transitorios que se fragmentan dando células corineformes; pueden ser patogénicos en humanos u otros animales; se encuentran en la cavidad bucal
Otros géneros: *Arachnia*, *Bacterionema*, *Rothia*, *Agromyces*
Grupo II. *Micobacterias*: AAR, filamentos transitorios
Mycobacterium: patógenos, saprófitos; anaerobios estrictos; contenido lipídico elevado en células y paredes; ceras, ácido micólico; nutrición simple; crecimiento lento; tuberculosis, lepra, granulomas, tuberculosis aviar; también organismos del suelo; oxidadores de hidrocarburos
Grupo III. *Actinomicetos*: fijadores de nitrógeno simbiontes de plantas; productores de auténtico micelio
Frankia: forma nódulos de dos tipos en varias raíces de plantas; probablemente microaerófilicos; crece lento; fija N2
Grupo IV. *Actinoplanes*: productores de auténtico micelio; formadores de esporas, portadas en esporangios
Actinoplanes, Streptosporangium
Grupo V. Grupo dermatófilo: los filamentos del micelio se dividen transversalmente y en al menos dos planos, para formar masa de elementos con forma de coco y móviles; ausencia de micelio aéreo; ocasionalmente responsables de infecciones epidérmicas
Dermatophilus, Geodermatophilus
Grupo VI. *Nocardias*: filamentos del micelio comúnmente fragmentados para dar cocos o elementos elongados; esporas aéreas en ocasiones; a veces AAR; contenido lipídico muy elevado en células y paredes
Nocardia: organismos del suelo comunes; anaerobios estrictos; muchos utilizan hidrocarburos
Rhodococcus: saprófitos del suelo, también comunes en el intestino de insectos; utilizan hidrocarburos
Grupo VII. *Estreptomicetos*: el micelio permanece intacto, abundante micelio aéreo y largas cadenas de esporas
Streptomyces: Casi 500 especies reconocidas, muchas producen antibióticos
Otros géneros (diferenciados morfológicamente): *Streptoverticillium, Sporichthya, Kitasatoa*
Grupo VIII. Grupo de micromonosporas: micelio permanece intacto; esporas formadas de una en una, por pares o cadenas cortas; varias termófilas; saprófitos encontrados en el suelo, restos vegetales en descomposición; una especie produce endosporas
Micromonospora, Microbispora, Thermobispora, Thermoactinomyces, Thermomonospora

[a] Filogenéticamente todas las especies (excepto *Acetobacterium, Butyrivibrio* y *Thermoanaerobacter*) son miembros de las *Actinobacteria*.

tructuras portadoras de esporas son aspectos esenciales para la clasificación de las especies de *Streptomyces* (**Figura 16.21**). Los esporóforos y los conidios suelen estar pigmentados y conceden a la colonia madura su color característico (**Figura 16.22a**). La apariencia pulverulenta de la colonia madura, su naturaleza compacta y su color hacen relativamente sencilla la identificación de colonias de *Streptomyces* en placa (Figura 16.22*b*).

Ecología y aislamiento de *Streptomyces*

Los estreptomicetos son fundamentalmente organismos del suelo, aunque algunos se encuentren en ambientes

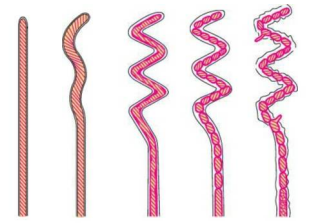


Figura 16.20 Formación de esporas en *Streptomyces*. Diagrama de los estadios de la transformación de una hifa aérea de *Streptomyces* (esporóforo) en esporas (conidios).

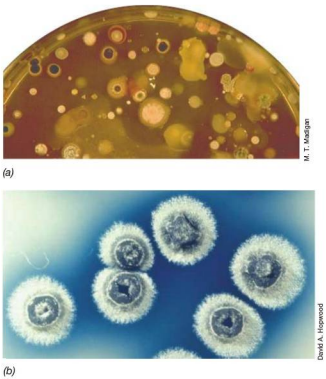


Figura 16.22 *Streptomyces*. *(a)* Colonias de *Streptomyces* y otras bacterias del suelo obtenidas al extender una dilución de tierra en una placa de medio sólido con caseína y almidón. Las colonias de *Streptomyces* tienen distintos colores (en primer plano se ven varias colonias negras de *Streptomyces*) pero pueden identificarse fácilmente por su aspecto opaco, rugoso y poco extenso. *(b)* Foto ampliada de colonias de *Streptomyces coelicolor*.

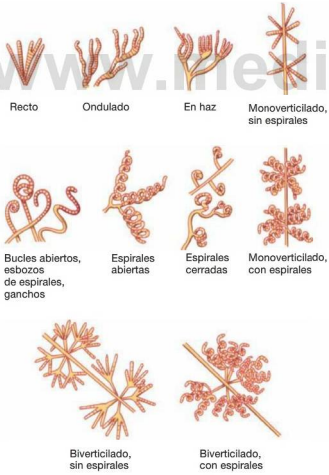
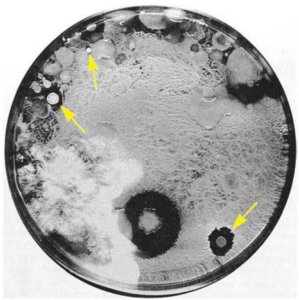


Figura 16.21 Morfología de las estructuras portadoras de esporas en estreptomicetos. Cada especie de *Streptomyces* produce un sólo tipo morfológico de estructura portadora de esporas.

acuáticos. De hecho, el característico olor a tierra se debe a la producción por parte de los estreptomicetos de una serie de metabolitos denominados geosminas. Estas substancias son compuestos sesquiterpenoides —compuestos de carbono, oxígeno e hidrógeno, con anillos insaturados. Una típica geosmina es el trans-1,10-dimetil-trans-9-decalol. Algunas cianobacterias también producen geosminas (Sección 16.7).

Los suelos alcalinos o neutros son más favorables para el desarrollo de *Streptomyces* que los suelos ácidos. Además, suele encontrarse *Streptomyces* en mayor número en suelos bien drenados donde las condiciones suelen ser aeróbicas (como margas arenosas o suelos sobre caliza), que en suelos encharcados. El aislamiento de *Streptomyces* a partir de muestras de suelo es relativamente sencillo: se diluye una suspensión de tierra en agua destilada y se plaquea en medio selectivo sólido y se incuban las placas a 25 °C (Figura 25.7). El medio selectivo para *Streptomyces* incluye sales minerales y polímeros como almidón o caseína como nutrientes orgánicos. Después de incubarse con aire durante 5-7 días, se examinan las placas en busca de colonias características de *Streptomyces* (**Figuras** 16.22 y **16.23**) y se aíslan cultivos puros re-


© Eli Lilly & Co. Used with permission.

(a)

David A. Hopwood

(b)

Figura 16.23 **Antibióticos de *Streptomyces*.** *(a)* Efecto antibiótico de microorganismos del suelo en una placa atestada. Las colonias más pequeñas rodeadas por halos de inhibición (flechas) son estreptomicetos; las colonias más grandes y extendidas son especies de *Bacillus*, algunas de las cuales también producen antibióticos. *(b)* El antibiótico de color rojo undecilprodigiosina es excretado por colonias de *Streptomyces coelicolor*.

aislando en otra placa esporas obtenidas de dichas colonias.

Los estreptomicetos son muy versátiles nutricionalmente. No suelen necesitar factores de crecimiento y pueden utilizar una amplia variedad de fuentes de carbono, como azúcares, alcoholes, ácidos orgánicos, aminoácidos y algunos compuestos aromáticos. La mayoría de los estreptomicetos producen enzimas hidrolíticas extracelulares, lo que les permite utilizar polisacáridos (almidón, celulosa y hemicelulosa), proteínas y grasas. Algunas cepas pueden utilizar hidrocarburos, lignina, taninos o incluso caucho. Un único aislado puede ser capaz de utilizar hasta 50 fuentes de carbono distintas.

Los estreptomicetos son aerobios estrictos cuyo crecimiento en medio líquido se ve muy estimulado por su aireación forzada. La esporulación no suele producirse en medio líquido, sino más bien cuando el organismo está creciendo sobre la superficie del agar o cualquier otro sustrato sólido; sin embargo la esporulación en medio líquido puede ocurrir si los organismos forman una película sobre la superficie de un cultivo líquido sin agitación.

Antibióticos de *Streptomyces*

Probablemente la propiedad más llamativa de los estreptomicetos es su rango de producción de antibióticos (**Tabla 16.10**). En las placas de medio utilizadas para el primer paso de aislamiento de *Streptomyces* a menudo pueden verse pruebas de su producción de antibióticos: las colonias adyacentes de otras bacterias muestran zonas de inhibición (Figuras 16.22 y 16.23*a*; Figura 25.7). Alrededor del 50% de todos los *Streptomyces* aislados producen antibióticos.

Debido a la enorme importancia económica y médica de muchos de los antibióticos producidos por estreptomicetos, estos organismos productores han sido objeto de numerosos estudios. Se conocen más de 500 antibióticos diferentes producidos por estreptomicetos y se sospecha que pueda haber muchos más (Secciones 25.5 y 25.6); la mayoría de estos antibióticos se han identificado por métodos químicos (Figura 16.23*b*). Algunos de estos organismos producen más de un antibiótico y a menudo los distintos tipos producidos por un mismo organismo no son moléculas químicamente parecidas. Por otro lado, diferentes especies procedentes de regiones de la Tierra muy distantes entre sí pueden producir el mismo antibiótico. Además, aunque un organismo productor de antibióticos es resistente a sus propios antibióticos, es normalmente sensible a los antibióticos producidos por otros estreptomicetos. Se necesitan muchos genes para codificar las enzimas necesarias para la síntesis de antibióticos y como consecuencia los genomas de las especies de *Streptomyces* son normalmente bastante grandes (8 Mpb y aún mayores; Tabla 13.1).

Más de 60 antibióticos producidos por estreptomicetos se emplean en medicina humana y veterinaria, agricultura e industria. La Tabla 16.10 enumera algunos de los antibióticos más comunes con origen en los estreptomicetos. Se agrupan en clases conforme a la estructura química de la molécula original. La búsqueda de nuevos antibióticos producidos por estreptomicetos continúa, porque los antibióticos conocidos no son capaces de controlar eficazmente muchas enfermedades infecciosas. Además, el continuo desarrollo de patógenos resistentes a los antibióticos exige el descubrimiento continuo de nuevos productos.

Es irónico que a pesar de los intensivos estudios prácticos sobre estreptomicetos productores de antibióticos

Tabla 16.10 Algunos antibióticos comúnmente sintetizados por especies de *Streptomyces*

Clase química	*Nombre común*	*Producido por*	*Activo contra*[a]
Aminoglicósidos	Estreptomicina	*S. griseus*[b]	Mayoría de bacterias gramnegativas
	Espectinomicina	*Streptomyces spp.*	M. *tuberculosis*, N. *gonorrhoeae* productora de penicilina
	Neomicina	*S. fradiae*	Amplio espectro, habitualmente utilizada en aplicaciones tópicas por su toxicidad
Tetraciclinas	Tetraciclina	*S. aureofaciens*	Amplio espectro, grampositivas y gramnegativas bacterias, rickettsias y clamidias, *Micoplasmas*
	Clortetraciclinas	*S. aureofaciens*	Como la tetraciclina
Macrólidos	Eritromicina	*Saccharopolyspora erythraea*	Mayoría de bacterias grampositivas, frecuentemente utilizadas en lugar de la penicilina *Legionella*
	Clindamicina	*S. lincolnensis*	Efectiva contra anaerobios estrictos, especialmente *Bacteroides fragilis*
Polienos	Nistatina	*S. noursei*	Hongos, especialmente infecciones por *Candida*
	Anfotericina B	*S. nodosus*	Hongos
Ninguno	Cloranfenicol	*S. venezuelae*	Amplio espectro; tratamiento principal contra las fiebres tifoideas

[a] La mayoría de los antibióticos son efectivos contra varias bacterias diferentes. Las entradas en esta columna hacen referencia a la aplicación clínica más común de cada antibiótico. Las estructuras y modo de acción de muchos de estos antibióticos se discuten en las Secciones 27.6-27.9.

[b] Todos los listados que comienzan por «S.» son especies del género *Streptomyces*.

llevados a cabo por la industria farmacéutica y al hecho de que la producción de antibióticos por especies de *Streptomyces* genera anualmente miles de millones, todavía se conoce muy poco sobre la ecología de *Streptomyces*. La interacción de estos organismos con otras bacterias y el sentido ecológico de la producción de antibióticos es un área sobre la que sabemos muy poco. Una hipótesis sobre el sentido de la producción de antibióticos por *Streptomyces* propone que dicha producción, que está ligada a la esporulación (un proceso inducido a su vez por la carencia de nutrientes), podría ser un mecanismo para inhibir el crecimiento de organismos que compitan con *Streptomyces* por nutrientes limitantes. Esto permitiría a *Streptomyces* completar el proceso de esporulación y formar una estructura de resistencia que incremente sus opciones de supervivencia.

16.6 Minirrevisión

Los estreptomicetos componen un gran grupo de bacterias grampositivas filamentosas que forman esporas en el extremo de filamentos aéreos. Muchos antibióticos empleados en medicina como la tetraciclina o la neomicina tienen su origen en especies de *Streptomyces*.

- ¿En qué se diferencian las esporas de las especies de *Streptomyces* y su proceso de formación de sus equivalentes en *Bacillus*?
- ¿Qué tipo de organismo es *Streptomyces* en cuanto a generación de energía y de qué tipo de compuestos obtienen su energía estos organismos?
- ¿Cómo puede constituir una ventaja para los estreptomicetos la producción de antibióticos?

III CIANOBACTERIAS Y PROCLOROFITAS

16.7 Cianobacterias

Géneros clave: *Synechococcus, Oscillatoria, Nostoc*

Las **cianobacterias** constituyen un gran grupo de bacterias fotótrofas muy heterogéneo ecológica y morfológicamente. Las cianobacterias se diferencian en varios aspectos fundamentales de las bacterias verdes y rojas (Secciones 15.2 y 16.15), principalmente en que son fotótrofos oxigénicos. Las cianobacterias constituyen uno de los mayores filums de bacterias y están remotamente relacionadas con las bacterias grampositivas (Figura 15.1). Como vimos en la Sección 14.3, estos organismos fueron los primeros fotótrofos productores de oxígeno sobre la Tierra y fueron los responsables de la transformación de una atmósfera terrestre anóxica hacia una atmósfera óxica.

Estructura y clasificación de las cianobacterias

La diversidad morfológica de las cianobacterias es impresionante (**Figura 16.24**). Se conocen tanto formas unicelulares como filamentosas, con considerable diversidad dentro de cada uno de estos tipos morfológicos. Aún así, las cianobacterias se dividen en tan sólo cinco grupos morfológicos: (1) unicelulares, que se dividen por fisión binaria (Figura 16.24*a*); (2) unicelulares, que se dividen por fisión múltiple (colonial) (Figura 16.24*b*); (3) filamentosas, que contienen células diferenciadas denominadas heterocistos que participan en la fijación de nitrógeno (Figura 16.24*d* y Figura 16.26);(4) filamentosas carentes de heterocistos (Figura 16.24*c*); y (5) especies filamentosas ramificadas (Figura 16.24*e*). La **Tabla 16.11** enumera

www.libros.com

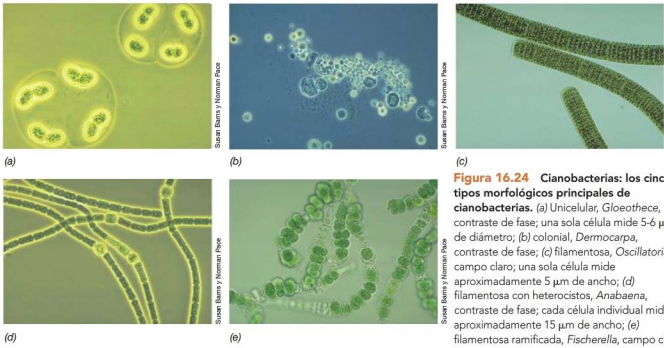


Figura 16.24 Cianobacterias: los cinco tipos morfológicos principales de cianobacterias. *(a)* Unicelular, *Gloeothece*, contraste de fase; una sola célula mide 5-6 μm de diámetro; *(b)* colonial, *Dermocarpa*, contraste de fase; *(c)* filamentosa, *Oscillatoria*, campo claro; una sola célula mide aproximadamente 5 μm de ancho; *(d)* filamentosa con heterocistos, *Anabaena*, contraste de fase; cada célula individual mide aproximadamente 15 μm de ancho; *(e)* filamentosa ramificada, *Fischerella*, campo claro

Tabla 16.11 Géneros y grupos de cianobacterias

Grupo	*Género*
Grupo I. Unicelular: células sueltas o agregados	*Gloeothece* (Figura 16.24*a*), *Gloeobacter, Synechococcus, Cyanothece, Gloeocapsa, Synechocystis, Chamaesiphon, Merismopedia*
Grupo II. Tipo pleurocapsa: se reproducen por formación de células esféricas pequeñas llamadas baeocitos producidas por fisión múltiple	*Dermocarpa* (Figura 16.24*b*), *Xenococcus, Dermocarpella, Pleurocapsa, Myxosarcina, Chroococcidiopsis*
Grupo III. Tipo oscilatoria: células filamentosas que se dividen por fisión binaria en un plano único	*Oscillatoria* (Figura 16.24*c*), *Spirulina, Arthrospira, Lyngbya, Microcoleus, Pseudanabaena*
Grupo IV. Tipo nostoc: células filamentosas que producen heterocistos	*Anabaena* (Figura 16.24*d*), *Nostoc, Calothrix, Nodularia, Cylindrospermum, Scytonema*
Grupo V. Ramificados: las células se dividen para formar ramas	*Fischerella* (Figura 16.24*e*), *Stigonema, Chlorogloeopsis, Hapalosiphon*

los géneros principales reconocidos dentro de cada grupo. Las células de cianobacterias oscilan en tamaño entre aquéllas típicas de procariotas (0,5-1 μm de diámetro) hasta células tan grandes como 40 μm de diámetro (en la especie *Oscillatoria princeps*, Figura 4.51*a*). Los intentos de clasificación basados en la secuencia del gen del 16S rRNA y en varias características morfológicas, fisiológicas y ecológicas muestran que las cianobacterias son de hecho un grupo extraordinariamente diverso.

La estructura de la pared celular de las cianobacterias es parecida a la de las bacterias gramnegativas, con paredes que contienen peptidoglicano. Muchas cianobacterias producen cubiertas mucilaginosas considerables, también llamadas vainas, que unen entre sí grupos de células o de filamentos (Figura 16.24*a*). El sistema de membranas fotosintéticas es a menudo complejo y consta de múltiples capas (Figura 20.10*b*), aunque en algunas de las cianobacterias más sencillas las membranas tilacoidales están distribuidas de modo regular formando círculos concéntricos en la periferia del citoplasma (**Figura 16.25**)

Las cianobacterias sólo tienen una forma de clorofila, la clorofila *a* y todas tienen unos pigmentos característicos (biliproteínas), las **ficobilinas** (Figura 20.10*a*), que

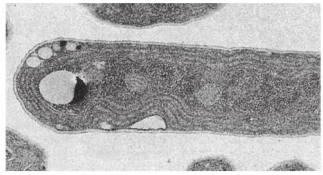


Figura 16.25 Tilacoides de las cianobacterias. Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina de la cianobacteria *Synechococcus lividus*. Cada célula mide aproximadamente 5 μm de diámetro. Observe las membranas tilacoidales dispuestas en paralelo a la pared celular.

actúan como pigmentos fotosintéticos accesorios. Las ficocianinas son una clase de ficobilinas de color azul que, en combinación con la clorofila *a* de color verde, son responsables del color verde-azulado de estas bacterias. Sin embargo algunas especies de cianobacterias producen ficoeritrina, que es una ficobilina de color rojo y en consecuencia estas especies presentan un color rojo o marrón.

Variaciones estructurales: vesículas gaseosas y heterocistos

Entre las estructuras citoplasmáticas visibles en muchas cianobacterias se cuentan las vesículas de gas (Sección 4.11), que son habituales en especies que viven en aguas abiertas (especies planctónicas). La función de estas vesículas de gas es regular la flotabilidad celular, de manera que las células puedan mantenerse en la posición exacta de la columna de agua donde la intensidad luminosa es ideal para la realizar fotosíntesis. Algunas cianobacterias filamentosas forman células especializadas denominadas heterocistos, que son células redondeadas y más grandes distribuidas a intervalos regulares a lo largo del filamento o bien localizadas en uno de sus extremos (**Figura 16.26a**).

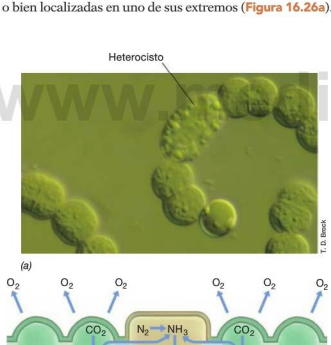


Figura 16.26 Heterocistos. *(a)* Heterocistos de la cianobacteria *Anabaena*. Los heterocistos son el único sitio de fijación de nitrógeno en las cianobacterias que los poseen. *(b)* Modelo del funcionamiento de un heterocisto. Los heterocistos carecen de la capacidad de producir oxígeno y obtienen el poder reductor necesario para la fijación de nitrógeno de materia orgánica producida por las células vegetativas adyacentes. El nitrógeno fijado en forma de glutamina se transporta desde los heterocistos hasta las células vegetativas.

Los heterocistos se originan por la diferenciación de células vegetativas y son los únicos sitios donde se produce fijación de nitrógeno en las cianobacterias. En los heterocistos de *Anabaena*, que es una cianobacteria con heterocistos muy conocida, se producen complejas reordenaciones génicas que dan lugar a un grupo contiguo de genes *nif*, que pueden expresarse como una sola unidad (los genes *nif* codifican la nitrogenasas, Sección 20.15).

Los heterocistos tienen conexiones intercelulares con las células vegetativas adyacentes, de modo que entre estas células se produce un activo intercambio de material. Los productos de la fotosíntesis se desplazan de las células vegetativas hacia los heterocistos y los productos de la fijación de nitrógeno se mueven de los heterocistos hacia las células vegetativas (Figura 16.26*b*). Los heterocistos tienen pocos pigmentos tipo ficobilinas y carecen de fotosistema II, el fotosistema generador de oxígeno que produce el poder reductor a partir de H_2O (Sección 20.5). Al carecer de fotosistema II los heterocistos son incapaces de fijar CO_2 y carecen por tanto del donador de electrones necesario para reducir N_2 hasta NH_3; el carbono fijado se importa al heterocisto desde las células vegetativas adyacentes para resolver este problema (Figura 16.26*b*).

Los heterocistos están rodeados por una pared celular engrosada que contiene gran cantidad de glicolípidos, lo que disminuye la difusión de O_2 al interior de la célula. Como la nitrogenasa es sensible al oxígeno, el heterocisto mantiene un ambiente carente de oxígeno y al hacerlo estabiliza el sistema de fijación de nitrógeno en un organismo que es aerobio y también generador de oxígeno. De hecho, algunas cianobacterias filamentosas sin heterocistos producen nitrogenasa y fijan nitrógeno en células vegetativas normales, cuando crecen anaeróbicamente sometidas a un intenso burbujeo de N_2 para eliminar el O_2.

Cianoficina y otras estructuras

En microfotografías realizadas con el microscopio electrónico de muchas cianobacterias puede observarse una estructura denominada cianoficina. Esta estructura es un copolímero de ácido aspártico y arginina, que puede llegar a constituir hasta el 10% de la masa celular. La cianoficina es un producto de almacenaje de nitrógeno, de modo que cuando el nitrógeno se vuelve limitante en el medio ambiente, este polímero se degrada y se emplea como fuente celular de nitrógeno. La cianoficina también sirve como reserva energética para las cianobacterias. La arginina obtenida de la cianoficina puede emplearse para producir ATP al hidrolizarse para producir ornitina mediante la acción de la enzima *arginina dihidrolasa*, con carbamil fosfato como intermediario (Sección 21.1):

$$\text{Arginina} + \text{ADP} + P_i + H_2O \rightarrow \text{Ornitine} + 2\ NH_3 + CO_2 + \text{ATP}$$

La arginina dihidrolasa está presente en muchas cianobacterias y puede utilizarse para obtener ATP para el mantenimiento celular durante períodos de oscuridad.

Muchas cianobacterias exhiben movilidad por deslizamiento. La movilidad por deslizamiento fue analizada en la Sección 4.14. El deslizamiento sólo sucede cuando la célula o filamento están en contacto con una superficie sólida o con otra célula o filamento. En algunas cianobacterias el deslizamiento no es un simple movimiento de desplazamiento lineal, sino que se acompaña de rotaciones, cambios de sentido y flexión de filamentos. La mayoría de las especies capaces de deslizamiento muestran movimiento dirigido hacia la luz (fototaxis) y también pueden presentar quimiotaxis (Sección 4.15).

Entre las cianobacterias filamentosas, los filamentos pueden fragmentarse para formar pequeños segmentos denominados *hormogonias* (**Figura 16.27a,b**); dichos segmentos se separan de los filamentos mediante deslizamiento. En algunas especies se forman esporas de resistencia llamadas acinetos (Figura 16.27*c*), que protegen al organismo durante períodos de oscuridad, desecación o congelación. Estas células tienen paredes engrosadas; al germinar lo hacen a través de la ruptura de la pared y crecen para formar un nuevo filamento vegetativo. Sin embargo, incluso las células vegetativas de muchas cianobacterias son relativamente resistentes a la desecación o a las bajas temperaturas.

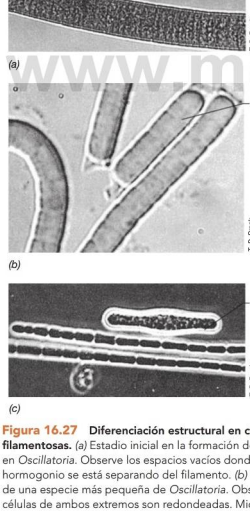


Figura 16.27 Diferenciación estructural en cianobacterias filamentosas. *(a)* Estadio inicial en la formación del hormogonio en *Oscillatoria*. Observe los espacios vacíos donde el hormogonio se está separando del filamento. *(b)* Hormogonios de una especie más pequeña de *Oscillatoria*. Observe que las células de ambos extremos son redondeadas. Microscopía Nomarski de contraste diferencial interferencial. *(c)* Akineto (espora de latencia) de *Anabaena* por contraste de fase.

Fisiología de las cianobacterias

La nutrición de las cianobacterias es sencilla. No necesitan vitaminas y como fuente de nitrógeno utilizan nitrato o amonífaco. Las especies fijadoras de nitrógeno son bastante comunes. La mayoría de las especies ensayadas son fotótrofos estrictos y son incapaces de crecer en la oscuridad utilizando compuestos orgánicos. Sin embargo, algunas cianobacterias pueden asimilar en presencia de luz compuestos orgánicos simples como la glucosa o el acetato (fotoheterotrofía). Una pocas cianobacterias, sobre todo especies filamentosas, pueden crecer en la oscuridad utilizando glucosa o sacarosa como fuentes de carbono y de energía.

Diversos productos metabólicos de las cianobacterias poseen un considerable valor práctico. Muchas cianobacterias producen potentes neurotoxinas y cuando se producen explosiones poblacionales en el agua, durante las cuales las cianobacterias se acumulan en cantidades enormes, los animales que beben dicha agua pueden morir. Muchas cianobacterias también son responsables del olor y sabor a tierra de ciertas aguas dulces, con los consiguientes problemas si dichas aguas se emplean como fuente de agua potable. El principal producto generado es la *geosmina*, una substancia que también producen muchos actinomicetos (Sección 16.6).

Ecología y filogenia de las cianobacterias

Las cianobacterias están ampliamente distribuidas en la naturaleza en hábitats terrestres, de agua dulce y marinos. En general son más tolerantes a ambientes extremos que las algas y a menudo son los organismos fotótrofos oxigénicos predominantes en manantiales termales (Tabla 6.1), lagos salinos y otros ambientes extremos. Muchas especies se encuentran en la superficie de rocas o del suelo y ocasionalmente incluso dentro de las mismas rocas (Figura 18.37). En suelos desérticos sometidos a una intensa luz solar las cianobacterias forman a menudo amplias cortezas sobre la superficie, manteniéndose latentes durante la mayoría del año y creciendo durante el corto invierno o las lluvias primaverales. En bahías marinas poco profundas, donde la temperatura del agua marina es relativamente templada, a veces las cianobacterias forman tapices de considerable grosor. Los lagos de agua dulce, especialmente aquellos que son ricos en nutrientes, pueden sufrir explosiones poblacionales de cianobacterias (Figura 23.9*b*). Unas

www.medi

cuantas cianobacterias son simbiontes de helechos y cicas; algunas forman el componente fotótrofo de los líquenes. Se ha demostrado que una cianobacteria endofita (una especie de *Anabaena*) del helecho de agua *Azolla* (Secciones 20.14 y 24.15) es capaz de fijar nitrógeno que queda disponible para la planta. *Synechococcus* y el organismo relacionado *Prochlorococcus* (Sección 16.8) son cianobacterias pequeñas y unicelulares, generalmente inmóviles, que se encuentran en abundancia en la zona fótica de los océanos, donde llevan a cabo fotosíntesis, que es responsable de un porcentaje significativo del CO_2 que se fija en el mundo.

Filogenéticamente, las cianobacterias se agrupan en la mayoría de los casos de manera coherente con sus características morfológicas. Las especies filamentosas con y sin heterocistos forman grupos definidos, al igual que las formas ramificadas. Sin embargo, las cianobacterias unicelulares son filogenéticamente muy diversas y sus distintos representantes muestran relaciones filogenéticas con diferentes grupos morfológicos.

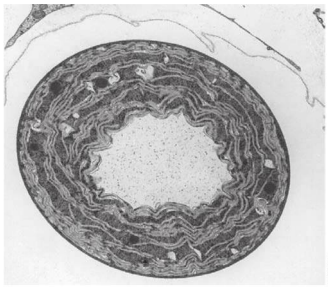


Figura 16.28 Microfotografía con el microscopio electrónico del proclorofito *Prochloron*. Observe las extensas membranas tilacoidales. Cada célula mide aproximadamente 10 μm de diámetro.

16.8 Proclorofitas

Géneros clave: *Prochloron, Prochlorothrix, y Prochlorococcus*

Las **proclorofitas** son fotótrofos oxigénicos que contienen clorofila *a* y *b* pero carecen de ficobilinas. Por tanto, las proclorofitas se parecen tanto a las cianobacterias (porque son procariotas con clorofila *a*) y a los cloroplastos de las plantas/algas verdes (porque contienen clorofila *b* en vez de ficobilinas). Filogenéticamente las proclorofitas forman varios grupos separados en las cianobacterias.

Prochloron

Prochloron fue la primera proclorofita descubierta. Se encuentra en la naturaleza como simbionte de invertebrados marinos (ascidias) pero no ha sido cultivado en el laboratorio. Las células de *Prochloron* son aproximadamente esféricas (**Figura 16.28**) y miden entre 8-10 μm de diámetro.

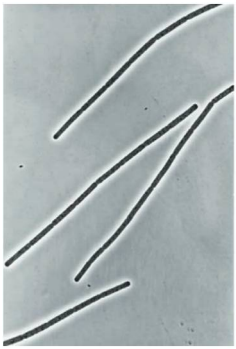
Microfotografías con el microscopio electrónico de secciones finas de *Prochloron* (Figura 16.28) muestran un extenso sistema de membranas tilacoidales similar al del cloroplasto (Figura 18.5). La presencia de ácido murámico en la pared celular de *Prochloron*, lo que indica que tiene peptidoglicano (Sección 4.6), es una prueba más de que este organismo es filogenéticamente miembro de las bacterias. Los carotenoides de *Prochloron* son parecidos a los de las cianobacterias, predominantemente β-caroteno y zeaxantina. Los *Prochloron* aislados de distintas ascidias presentan una heterogeneidad genética substancial. Por tanto es probable que existan distintas especies de *Prochloron*, pero su confirmación debe esperar a su cultivo en laboratorio y al análisis de cultivos puros.

Prochlorothrix y *Prochlorococcus*

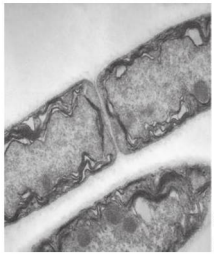
Prochlorothrix es una proclorofita filamentosa (**Figura 16.29**) de la que se han obtenido cultivos puros. Al igual que *Prochloron*, *Prochlorothrix* contiene clorofilas *a* y *b* y carece de ficobilinas, si bien sus membranas tilacoidales están menos desarrolladas que las de *Prochloron* (compare las figuras 16.28 y 16.29*b*).

Prochlorococcus, es un fotótrofo unicelular que habita la zona eufótica del océano abierto y podría ser el organismo fotosintético más pequeño y abundante de la Tierra. Las células de esta bacteria fotótrofa miden 0,5-0,8 μm de diámetro (Figura 23.15). Como otras proclorofitas, las células de *Prochlorococcus* contienen clorofila *b*. Sin embargo *Prochlorococcus* carece de auténtica clorofila *a* y en su lugar produce una forma modificada de clorofila *a*, el divinilo de clorofila *a*. Las células de *Prochlorococcus* también contienen α- en vez de β-caroteno, un pigmento previamente desconocido en bacterias.

Ya que el número de *Prochlorococcus* en los océanos es muy grande, hasta 10^5 por mililitro de agua marina, este organismo tiene una relevancia ecológica considerable como productor primario. *Prochlorococcus* está presente en aguas abiertas oligótrofas (pobres en nutrientes) del océano, desde aguas templadas hasta aguas tropicales. Existen dos poblaciones genéticamente distintas, una adaptada a los niveles bajos de luz presentes en las regiones más profundas de la zona fótica oceánica y otra adaptada a los niveles más altos que se encuentran cerca de la superficie. De modo parecido, existen dos ecotipos de *Synechococcus*, un organismo fotótrofo unicelular relacionado, uno mejor adaptado a aguas abiertas oceánicas y otro a las aguas costeras y de la pla-



(a)



(b)

(c)

Figura 16.29 **Los proclorofitos *Prochlorothrix* y *Acaryochloris*.** *(a)* Contraste de fase. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina que muestra la disposición de las membranas en las células filamentosas. Cada célula mide aproximadamente 2 µm de diámetro. *(c) Acaryochloris*, sección fina. Este proclorofito tiene clorofila *d* como principal pigmento clorofílico. Cada célula mide aproximadamente 1,5 µm de diámetro.

www.medilibros.com

taforma continental. Esta adaptación depende en *Prochlorococcus* del contenido y proporción de las clorofilas y en *Synechococcus* de cuál es el cromóforo predominante, ficourobilina o ficoeritrobilina, asociado al pigmento accesorio fotosintético ficoeritrina. Se han aislado otras proclorofitas, como por ejemplo *Acaryochloris* (Figura 16.29*c*), que contienen clorofila *d* como pigmento predominante.

16.7-16.8 Minirrevisión

Las cianobacterias y las proclorofitas son bacterias fotótrofas oxigénicas. Las proclorofitas se diferencian claramente de las cianobacterias en que las primeras poseen clorofila *b* o *d* y carecen de ficobilinas. Se cree que el oxígeno en la atmósfera terrestre se originó como consecuencia de la fotosíntesis realizada por cianobacterias.

- Describa al menos tres cosas en las que las cianobacterias se diferencian de las bacterias rojas.
- ¿Qué es un heterocisto y cuál es su función?
- ¿En qué se parecen y en qué se diferencian los cloroplastos del maíz, las cianobacterias y las proclorofitas?
- ¿Qué relevancia ecológica tiene *Prochlorococcus*?

IV CLAMIDIAS

16.9 Clamidias

Géneros clave: *Chlamydia, Chlamydophila*

Los organismos de los géneros *Chlamydia* y *Chlamydophila* son bacterias parásitas estrictas con reducida capacidad metabólica; entre ambos constituyen el filum *Chlamydia* (Figura 15.1). Se reconocen varias especies clave (**Tabla 16.12**): *Chlamydophila psittaci*, agente causal de la psitacosis; *Chlamydia trachomatis*, agente causal del tracoma y otra serie de enfermedades en humanos; y *Chlamydophila pneumoniae*, causante de síndromes respiratorios (Tabla 16.12).

La psitacosis es una enfermedad epidémica en pájaros que ocasionalmente se transmite a humanos, en los que produce síntomas parecidos a una neumonía. El tracoma es una enfermedad ocular crónica que se caracteriza por la vascularización, ulceración y cicatrización de la córnea. El tracoma es la causa principal de ceguera en humanos. Otras cepas de *C. trachomatis* infectan el aparato genitourinario y actualmente las infecciones por *Chlamydia* constituyen las enfermedades más comunes de transmisión sexual (Sección 34.14). La Tabla 16.12 muestra una comparación de las características de *C. psittaci*, *C. trachomatis* y *C. pneumoniae* y de las enfermedades que producen.

Tabla 16.12 Características diferenciales de las especies de los géneros *Chlamydia* y *Chlamydophila*

Características	*Chlamydia trachomatis*	*Chlamydophila psittaci*	*Chlamydophila pneumoniae*
Hospedadores	Humanos	Pájaros, mamíferos, ocasionalmente humanos	Humanos
Sitio habitual de infección	Membranas mucosas	Sitio múltiple	Mucosas respiratorias
Transmisión entre humanos	Común	Rara	Probable
Mol % GC del DNA	42-45	39-43	40
Porcentaje de homología al DNA de *C. trachomatis* mediante hibridación DNA-DNA*	100	10	10
DNA, kilopares de bases/genoma (*Escherichia coli* = 4.639)	1.000	550	~1.000
Enfermedades humanas	Tracoma, otitis media, uretritis no gonocócica (varones), inflamación de la uretra (hembras), linfogranuloma venéreo, cervicitis	Psittacosis	Síndromes respiratorios
Enfermedades en animales domésticos	—	Clamidiosis aviar (loros, periquitos), neumonía, artritis del líquido sinobial o conjuntivitis (cachorros de gato, corderos, terneros, lechones, potro)	—

* *Véase* discusión de la hibridación DNA:DNA en la Sección 14.11.

Características moleculares y metabólicas

Las clamidias resultan interesantes, además de su papel como causantes de enfermedad, por las cuestiones biológicas, evolutivas y metabólicas que plantean. Los análisis metabólicos demuestran que las clamidias tienen paredes gramnegativas y que tienen DNA y RNA; es decir, claramente tienen entidad celular. El análisis al microscopio electrónico de secciones finas de células infectadas muestran bacterias dividiéndose por fisión binaria (**Figura 16.30**).

Las capacidades biosintéticas de las clamidias están mucho más limitadas incluso que las de las rickettsias, el otro grupo conocido de bacterias parásitas intracelulares estrictas (Sección 15.13). De hecho, durante algún tiempo se pensó que las clamidias eran «parásitos de energía» y que obtenían de sus hospedadores no sólo intermediários biosintéticos, como hacen las rickettsias, sino también ATP. Sin embargo, esta hipótesis ha sido puesta en duda tras la secuenciación del genoma de *C. trachomatis*. El cromosoma de *C. trachomatis* de 1-Mpb contiene genes que codifican las funciones biosintéticas necesarias para producir peptidoglicano. Esto sugiere que este organismo podría contener peptidoglicano, incluso si los análisis químicos sobre células de clamidia han dado un resultado negativo. En cualquier caso, las clamidias probablemente siguen siendo una de las bacterias conocidas con menos habilidades bioquímicas, lo que se resume en la **Tabla 16.13.**

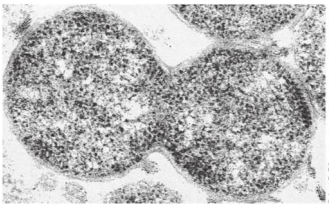


Figura 16.30 *Chlamydia.* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina de un cuerpo reticulado en división de *Chlamydia psittaci*, miembro del grupo de la psitacosis, dentro de una célula de ratón en cultivo de tejidos. Cada célula de *Chlamydia* mide aproximadamente 1 μm de diámetro.

Resulta interesante que el genoma de *C. trachomatis* carezca del gen que codifica la proteína FtsZ, una proteína clave para la formación del septo durante la división celular (Sección 6.2). Esta proteína se consideraba indispensable para el crecimiento de todo procariota. Además, los genes de *C. trachomatis* tienen un marcado «aspecto eucariótico», lo que sugiere que *C. trachomatis* ha obtenido algunos genes de sus hospedadores, que podrían codificar funciones auxiliares para su estilo de vida patogénico (Tabla 16.12; Secciones 28.7 y 34.14).

Ciclo de vida de las clamidias

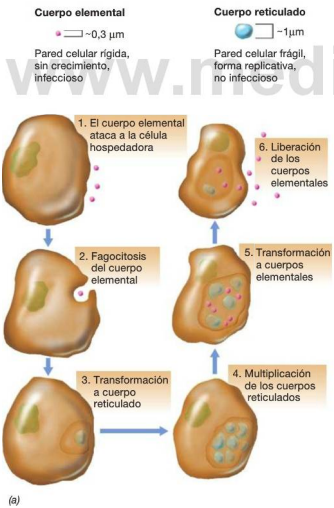
La **Figura 16.31** muestra el típico ciclo de vida de una especie de clamidia. Se pueden ver dos tipos celulares en este ciclo de vida: (1) una célula pequeña y densa, denominada el cuerpo elemental, que es relativamente resistente a la desecación y actúa como forma de dispersión y

Tabla 16.13 Comparación entre parásitos intracelulares obligados: rickettsias, clamidias y virus

Propiedad	*Rickettsias*	*Clamidias*	*Virus*
Estructural			
Ácido nucleico	RNA y DNA	RNA y DNA	RNA o DNA (cadena sencilla o doble), nunca de los dos
Ribosomas	Presente	Presente	Ausentes
Pared celular	Peptidoglicano presente	Peptidoglicano presente[a]	No tienen pared
Integridad estructural durante la multiplicación	Mantenida	Mantenida	Perdida
Capacidades metabólicas			
Síntesis de macromoléculas	Llevada a cabo	Llevada a cabo	Sólo mediante el uso de la maquinaria del hospedador
Sistema de generación de ATP	Presente	Presente[a]	Ausente
Capaz de oxidar glutamato	Sí	No	No
Sensibilidad a antibióticos antibacterianos	Sensible	Sensible (excepto a la penicilina)	Resistente
Filogenia	Alphaproteobacterias	Filum clamidias	No son células

[a] El genoma de *Chlamydia trachomatis* (y varias otras clamidiales) ha sido secuenciado (Sección 13.2) y se han encontrado genes para la síntesis de peptidoglicano y ATP. No obstante, dada la falta de sensibilidad a penicilina cabe dudar de que realmente lo produzcan.

www.medilib.ir



(2) una célula más grande y menos densa, denominada cuerpo reticulado, que se divide por fisión binaria y actúa como forma vegetativa.

Los cuerpos elementales son células que no se replican y están especializadas en la transmisión infecciosa. En contraposición, los cuerpos reticulados son formas no infecciosas que se multiplican dentro del hospedador, generando un gran inóculo para la transmisión. A diferen-

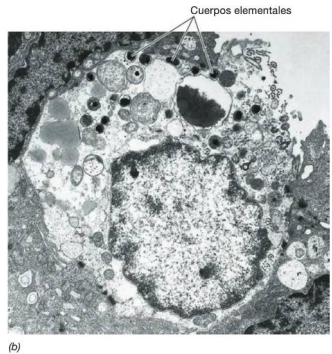


Figura 16.31 Ciclo infectivo de *Chlamydia*. *(a)* Diagrama esquemático del ciclo: el ciclo se completa en unas 48 h. *(b)* Infección de *Chlamydia* en humanos. Un conducto de falopio infectado se desgarra, liberando los cuerpos elementales maduros.

cia de las rickettsias (Sección 15.13), las clamidias no se transmiten por artrópodos, sino que se transmiten por el aire para introducirse en el aparato respiratorio —de ahí el sentido de la resistencia a la desecación de los cuerpos elementales. La Figura 16.30 muestra la división de un cuerpo reticulado. Después de unas cuantas divisiones celulares, las células vegetativas se transforman en cuerpos elementales, que son liberados cuando la célula hospedadora se desintegra y pueden así infectar otras células. El tiempo de generación de los cuerpos reticulados se ha calculado en 2-3 h, considerablemente más rápidos que los de las rickettsias.

En resumen, las clamidias parecen haber desarrollado una efectiva estrategia de supervivencia que incluye el parasitismo de los recursos del hospedador (Tabla 16.13) y la producción de formas celulares de resistencia para su transmisión. No es por tanto sorprendente que las clamidias estén relacionadas con tantas y tan diferentes enfermedades y síndromes (Tabla 16.12; Sección 34.14).

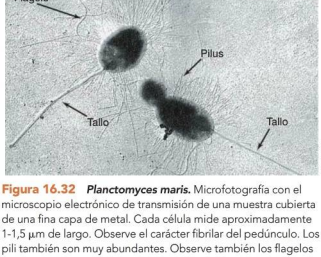


Figura 16.32 ***Planctomyces maris.*** Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de una muestra cubierta de una fina capa de metal. Cada célula mide aproximadamente 1-1,5 µm de largo. Observe el carácter fibrilar del pedúnculo. Los pili también son muy abundantes. Observe también los flagelos (apéndices curvados) en cada célula y la yema que se está formando en el extremo sin pedúnculo de una célula.

16.9 Minirrevisión

Las clamidias son bacterias parasíticas extremadamente pequeñas que producen enfermedades en el hombre. Las clamidias tienen un genoma muy pequeño y aparentemente carecen de numerosas capacidades metabólicas.

- Utilizando los datos de la Tabla 16.13*a* como guía, ¿cómo diferenciaría a las clamidias de las rickettsias? ¿Y de los virus?
- ¿Qué diferencia hay entre un cuerpo elemental y un cuerpo reticulado?
- ¿Qué sorpresas nos ha deparado la secuenciación del genoma de clamidia?

www.medilibros.com

V PLANCTOMYCES/ PIRELLULA

16.10 *Planctomyces*: una bacteria pedunculada filogenéticamente única

Géneros clave: *Planctomyces, Pirellula, Gemmata*

El grupo *Planctomyces*/*Pirellula* comprende una serie de bacterias con morfología particular, que incluye los géneros *Planctomyces*, *Pirellula*, *Gemmata* e *Isosphaera*. De estos géneros, el mejor estudiado es *Planctomyces* (**Figura 16.32**). En la Sección 15.16 analizamos las bacterias pedunculadas como *Caulobacter*. *Planctomyces* también es una bacteria pedunculada. Sin embargo y a diferencia del de *Caulobacter*, el pedúnculo de *Planctomyces* está compuesto por proteínas y no tiene pared celular ni citoplasma (compare la Figura 16.32 con la Figura 15.40). El pedúnculo de *Planctomyces* probablemente sirve para adherirse, pero es una estructura mucho más estrecha y fina que las prostecas de *Caulobacter*.

Otras características del grupo de *Planctomyces*

Planctomyces y otros organismos relacionados también tienen interés por carecer de peptidoglicano y sus paredes celulares son de tipo capa S (Secciones 4.6 y 4.9) y están formadas por proteínas con una gran proporción de cisteína (en forma de cistina) y de prolina. Como es de esperar en organismos que carecen de peptidoglicano, estos organismos son resistentes a antibióticos como la penicilina y cefalosporina que bloquean la síntesis de peptidoglicano.

Como *Caulobacter* (Figuras 9.23 y 15.41), *Planctomyces* es una bacteria que gema con un ciclo de vida en el que células nadadoras se unen a una superficie, crecen un pedúnculo a partir del sitio de adhesión y generan una nueva célula en el polo opuesto por gemación. Esta célula hija desarrolla un flagelo, se separa de la célula madre anclada y comienza un nuevo ciclo. Fisiológicamente, *Planctomyces* es un quimioorganótrofo anaerobio facultativo, que crece bien mediante fermentación o bien por respiración de azúcares.

El hábitat de *Planctomyces* es fundamentalmente acuático, tanto de agua dulce como de agua marina, mientras que el género *Isosphaera* es una bacteria filamentosa y deslizante de manantiales termales. El aislamiento de *Planctomyces* y otros organismos relacionados necesita medio diluido, como sucede con *Caulobacter* y como todos los miembros conocidos de este grupo carecen de peptidoglicano, el enriquecimiento puede mejorarse aún más añadiendo penicilina como sistema de selección.

En la Sección 2.5 estudiamos las principales diferencias estructurales entre células procariotas y eucariotas. Comentamos que los eucariotas tienen un núcleo, envuelto por una membrana. Sin embargo, algunos miembros del filum de *Planctomyces* son únicos entre todos los procariotas conocidos en tanto que muestran una notable compartimentación celular, lo que incluye una estructura nuclear envuelta por una membrana. Por ejemplo, en la bacteria *Gemmata* (**Figura 16.33**), el nucleoide está rodeado por una envoltura nuclear. El DNA de *Gemmata* mantiene la estructura típica de procariotas y se presenta en forma circular, covalentemente cerrada y superenrrollada (Sección 7.3), pero está muy condensado y está separado del citoplasma por una auténtica unidad de membrana (Figura 16.33). Otro interesante compartimento es el anamoxosoma de *Brocadia anammoxidans*, un pariente de *Planctomyces*. Esta bacteria lleva a cabo la oxidación anaerobia del amonífaco dentro de la estructura cerrada del anamoxosoma (Sección 20.13).

Hasta el momento todas las especies de *Planctomyces* han demostrado tener compartimentos celulares internos. Algunos compartimentos carecen de DNA y por tanto tienen otras funciones (por ejemplo, funciones metabólicas, Sección 20.13). Ninguna otra bacteria conocida tiene compartimentos internos que se parezcan tanto a los de la célula eucariota. De hecho, la característica compartimentación de las células de los planctomicetos parece difuminar la diferencia estructural entre procariotas y eucariotas. En cualquier caso, los planctomicetos son únicos de muchas otras maneras aparte de su estructura celular, incluyendo particularmente la posición filogenética específica que ocupan en el mismo centro del dominio bacterias (Figura 15.1).

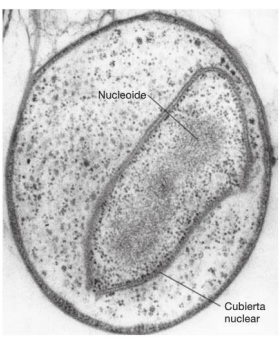


Figura 16.33 ***Gemmata*: una bacteria nucleada.** Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de una sección fina de una célula de *Gemmata obscuriglobus*, que muestra el nucleoide rodeado por una envoltura nuclear. Cada célula mide aproximadamente 1,5 μm de diámetro.

VI LOS VERRUCOMICROBIOS

16.11 *Verrucomicrobium* y *Prosthecobacter*

Géneros clave: *Verrucomicrobium*

Este grupo de bacterias comparte con las proteobacterias con prostecas (Sección 15.16) la formación de estos apéndices denominados prostecas. Los géneros *Verrucomicrobium* y *Prosthecobacter* producen entre dos y más prostecas por célula (**Figura 16.34**). Además y en contraposición con las células de *Caulobacter* (Figuras 9.23 y 15.41), que presentan una sola prosteca y producen formas nadadoras flageladas y sin prostecas, *Verrucomicrobium* y *Prosthecobacter* se dividen simétricamente de manera que tanto la célula madre como la hija presentan prostecas en el momento de la división celular. El nombre de género *Verrucomicrobium* deriva de la raíz griega que significa «verrugoso», lo que describe apropiadamente a las células de *Verrucomicrobium spinosum* con sus múltiples y prominentes prostecas (Figura 16.34).

Las especies de verrucomicrobios comparten con otras especies de bacterias con prostecas la presencia de peptidoglicano en la pared celular y son bacterias aerobias o anaerobias facultativas, capaces de fermentar diversos azúcares. Los verrucomicrobios están muy extendidos en la naturaleza y habitan en ambientes marinos y de agua dulce, así como en bosques y tierras de cultivo. Desde el punto de vista filogenético, los verrucomicrobios

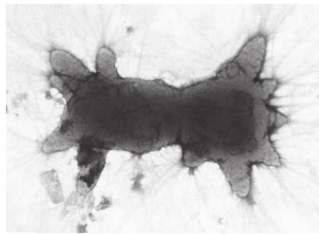


Figura 16.34 ***Verrucomicrobium spinosum*.** Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión por tinción negativa. Observe las prostecas con aspecto de verrugas. Cada célula mide aproximadamente 1 μm de diámetro.

son distintos de todas las bacterias conocidas (Figura 15.1). Este grupo muestra una cierta conexión filogenética con los filums de *Planctomyces* y *Chlamydia* (Figura 15.1), pero claramente es lo bastante diferente de ambos grupos como para formar su propio linaje separado.

Prosthecobacter

Las especies del género *Prosthecobacter* tienen dos genes con considerable homología con los genes que codifican la tubulina en las células eucariotas. La tubulina es una proteína clave en la composición del citoesqueleto de las células eucariotas (Sección 18.5). Aunque la importante proteína de división celular FtsZ (Sección 6.2) es también homóloga de la tubulina, las proteínas de *Prosthecobacter* son estructuralmente más parecidas a la tubulina eucariota. No se conoce el papel que juegan en *Prosthecobacter* las proteínas tipo tubulina; no se ha observado en estos organismos un citoesqueleto tipo eucariota. Sin embargo, estos genes probablemente son la señal de la existencia de una relación entre los verrucomicrobios y las células eucariotas, bien en términos de un ancestro común o bien de transferencia horizontal de genes entre células de los dos dominios.

VII LAS FLAVOBACTERIAS

Las flavobacterias incluyen desde aerobios estrictos hasta anaerobios estrictos, unificados por un tema filogenético común. Estos organismos habitan en diversos ambientes y nosotros nos centraremos en dos de los principales géneros dentro del grupo.

16.12 *Bacteroides* y *Flavobacterium*

Generos clave: *Bacteroides, Flavobacterium*

El género *Bacteroides* está compuesto por especies anaerobias estrictas no formadoras de endosporas, que fermentan azúcares o proteínas (según la especie) produciendo habitualmente acetato y succinato como productos de fermentación. Los *Bacteroides* normalmente son comensales, que se encuentran en el tracto intestinal humano y de otros animales (Sección 28.4). De hecho, las especies de *Bacteroides* son las bacterias que se encuentran en mayor número en el intestino delgado de los humanos, donde se han calculado hasta 10^{10} células procariotas por cada gramo de heces humanas. Sin embargo, algunas especies de *Bacteroides* también pueden ser patógenas y son las bacterias anaerobias más importantes asociadas con infecciones en humanos.

Las especies de *Bacteroides* son inusuales entre las bacterias en tanto que son uno de los pocos grupos de organismos capaces de sintetizar un tipo especial de lípidos denominados esfingolípidos, una colección heterogénea de lípidos que se caracterizan por tener esfingosina, un amino alcohol de cadena larga, en lugar de glicerol (**Figura 16.35**). Esfingolípidos como la esfingomielina,

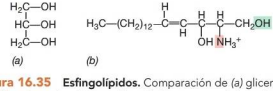


Figura 16.35 Esfingolípidos. Comparación de *(a)* glicerol, con *(b)* esfingosina. En los esfingolípidos, característicos de las especies de *Bacteroides*, la esfingosina es el alcohol esterificado; un ácido graso está unido por un enlace peptídico por su átomo de N (que se muestra en rojo) y el grupo —OH terminal (que se muestra en verde) puede ser cualquiera de una serie de compuestos que incluyen la fosfatidilcolina (esfingomielina) o diversos azúcares (cerebrósidos y gangliósidos).

los cerebrósidos y los gangliósidos son compuestos habituales en los tejidos de mamíferos, especialmente en el cerebro y otros tejidos del sistema nervioso.

A diferencia de *Bacteroides*, las especies de *Flavobacterium* se encuentran principalmente en ambientes acuáticos, tanto marinos como de agua dulce, así como en alimentos y en plantas de proceso de alimentos. Las colonias de *Flavobacterium* tienen frecuentemente pigmentación amarilla. Fisiológicamente estos organismos son aerobios y más bien restringidos nutricionalmente, utilizando glucosa y muy pocos más compuestos de carbono, como fuente de carbono y energía. Las flavobacterias rara vez son patógenas; sin embargo una especie, *Flavobacterium meningosepticum*, ha sido asociada con ciertos casos de meningitis infantil.

Otros géneros importantes de este grupo son criófilos o criotolerantes (Sección 6.13). Entre éstos se incluyen los géneros *Polaribacter* y *Psychroflexus*. Muchos otros géneros dentro de este grupo también son capaces de crecer eficientemente por debajo de 20 °C.

16.13 Acidobacterias

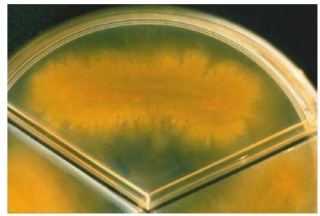
Géneros clave: *Acidobacterium, Geothrix, Holophaga*

Las acidobacterias forman el corazón de un filum de bacterias habituales del suelo y otros hábitats. Tres especies han sido caracterizadas detalladamente, *Acidobacterium capsulatum*, *Geothrix fermentans* y *Holophaga foetida*; todas ellas son quimioorganótrofos gramnegativos. *A. capsulatum* es una bacteria aerobia, acidófila y capsulada, que se ha aislado de aguas ácidas de drenaje minero; utiliza diversos azúcares y ácidos orgánicos. *G. fermentans* es un anaerobio estricto y oxida ácidos orgánicos simples (acetato, propionato, lactato, fumarato) hasta CO_2, utilizando Fe^{3+} como aceptor de electrones y también puede fermentar citrato produciendo acetato más succinato. *H. foetida* también es una bacteria anaerobia estricta, que puede degradar compuestos aromáticos metilados hasta acetato.

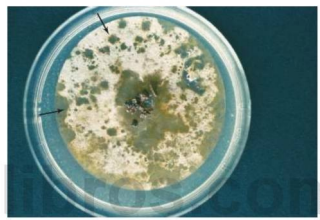
Se conocen otras acidobacterias, pero la mayoría están todavía por cultivar y tan sólo se conocen por las

www.medilibros.com

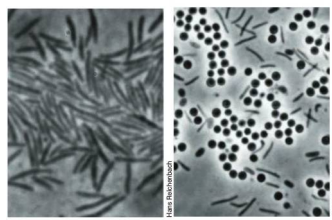
secuencias de sus genes del 16S RNA obtenidas a partir de muestras de campo. A partir de la variación de dichas secuencias, se ha probado la existencia de hasta seis grandes grupos dentro de este filum, lo que indica la substancial diversidad metabólica y filogenética de sus miembros. Según las secuencias de genes del 16S RNA obtenidas de muestras de campo, las acidobacterias abundan en suelos, hábitats de agua dulce, tapices microbianos en manantiales termales y en reactores de tratamiento de aguas residuales y sus fangos correspondientes. Su abundancia, su amplia distribución y su probable diversidad metabólica sugieren una gran relevancia ecológica, comparable a la de otros grupos bacterianos principales.



(a)



(b)



(c) (d)

Figura 16.36 ***Cytophaga* y *Sporocytophaga*.** *(a)* Siembra en estrías de una especie marina agarolítica de *Cytophaga*, hidrolizando el agar en una placa de Petri. *(b)* Colonias de *Sporocytophaga* creciendo en celulosa. Observe las zonas de clareado (flechas) en los sitios donde la celulosa ha sido degradada. *(c)* Microfotografía de contraste de fase de células de *Cytophaga hutchinsonii* crecidas sobre un papel de filtro de celulosa (cada célula mide aproximadamente 1,5 μm de diámetro). *(d)* Microfotografía de contraste de fase de las células en forma de bacilo y los microquistes esféricos de *Sporocytophaga myxococcoides* (cada célula mide aproximadamente 0,5 μm de diámetro y los microcistos 1,5 μm de diámetro).

VIII EL GRUPO *CYTOPHAGA*

Géneros clave: *Cytophaga, Flexibacter, Rhodothermus, Salinibacter*

16.14 *Cytophaga* y organismos relacionados

Los organismos que forman el grupo de *Cytophaga* son bacilos gramnegativos largos y esbeltos, a menudo con extremos puntiagudos, que se desplazan mediante deslizamiento (**Figura 16.36**). El género relacionado *Sporocytophaga* se parece a *Cytophaga* morfológica y fisiológicamente, pero las células forman estructuras de latencia esféricas denominadas microquistes (Figura 16.36*d*), parecidas a las generadas por algunas mixobacterias fructificantes (Sección 15.17). Están ampliamente distribuidas en agua y suelos, donde a veces pueden ser muy abundantes.

Muchas *Cytophaga* degradan polisacáridos como la celulosa (Figura 16.36*c*), agar (Figura 16.36*a*) o quitina. Los degradadores de celulosa pueden aislarse fácilmente depositando pequeños fragmentos de tierra sobre pedazos de papel de filtro de celulosa colocado sobre la superficie de medio sólido de sales minerales. Las bacterias se adhieren a las fibras de celulosa y las digieren, formando colonias diseminadas (Figura 16.36*c*). Las *Cytophaga* no producen enzimas degradadoras de celulosa (celulasas) extracelulares solubles. En cambio, sus celulasas se mantienen unidas a la cubierta celular, lo que probablemente explica por qué estas células necesitan adherirse a las fibrillas de celulosa para digerirlas.

Un cultivo puro de *Cytophaga* puede cultivarse en agar con fibras de celulosa incorporadas, donde la presencia del organismo se detecta por el aclarado que se produce en el medio conforme es digerida la celulosa (Figura 16.36 y Figura 21.36).

Las especies de *Cytophaga* y de *Sporocytophaga* son aerobios estrictos y probablemente sean responsables de gran parte de la digestión bacteriana de celulosa en ambientes aerobios naturales. Una serie de especies de *Cyto-*

phaga son patógenos de peces y pueden causar serios problemas en las piscifactorías. Dos de las enfermedades más importantes son la enfermedad columnar, causada por *Cytophaga columnaris* y el síndrome del agua fría, producido por *Cytophaga psychrophila*. Ambas enfermedades afectan preferentemente a peces en condiciones de estrés, por ejemplo aquellos que viven en aguas contaminadas o en situaciones de confinamiento y superpoblación como en piscifactorías y criaderos. Los peces infectados muestran tejidos necrosados, frecuentemente alrededor de las agallas. Esto podría explicarse por el hecho de que las especies de *Cytophaga* aisladas de peces infectados presentan normalmente una fuerte actividad proteolítica.

Las especies del género *Flexibacter*, a diferencia de las citófagas, normalmente necesitan medios complejos para crecer eficientemente y no son celulolíticas. Las células de algunas especies de *Flexibacter* también sufren cambios de morfología celular, de largos filamentos deslizantes sin pared celular a cortos bacilos sin capacidad de desplazamiento. Muchas especies están pigmentadas por los carotenoides presentes en la membrana plasmática o por pigmentos relacionados denominados flexirubinas, localizados en la membrana externa gramnegativa. Las especies de *Flexibacter* son saprófitos comunes en suelos y agua dulce, ninguno de los cuales ha sido descrito como patógeno.

Rhodothermus y *Salinibacter*

Los géneros *Rhodothermus* y *Salinibacter* están incluidos en el grupo de *Cytophaga*, pero sólo están lejanamente relacionados. *Rhodothermus* y *Salinibacter* son bacterias gramnegativas, quimioorganótrofas, aerobias estrictas y pigmentadas en rojo o amarillo. *Rhodothermus* es un termófilo, con un óptimo de temperatura cercano a los 60 °C. *Rhodothermus* crece mejor con azúcares o con polisacáridos simples o complejos. Este organismo habita fuentes termales submarinas en aguas poco profundas y también ha sido detectado en fuentes termales en tierra firme. *Rhodothermus* produce enzimas hidrolíticas termoestables con interés biotecnológico, lo que incluye, entre muchas otras, a una amilasa (que degrada almidón), una celulasa (que degrada celulosa) y una xilanasa (que degrada hemicelulosas, abundantes en las paredes celulares de las plantas).

Salinibacter es un género de bacterias rojas extremadamente halófilas, que probablemente sean las bacterias más tolerantes a la sal y las que más requieren. De hecho sus requerimientos de sal rivalizan con las de arqueas que son halófilos extremos, como *Halobacterium* (Sección 17.3). La única especie conocida es *Salinibacter ruber*, que vive en las balsas de las salinas y en otros ambientes relacionados de alta salinidad. *Salinibacter* comparte con *Halobacterium* el uso de K^+ como soluto compatible, una característica poco habitual entre halófilos del dominio bacterias (la mayoría de las bacterias halófilas sintetizan o acumulan solutos orgánicos para mantener el balance hídrico en sus entornos salinos, Sección 6.16). En contraposición a *Rhodothermus*, con su fuerte actividad hidrolítica, *Salinibacter* crece mejor utilizando aminoácidos como donadores de electrones, igual que sucede con *Halobacterium*. Por tanto y aunque filogenéticamente sean independientes, se puede ver en *Salinibacter* y *Halobacterium* un caso evidente de convergencia evolutiva, en el que las estrategias fisiológicas han convergido siguiendo un mismo patrón, probablemente como consecuencia de las exigencias específicas del ambiente extremo que comparten ambos organismos.

16.10-16.14 Minirrevisión

El grupo *Planctomyces* incluye bacterias pedunculadas y que geman, mientras que las flavobacterias son bacterias gramnegativas asociadas con animales, alimentos y suelos que se desplazan mediante flagelos o por deslizamiento. Las especies de verrucomicrobios se distinguen por sus células con múltiples prostecas. El grupo *Cytophaga* incluye bacterias quimioorganótrofas aerobias estrictas que viven en el suelo, el agua y en manantiales y otros ambientes termales.

- ¿Qué tiene de exclusivo la pared celular y la disposición del DNA en *Planctomyces*?
- ¿En qué se diferencia el pedúnculo de *Planctomyces* del pedúnculo de *Caulobacter*?
- ¿Dónde esperaría encontrar un gran número de células de *Bacteroides* en la naturaleza?
- ¿En qué tipo de hábitats esperaría encontrar *Acidobacterium*?
- Describa un método para aislar especies de *Cytophaga* de la naturaleza.
- Compare el hábitat y la fisiología de *Rhodothermus* con las de *Salinibacter*.

www.medilibros.com

IX BACTERIAS VERDES DEL AZUFRE

16.15 *Chlorobium* y otras bacterias verdes del azufre

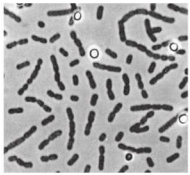
Generos clave: *Chlorobium, Chlorobaculum, Prosthecochloris, «Chlorochromatium»*

Las **bacterias verdes del azufre** son un grupo filogenéticamente definido de bacterias fotótrofas anoxigénicas, carentes de movilidad, que entre sus cepas conocidas sólo incluye especies anaerobias estrictas y fotótrofas. Este grupo está limitado en su morfología a bacilos largos o cortos (**Tabla 16.14** y **Figura 16.37**).

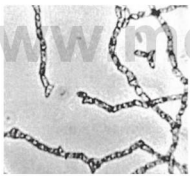
Las bacterias verdes del azufre emplean H_2S como donante de electrones, al igual que las bacterias rojas del

Tabla 16.14 Géneros y características de las bacterias verdes del azufre fotótrofas

Características	*Género*
Bacilos rectos o curvados, alguna ramificación, inmóviles, de color verde o marrón; algunas contienen vesículas gaseosas	*Chlorobium* *Chlorobaculum*
Esferas y óvalos inmóviles; forman prostecas; verdes o marrones	*Prosthecochloris*
Bacilos móviles por deslizamiento; verdes	*Chloroherpeton*



(a)



(b)

Figura 16.37 Bacterias verdes del azufre fotótrofas. *(a) Chlorobium limicola*; las células miden aproximadamente 0,8 μm de ancho. Observe los gránulos de azufre depositados extracelularmente. *(b) Chlorobium clathratiforme*, una bacteria que forma una red tridimensional; las células miden aproximadamente 0,8 μm de ancho.

azufre y lo oxidan primero hasta S^0 y luego hasta SO_4^{2-}. Pero en contraposición a las bacterias rojas del azufre, el azufre producido por las bacterias verdes del azufre se deposita en el exterior de la célula (Figuras 16.37*a* y Figura 20.17*b*). La mayoría de las especies también pueden asimilar en presencia de luz unos cuantos compuestos orgánicos (es decir, fotoheterotrofia, Sección 20.4). Sin embargo su autotrofia no está basada en las reacciones del Ciclo de Calvin, como es el caso de las bacterias rojas, sino más bien en la inversión de los distintos pasos del ciclo del ácido cítrico (Sección 20.7), lo que constituye una forma exclusiva de autotrofia.

Pigmentos y ecología

Las bacterioclorofilas presentes en las bacterias verdes del azufre incluyen siempre bacterioclorofila *a* y cualquiera de las bacterioclorofilas *c*, *d* o *e*. Estos últimos pigmentos actúan tan sólo en reacciones de captación de luz (Sección 20.2) y están localizados en estructuras características denominadas **clorosomas** (**Figura 16.38**). Los clorosomas son cuerpos oblongos ricos en bacterioclorofilas, rodeados por una fina membrana sin estructura de unidad de membrana y unidos a la membrana citoplasmática en la periferia celular (Figura 16.38 y Figura 20.7).

Los estudios sobre la transferencia de energía en las bacterias verdes del azufre han demostrado que la energía luminosa absorbida en el clorosoma por las bacterioclorofilas *c*, *d* o *e* se canaliza hacia la bacterioclorofila *a*, que se encuentra localizada en la membrana citoplasmática. Es aquí donde la energía fotosintética es transformada en ATP. Se conocen especies de bacterias verdes del azufre tanto de color verde como marrón. Estas últimas contienen bacterioclorofila *e* y carotenoides que hacen que las células en suspensión se vean de color marrón (**Figura 16.39**; Figura 20.9).

Las bacterias verdes del azufre, al igual que las bacterias rojas del azufre (Sección 15.2), viven en ambientes acuáticos en ausencia de oxígeno, especialmente en aquellos en los que abunda el H_2S (en general las bacterias verdes del azufre son más tolerantes al sulfuro que las bacterias rojas). Como el clorosoma es una estructura captadora de luz tan eficiente, se necesita poca luz para mantener las actividades fotosintéticas de las bacterias verdes del azufre y por tanto se encuentran habitualmente en lagos a mayores profundidades que cualquier otro organismo fotótrofo.

Una especie, *Chlorobaculum tepidum* (Figura 16.38) es termófila y forma densos tapices bacterianos en manantiales termales sulfurosos. *C. tepidum* es también im-

Figura 16.38 *Chlorobaculum tepidum*, una bacteria verde sulfurosa termófila. Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de una sección fina. Observe los clorosomas (flecha) en la periferia celular. Cada célula mide aproximadamente 0,7 μm de ancho.

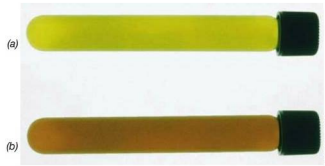


Figura 16.39 **Chlorobia verdes y marrones.** Cultivos de *(a) Chlorobaculum tepidum* y *(b) Chlorobaculum phaeobacteroides*. Las células de *C. tepidum* tienen bacterioclorofila *c* y carotenoides verdes y las células de *C. phaeobacteroides* tienen bacterioclorofila *e* y el carotenoide marrón isorenieratено.

portante porque su genoma (2.1 Mbp) ha sido secuenciado al completo —el primer genoma de un fotótrofo anoxigénico. *C. tepidum* crece rápidamente y es susceptible de manipulación genética por conjugación y por transformación. Se ha convertido en un organismo modelo para el estudio de la biología molecular de las bacterias verdes del azufre.

Consorcios de bacterias verdes del azufre

Ciertas bacterias verdes del azufre pueden formar estrechas asociaciones en pareja con bacterias quimioorganótrofas, denominadas **consorcios**. En un consorcio los dos organismos resultan beneficiados, de ahí que probablemente existan en la naturaleza una variedad de tales consorcios, formados por diferentes organismos fotótrofos y quimiótrofos. El componente fotótrofo, denominado *epibionte*, está unido físicamente a la célula no fototrófica (**Figura 16.40**), aunque no está claro cuál es el mecanismo de adhesión.

El nombre «*Chlorochromatium aggregatum*» se ha utilizado para describir el consorcio más habitual, aunque dicho nombre carezca de base taxonómica porque se refiere a dos organismos distintos en lugar de uno. El consorcio «*C. aggregatum*» es de color verde porque los epibiontes, dispuestos alrededor de una célula no fototrófica central, son bacterias verdes del azufre que contienen bacterioclorofila *c* o *d* y carotenoides verdes (Figura 16.40*e*). Un organismo similar estructuralmente llamado «*Pelochromatium roseum*» es marrón. En otros consorcios la morfología de las células epibiontes es del tipo vibrio (Figura 16.40*b*,*c*).

Algunos consorcios con bacterias verdes del azufre se han cultivado en laboratorio. De media, el consorcio «*C. aggregatum*» (Figura 16.40) tiene aproximadamente 12 epibiontes por célula central, mientras que el consorcio «*P. roseum*» tiene alrededor de 20. La prueba de que los epibiontes son de hecho bacterias verdes del azufre radica no sólo en el análisis de pigmentos, sino en que los clorosomas son claramente identificables en secciones finas de dichos epibiontes (Figura 16.40*d*) y también se dispone de pruebas moleculares. El tratamiento del consorcio con una sonda oligonucleótidica fluorescente específica para el 16S rRNA de bacterias verdes del azufre (FISH; Secciones 14.9 y 22.4) hace fluorescer a los epibiontes, pero no a la célula central (Figura 16.40*f*,*g*). Estudios realizados en el laboratorio sobre cultivos de consorcios fotótrofos también han demostrado que la célula central y los epibiontes se dividen de modo sincronizado, lo que

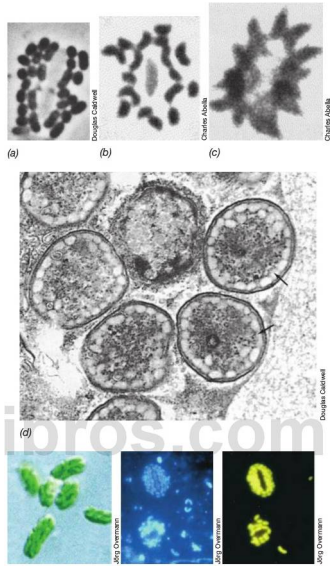


Figura 16.40 **Consorcios de bacterias verdes del azufre.** *(a-c)* Microfotografías de contraste de fase y *(d)* microfotografía con el microscopio electrónico. *(a-c)* El organismo central no fototrófo es de un color mucho más claro que las bacterias fotótrofas pigmentadas. *(d)* Observe los clorosomas (flechas). El consorcio al completo mide aproximadamente 3 μm de diámetro. *(e)* Microfotografía de contraste diferencial de células de «*Chlorochromatium aggregatum*.» *(f, g)* Microfotografías de fluorescencia. *(f)* Células teñidas con DAPI (que tiñe el DNA). *(g)* La misma preparación que en *(f)* hibridada con una sonda filogenética específica para bacterias verdes del azufre (amarillo).

www.libros.com

sugiere que los dos componentes del consorcio deben ser capaces de comunicarse entre sí.

No está claro cómo ni por qué se forman estos consorcios fotótrofos. Sin embargo, análisis de laboratorio y de campo sugieren que los epibiontes están adaptados a un rango muy estrecho de intensidades de luz y de concentración de sulfuro. La célula central podría ayudar a los fotótrofos, incapaces de desplazarse por sí sólos, a colocarse a la profundidad óptima para realizar la fotosíntesis. La célula central no fotótrofa del consorcio probablemente se beneficie al absorber los nutrientes orgánicos producidos mediante fijación fotosintética de CO_2 y secretados por los epibiontes.

16.15 Minirrevisión

Las bacterias verdes del azufre son fotótrofos anoxigénicos aerobios estrictos que forman clorosomas. Estos organismos pueden crecer a muy baja intensidad lumínica y oxidan H_2S hasta S^0 y SO_4^{2-}. Consorcios formados por bacterias verdes fotótrofas y una célula central no fotótrofa son comunes en ambientes acuáticos ricos en sulfuro.

- ¿Qué pigmentos hay en el clorosoma?
- ¿Qué caracteriza la autotrofia de las bacterias verdes del azufre (Sección 20.7)?
- ¿Qué pruebas se han encontrado de que los epibiontes en los consorcios de bacterias verdes de hecho sean bacterias verdes del azufre?

X LAS ESPIROQUETAS

16.16 Espiroquetas

Géneros clave: *Spirochaeta, Treponema, Cristispira, Leptospira, Borrelia*

Las **espiroquetas** son bacterias gramnegativas, móviles, enrolladas en forma de espiral cerrada, normalmente delgadas y sinuosas (**Figura 16.41**). Estas bacterias de morfología distintiva componen un importante linaje filogenético de las bacterias (Figura 15.1). Las espiroquetas están presentes en muchos ambientes acuáticos y en animales. Algunas causan enfermedades, entre ellas la sífilis, una importante enfermedad humana de transmisión sexual (Sección 34.13).

Las células de las espiroquetas están formadas por un cilindro citoplasmático, que incluye las regiones envueltas por la pared celular y la membrana citoplásmica. La movilidad la confieren uno o más flagelos que emergen de ambos polos. Sin embargo y a diferencia de los típicos flagelos bacterianos (Sección 4.13), los flagelos de las espiroquetas se pliegan desde el polo hacia el cilindro protoplasmático y se mantienen localizados en el periplasma de la célula; es por ello que se denominan endoflagelos (**Figura 16.42**). Tanto los endoflagelos como el cilindro protoplasmático están envueltos por una membrana multicapa flexible denominada *vaina externa* (Figura 16.42*b*).

Movilidad en las espiroquetas

Las espiroquetas tienen una forma de movilidad inusual. Cada endoflagelo está anclado en uno de sus extremos y se extiende alrededor de dos tercios de la longitud celular. Los endoflagelos tienen movimiento rotatorio, igual que los flagelos bacterianos típicos (Sección 4.13). Sin embargo, como el cilindro protoplasmático es rígido mientras que la vaina externa es flexible, cuando los dos endoflagelos giran en la misma dirección, el cilindro protoplasmático gira en dirección opuesta, generando torsión en la célula, como ilustra la Figura 16.42*b*. Todo esto hace que las espiroquetas se muevan mediante movimientos de flexión o de látigo, como consecuencia del par de torsión ejercido en ambos extremos del cilindro protoplasmático por el giro de los flagelos (Figura 16.42*b*). De modo que aunque los endoflagelos no se extiendan separándose de la célula su rotación proporciona movilidad, si bien de carácter más irregular o espasmódico que la proporcionada por los flagelos de otras bacterias.

Clasificación

Las espiroquetas se clasifican en ocho géneros, principalmente en base a su hábitat, patogenicidad, filogenia y características fisiológicas y morfológicas. La **Ta-**

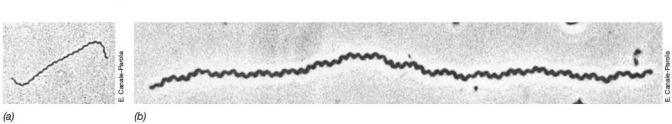


Figura 16.41 Morfología de las espiroquetas. Dos espiroquetas observadas con el mismo aumento, que ilustran el amplio rango de tamaños de este grupo. *(a) Spirochaeta stenostrepta*, por microscopía de contraste de fase. Cada célula mide aproximadamente 0,25 μm de diámetro. *(b) Spirochaeta plicatilis.* Cada célula mide aproximadamente 0,75 μm de diámetro y hasta 250 μm (0,25 mm) de longitud.

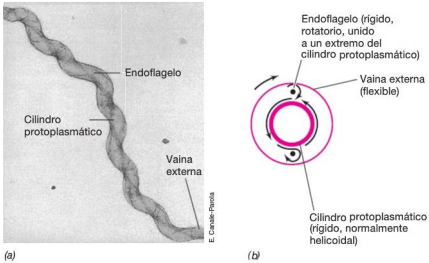


Figura 16.42 Movilidad en las espiroquetas. *(a)* Microfotografía con el microscopio electrónico de una preparación por tinción negativa de *Spirochaeta zuelzerae*, que muestra la posición del endoflagelo. Cada célula mide aproximadamente 0,3 μm de diámetro. *(b)* Sección de una célula de espiroqueta, que muestra la disposición del cilindro protoplasmático, los endoflagelos y la vaina externa. También muestra el modo en el que la rotación del endoflagelo rígido puede generar la rotación del cilindro protoplasmático y (en dirección opuesta) la rotación de la vaina externa. Si la vaina está libre, la célula girará sobre su eje longitudinal y se moverá a lo largo de dicho eje. Si la vaina está en contacto con una superficie sólida, la célula se arrastrará hacia adelante.

bla 16.15 enumera los géneros principales junto a sus características.

Spirochaeta y *Cristispira*

El género *Spirochaeta* comprende espiroquetas de vida libre, tanto anaerobias como anaerobias facultativas. Estos organismos son comunes en ambientes acuáticos, como el agua y fango de ríos, estanques, lagos y océanos. *Spirochaeta plicatilis* (Figura 16.41*b*) es una espiroqueta bastante grande que ocupa hábitats marinos y de agua dulce que contengan H_2S. Los endoflagelos de *S. plicatilis* están reunidos en un haz que se enrosca alrededor del cilindro protoplasmático enrollado. En cada polo de esta espiroqueta hay entre 18 y 20 flagelos. Otra especie, *Spirochaeta stenostrepta,* ha sido cultivada en laboratorio y se muestra en la Figura 16.41*a*. Es un anaerobio estricto que se encuentra habitualmente en fangos negros ricos en H_2S. Fermenta azúcares por medio de la ruta glicolítica

www.medilibros.com

Tabla 16.15 Géneros de espiroquetas y sus características

Género	*Dimensiones (μm)*	*Características generales*	*Número de endoflagelos*	*Hábitat*	*Enfermedades*
Cristispira	30-150 × 0,5-3,0	3-10 vueltas de espira; manojos de endoflagelos visibles por microscopía de contraste de fase	>100	Tracto digestivo de moluscos; no ha sido cultivado	No se le conocen
Spirochaeta	5-250 × 0,2-0,75	Anaerobios o aerobios facultativos; vueltas de espiral flojas o apretadas	2-40	Acuáticas, de vida libre, agua dulce y salada	No se le conocen
Treponema	5-15 × 0,1-0,4	Microaerofílicos or anaerobios; vueltas de espiral helicoidales o aplanadas con amplitudes de hasta 0.5 μm	2-32	Comensal o parasítica en humanos y otros animales	Sífilis, disentería porcina, pinta
Borrelia	8-30 × 0,2-0,5	Microaerofílicos; 5-7 vueltas de aproximadamente 1 μm de amplitud	7-20	Humanos y otros mamíferos, artrópodos	Fiebres recurrentes, enfermedad de Lyme, borreliosis bovina y ovina
Leptospira	6-20 × 0,1	Aerobios, fuertemente enrollados o curvados con extremos en gancho; requiere ácidos grasos de cadena larga	2	Vida libre o parásitos en humanos y otros mamíferos	Leptospirosiso
Leptonema	6-20 × 0,1	Aerobios; no requiere ácidos grasos de cadena larga	2	Vida libre	No se le conocen
Brachyspira	7-10 × 0,35-0,45	Anaerobios	8-28	Intestino de animales de sangre caliente	Diarrea en pollos y cerdo
Brevinema	4-5 × 0,2-0,3	Microaerofílicos, por análisis de rRNA 16S determina una bifurcación profunda en el linaje de las espiroquetas (Figura 15.1)	2	Sangre y otros tejidos de ratones y musaraña	Infeccioso para ratones de laboratorio

hasta etanol, acetato, lactato, CO_2 y H_2. La especie *Spirochaeta aurantia* es un aerobio facultativo con pigmentación anaranjada, que fermenta azúcares en anaerobiosis por medio de la ruta glicolítica y que oxida azúcares en aerobiosis, normalmente hasta CO_2 y acetato.

El género *Cristispira* (**Figura 16.43**) incluye organismos con una distribución única ya que viven fundamentalmente en el estilo cristalino de ciertos moluscos, como almejas y ostras. El estilo cristalino es un bastón semisólido y flexible situado en un saco del tracto digestivo, que al rotar contra una superficie dura de dicho aparato digestivo mezcla y muele las pequeñas partículas de alimento. Al ser grandes espiroquetas, las cristispiras son fácilmente detectables mediante el microscopio dentro del estilo cristalino del molusco, mientras giran rápidamente adelante y atrás como un sacacorchos. *Cristispira* vive en moluscos de agua dulce y de agua marina, pero no está presente en todas las especies de moluscos. Desafortunadamente, *Cristispira* no ha podido ser cultivada en el laboratorio y por tanto no conocemos los motivos fisiológicos por los cuales está restringida a este hábitat tan particular.

Treponema

El género *Treponema* incluye espiroquetas anaerobias, que se asocian a un hospedador y que actúan como comensales o parásitos de humanos y animales. *Treponema pallidum*, el agente causante de la sífilis (Sección 34.13), es la especie más conocida de *Treponema*. Se diferencia morfológicamente de otras espiroquetas; la célula no es helicoidal sino plana y ondulada. La célula de *T. pallidum* es notablemente delgada y mide tan sólo 0,2 μm de diámetro. Por este motivo desde hace mucho se emplea la microscopía de fondo oscuro para examinar exudados de presuntas lesiones sifilíticas (Figura 34.30).

En la naturaleza, *T. pallidum* parece restringida al hombre, aunque se pueden reproducir lesiones experimentales en conejos y monos. Aunque nunca se ha cultivado en el laboratorio, mediante experimentos con animales se ha podido determinar que las células virulentas de *T. pallidum* (aisladas de conejos infectados) contienen un sistema de citocromos y de hecho son microaerófilas.

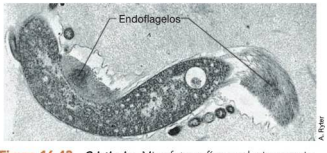


Figura 16.43 ***Cristispira.*** Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina de una célula de *Cristispira*, una gran espiroqueta. Las células miden aproximadamente 2 μm de diámetro. Observe los numerosos endoflagelos.

Estas mismas células también han proporcionado suficiente DNA como para secuenciar el genoma completo de *T. pallidum* (1.14 Mpb).

Otras especies del género *Treponema* son organismos comensales de la cavidad oral del hombre y pueden encontrarse en frotis obtenidos de entre los dientes o del espacio entre los dientes y las encías. *Treponema denticola* es un treponema muy abundante en la cavidad oral, que fermenta aminoácidos como cisteína y serina, generando acetato como principal ácido de fermentación, además de Co_2, NH_3 y H_2S.

Se han aislado especies del género *Treponema* con un metabolismo inusual de la parte posterior del intestino de las termitas. Este ambiente es muy celulolítico ya que las termitas viven principalmente de madera. A partir de la fermentación de la glucosa liberada de la celulosa se produce H_2 y CO_2. *Treponema primitia* transforma dicho H_2 y CO_2 en acetato; es decir, es un acetógeno (la acetogénesis se analiza en la Sección 21.9). Este es el primer caso descrito de la existencia de este tipo de metabolismo energético en un grupo filogenético de bacterias distinto a *Clostridium* y organismos relacionados. La espiroqueta *Treponema azotonutricium*, que habita en la parte posterior del intestino, fija nitrógeno molecular (fijación de N_2; Sección 20.14), lo que constituye una capacidad que tampoco estaba descrita entre las espiroquetas.

También hay espiroquetas en el rumen, el órgano digestivo de los rumiantes (Sección 24.10). *Treponema saccharophilum* (**Figura 16.44**) es una espiroqueta pectinolítica de gran tamaño que habita el rumen bovino. *T. saccharophilum* es un anaerobio estricto que fermenta pectina, almidón, inulina y otros polisacáridos vegetales. Esta espiroqueta y otras similares podrían estar jugando un importante papel en la conversión de polisacáridos vegetales hasta ácidos grasos, que puedan ser utilizados por el rumiante como fuente de energía (Sección 24.10). Aunque el género *Treponema* constituye una unidad filogenética, las diferencias entre la proporción GC de *T. pallidum* y la de otros treponemas indica una considerable heterogeneidad entre estos organismos.

Borrelia

La mayoría de las especies del género *Borrelia* son patógenos de animales o humanos. *Borrelia recurrentis* es el agente causal de las fiebres recurrentes en humanos y se transmite por un insecto que actúa como vector, normalmente por piojos. Las fiebres recurrentes se caracterizan por fiebre alta y dolor muscular generalizado que dura entre 3-7 días, seguidos por un período de convalecencia de entre 7-9 días. En ausencia de tratamiento, la fiebre se repite entre dos y tres ciclos más (de ahí el nombre de fiebres recurrentes) y causa la muerte por hemorragia y fallo multiorgánico en hasta el 40% de los individuos infectados. Afortunadamente este organismo es bastante sensible a la tetraciclina y si la enfermedad se diagnostica correctamente, el tratamiento es muy sencillo. Otras especies de *Borrelia* son importantes en veterinaria ya

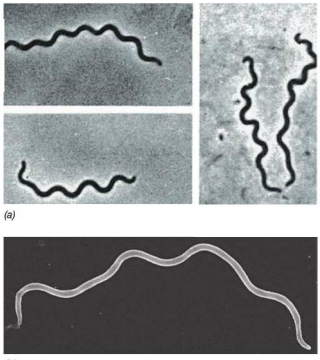


Figura 16.44 ***Treponema* y *Borrelia*.** *(a)* Microfotografías de contraste de fase de *Treponema saccharophilum*, una gran espiroqueta pectinolítica del rumen bovino. Cada célula mide aproximadamente 0,4 µm de diámetro. Izquierda, células enrolladas con regularidad; derecha, células enrolladas irregularmente. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de barrido de *Borrelia burgdorferii*, el agente causal de la enfermedad de Lyme.

que producen enfermedades en ganado, ovejas, caballos y pájaros. En la mayoría de estas enfermedades la bacteria se transmite a través de garrapatas.

Borrelia burgdorferi (Figura 16.44*b*) es el agente causal de la enfermedad de Lyme, una enfermedad transmitida por garrapatas que infecta humanos y animales. La enfermedad de Lyme se analiza en la Sección 35.4. *B. burgdorferi* también resulta interesante porque es una de las pocas bacterias que se conocen con un cromosoma lineal (en lugar de circular). El genoma más bien pequeño de *B. burgdorferi* (1,44 Mpb) ha sido secuenciado al completo.

Leptospira y *Leptonema*

Los géneros *Leptospira* y *Leptonema* incluyen espiroquetas aerobias estrictas que utilizan ácidos grasos de cadena larga (por ejemplo ácido oleico) como donantes de electrones y como fuente de carbono. Con pocas excepciones, estos son los únicos sustratos que las leptospiras utilizan para su crecimiento. Las células de *Leptospira* son delgadas, muy enrolladas… y normalmente están dobladas en los extremos para formar un gancho semicircular. Hasta el momento existen varias especies incluidas en este grupo, algunas de vida libre y muchas parásitas. Dos especies importantes son *Leptospira interrogans* (parásita) y *Leptospira biflexa* (de vida libre). Las cepas de *L. interrogans* son parásitas de humanos y animales. Los hospedadores naturales de la mayoría de las leptospiras son roedores, aunque perros y cerdos también son los portadores principales de ciertas cepas.

En el hombre la enfermedad más habitual producida por leptospiras es la leptospirosis, un síndrome en el que la bacteria se localiza en los riñones y puede causar un fallo renal y la muerte. Las leptospiras normalmente entran en el cuerpo a través de las mucosas o bien a través de heridas en la piel. Después de multiplicarse transitoriamente en diversas partes del cuerpo, este organismo se dirige a los riñones y al hígado y produce nefritis e ictericia. La bacteria sale del cuerpo por la orina; la infección de otro individuo suele producirse por contacto con orina infectada.

Es posible un tratamiento con penicilina, estreptomicina o tetraciclina, si bien la total eliminación del organismo del riñón puede implicar administraciones prolongadas. Los animales domésticos, como por ejemplo los perros, son vacunados contra la leptospirosis utilizando una cepa virulenta muerta, incluida en la vacuna múltiple contra el moquillo-leptospira-hepatitis. En seres humanos las medidas preventivas se centran en eliminar la enfermedad de los animales, eliminando de este modo el reservorio de la enfermedad.

www.libros.com

16.16 Minirrevisión

Las espiroquetas son bacterias móviles helicoidales, enrolladas en forma de espiral cerrada, que incluyen tanto especies de vida libre como especies patógenas.

- ¿Qué diferencias y parecidos hay, en cuanto a estructura y función, entre los endoflagelos de las espiroquetas y los flagelos de *Escherichia coli*?
- Nombre dos enfermedades del hombre causadas por espiroquetas.
- ¿Cuál es el hábitat de la espiroqueta *Cristispira*?

XI DEINOCOCOS

16.17 *Deinococcus* y *Thermus*

Géneros clave: *Deinococcus, Thermus*

El grupo de los deinococos incluye pocos géneros, siendo los más conocidos *Deinococcus* y *Thermus*. Este último está formado por bacterias termófilas quimioorganótrofas, incluyendo a *Thermus aquaticus*, el organismo del que se obtiene la polimerasa de DNA denominada *Taq*. Al ser tan termoestable, esta enzima es la más utilizada en la técnica de amplificación de DNA denominada reacción

en cadena de la polimerasa (*polymerase chain reaction* o PCR), descrita en la Sección 12.8.

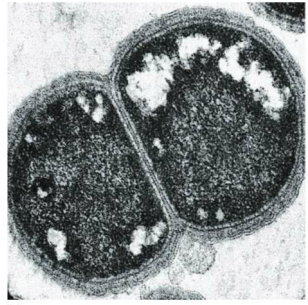
Los deinococos son cocos grampositivos que contienen una forma poco habitual de peptidoglicano, en el cual la ornitina sustituye al ácido diaminopimélico en los enlaces cruzados con el ácido murámico (Sección 4.6). Se han descrito una serie de especies de *Thermus* y *Deinococcus*, todas las cuales crecen aeróbicamente mediante el catabolismo de azúcares, aminoácidos y ácidos orgánicos o diversas mezclas complejas. Centraremos el resto de nuestro análisis en *Deinococcus*.

El género *Deinococcus* comprende cuatro especies de cocos grampositivos; *Deinococcus radiodurans* es la especie más conocida. La pared celular de *D. radiodurans* es estructuralmente compleja y está compuesta por varias capas, lo que incluye una membrana externa (**Figura 16.45**) que normalmente sólo está presente en bacterias gramnegativas (Sección 4.7). Sin embargo, en contraposición a la membrana externa de bacterias gramnegativas como *Escherichia coli*, la membrana externa de *D. radiodurans* carece de lípido A. Este organismo habita principalmente en el suelo y también puede aislarse de partículas de polvo.

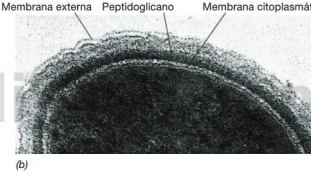
Resistencia de *Deinococcus radiodurans* a la radiación

La mayoría de los deinococos son rojos o rosas debido a los carotenoides y muchas cepas son muy resistentes a la radiación UV y a la desecación. Su resistencia a la radiación puede aprovecharse para el aislamiento de deinococos. Estos notables organismos pueden aislarse por selección a partir de suelos, carne picada, polvo y aire filtrado, si se somete a la muestra correspondiente a una intensa radiación UV (o incluso a radiación gamma) y luego se siembra en medio rico con triptona y extracto de levadura. Como muchas cepas de *Deinococcus radiodurans* son más resistentes a la radiación incluso que las endosporas bacterianas, el tratamiento de una muestra con una dosis alta de radiación básicamente la esteriliza con la única excepción de las células de *D. radiodurans*, por lo que el aislamiento de deinococos resulta bastante sencillo. Por ejemplo, las células de *D. radiodurans* pueden sobrevivir a la exposición de hasta 15.000 grays (Gy) de radiación ionizante (1 Gy=100 rad). Esto debiera ser suficiente para destruir el cromosoma del organismo en cientos de fragmentos (en contraposición, un ser humano puede morir por exposición a menos de 10 Gy).

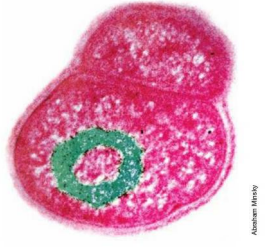
Además de su impresionante resistencia a la radiación, *D. radiodurans* es resistente al efecto mutagénico de muchos otros mutágenos. Los únicos mutágenos químicos que parecen hacer efecto sobre *D. radiodurans* son productos del tipo de la nitrosoguanidina, que induce deleciones en el DNA. Aparentemente, las deleciones no se reparan en este organismo tan eficientemente como las mutaciones puntuales y este es el método apropiado para aislar mutantes de *D. radiodurans*.



(a)



(b)



(c)

Figura 16.45 ***Deinococcus radiodurans*, un coco resistente a la radiación.** Cada célula mide aproximadamente 2,5 μm de diámetro. *(a)* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de *D. radiodurans*. Observe la capa de la membrana externa. *(b)* Microfotografía de gran aumento de la pared. *(c)* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de células de *D. radiodurans*, coloreada para mostrar la morfología toroidal del nucleoide (verde).

Reparación de DNA en *Deinococcus radiodurans*

El estudio de *D. radiodurans* ha demostrado que es muy eficiente reparando el DNA dañado. En *D. radiodurans* existen varias enzimas distintas para la reparación del DNA. Además de la enzima reparadora de DNA RecA (Sección 11.9), *D. radiodurans* tiene varios sistemas de reparación independientes de RecA, que son capaces de reparar cortes de cadena simple y de doble cadena así como escindir y reparar bases incorporadas incorrectamente. De hecho sus procesos de reparación son tan eficientes que incluso pueden reensamblar el cromosoma a partir de sus fragmentos.

Se cree que la peculiar disposición del DNA en las células de *D. radiodurans* puede contribuir a su resistencia a la radiación. Las células de *D. radiodurans* siempre aparecen como parejas o tétradas (Figura 16.45*a*). En lugar de tener el DNA distribuido por todo el interior de la célula, como sucede con el nucleoide típico, el DNA de *D. radiodurans* está organizado en una estructura toroidal en forma de anillo (Figura 16.45*c*). La reparación está facilitada por la fusión de nucleoides procedentes de compartimentos adyacentes ya que esto facilita la recombinación homóloga. Gracias a este proceso de recombinación a gran escala se puede recuperar un cromosoma reparado, de manera que la célula que lo contenga puede seguir creciendo y dividiéndose.

XII BACTERIAS VERDES NO DEL AZUFRE

Las bacterias verdes no del azufre son filogenéticamente distintas de otras bacterias y tan sólo incluyen unos pocos géneros, el más conocido de los cuales es el fotótrofo anoxigénico *Chloroflexus*; todos los representantes cultivados en el laboratorio son termófilos. *Thermomicrobium* es un miembro quimiótrofo de este grupo y es un bacilo gramnegativo aerobio estricto, que crece a una temperatura óptima de 75 °C en un medio complejo. Además de su originalidad filogenética, *Thermomicrobium* también resulta interesante por sus lípidos de membrana. Recuerde que los lípidos de los dominios bacterias y *Eukarya* contienen ácidos grasos esterificados con glicerol (Sección 3.4 y 4.3). En contraposición, los lípidos de *Thermomicrobium* están formados por 1,2-dialcoholes en lugar de glicerol y no tienen enlaces tipo ester ni tipo éter (**Figura 16.46**). Además, las células de *Thermomicrobium* resultan inusuales entre las especies de dominio *Bacteria* porque carecen de peptidoglicano, el polímero de pared que caracteriza a este dominio (Secciones 4.6 y 14.8).

16.18 *Chloroflexus* y organismos relacionados

Géneros clave: *Chloroflexus, Heliothrix, Roseiflexus*

Chloroflexus y la mayoría de bacterias verdes no del azufre (que deben su nombre a la fisiología de *Chloroflexus*, como veremos más tarde) son bacterias filamentosas termófilas que, junto con cianobacterias, forman gruesos tapices bacterianos en manantiales sulfurosos neutrales o alcalinos (**Figura 16.47**; Figura 22.18). También se han encontrado organismos no termófilos parecidos a *Chloroflexus* en tapices microbianos marinos.

Aunque es un fotótrofo anoxigénico, *Chloroflexus* puede considerarse un fotótrofo «híbrido», en tanto que su mecanismo fotosintético muestra rasgos propios tanto de las bacterias verdes del azufre (Sección 16.15) como de las bacterias rojas fotótrofas. Al igual que las bacterias verdes del azufre, *Chloroflexus* tiene bacterioclorofila *c* y clorosomas (Figura 16.38). Sin embargo la bacterioclorofila *a* localizada en la membrana citoplasmática de las células de *Chloroflexus* está dispuesta de tal modo que forma un centro de reacción fotosintético parecido estructuralmente al de las bacterias rojas (en claro contraste, el centro de reacción de las bacterias verdes del azufre es estructuralmente bastante diferente; Figuras 20.7 y 20.18).

Debido a su filogenia y a su particular mecanismo de autotrofía (que analizaremos después), es posible que *Chloroflexus* sea un descendiente moderno de los fotótrofos primitivos, que quizás evolucionaron primero un centro de reacción fotosintético y más tarde obtuvieron los genes específicos del clorosoma por transferencia horizontal. Desde un punto de vista filogenético, *Chlo-*

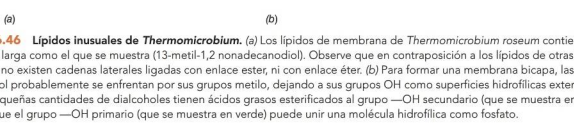
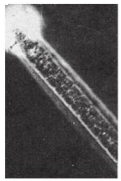


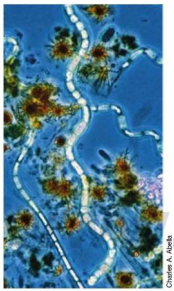
Figura 16.46 Lípidos inusuales de *Thermomicrobium*. *(a)* Los lípidos de membrana de *Thermomicrobium roseum* contienen dioles de cadena larga como el que se muestra (13-metil-1,2 nonadecanodiol). Observe que en contraposición a los lípidos de otras bacterias o arqueas, no existen cadenas laterales ligadas con enlace ester, ni con enlace éter. *(b)* Para formar una membrana bicapa, las moléculas de dialcohol probablemente se enfrentan por sus grupos metilo, dejando a sus grupos OH como superficies hidrofílicas externa e interna. Pequeñas cantidades de dialcoholes tienen ácidos grasos esterificados al grupo —OH secundario (que se muestra en rojo), mientras que el grupo —OH primario (que se muestra en verde) puede unir una molécula hidrofílica como fosfato.

www.medi

(a)



(b)



(c)

(d)

Figura 16.47 **Bacterias verdes no del azufre.** *(a)* Microfotografía de *Chloroflexus aurantiacus*, un fotótrofo termófilo. Cada célula mide aproximadamente 1 μm de diámetro. *(b)* Microfotografía de contraste de fase de *Oscillochloris*, un fotótrofo de gran tamaño. Cada célula mide aproximadamente 5 μm de ancho. El material con alto contraste es un anclaje, que se emplea para adherirse. *(c)* Microfotografía en color de los filamentos de una especie de *Chloronema* creciendo en un lago estratificado en Michigan. Estas células de *Chloronema* forman filamentos ondulados de aproximadamente 2,5 μm de diámetro. *(d)* Cultivos de *C. aurantiacus* (derecha) y *Roseiflexus* (izquierda). *Roseiflexus* es amarillo porque carece de bacterioclorofila *c* y de clorosomas.

roflexus es claramente la más antigua bacteria fotótrofa conocida.

Fisiología de *Chloroflexus*

Fisiológicamente, *Chloroflexus*, como las bacterias rojas no del azufre, puede crecer como fotoautótrofo; sin embargo, crece mejor fototróficamente cuando tiene disponibles compuestos orgánicos como fuente de carbono (fotoheterotrofía). *Chloroflexus* también crece bien en la oscuridad como un quimioorganótrofo mediante respiración aeróbica. Es interesante resaltar, considerándolo a la luz de la posición evolutiva de *Chloroflexus* como el más antiguo de los fotótrofos anoxigénicos, que la autotrofía en *Chloroflexus* se basa en la ruta del hidroxipropionato de incorporación de CO_2, que es exclusiva de este organismo y de unos pocos más filogenéticamente primitivos. Analizaremos la bioquímica de esta nueva ruta autotrófica en la Sección 20.7.

Otras bacterias verdes no del azufre

Además de *Chloroflexus*, otras bacterias verdes no del azufre son el termófilo *Heliothrix* y los mesófilos con grandes células *Oscillochloris* (Figura 16.47*b*) y *Chloronema* (Figura 16.47*c*). *Oscillochloris* y *Chloronema* son inusuales porque tienen células más bien grandes, entre 2-5 μm de ancho y hasta varios cientos de μm de largo (Figura 16.47*c*). Los miembros de ambos géneros habitan lagos de agua dulce con niveles bajos de sulfuro, junto a otras especies de bacterias verdes o rojas del azufre.

Dos géneros del filum de las bacterias verdes no del azufre, *Roseiflexus* y *Heliothrix*, se diferencian llamativamente de *Chloroflexus*. Estos fotótrofos carecen de bacterioclorofila *c* y de clorosomas, de manera que se parecen más a las bacterias rojas fotótrofas (Sección 15.2) que a *Chloroflexus*. A pesar de esta clara diferencia en su conjunto de pigmentos, *Chloroflexus*, *Roseiflexus* y *Heliothrix* tienen muchos otros rasgos en común. Esto incluye su morfología filamentosa y su estilo de vida termófilo. Y si, como se ha propuesto, *Chloroflexus* obtuvo los clorosomas y los genes para la síntesis de la bacterioclorofila *c* por transferencia horizontal desde las bacterias verdes del azufre, es posible que *Chloroflexus* y *Roseiflexus* hayan sido en un algún momento fenotípicamente indistinguibles. Se dispone de cultivos puros de *Roseiflexus*, pero no de *Heliothrix*. Las células de *Roseiflexus* son filamentosas y sus cultivos son amarillo anaranjados debido a su gran cantidad de pigmentos carotenoides y a su carencia de bacterioclorofila *c* (Figura 16.47*d*).

16.17-16.18 Minirrevisión

Deinococcus y *Chloroflexus* son géneros clave en distintos linajes principales de bacterias. *Deinococcus radiodurans* es el organismo más resistente a la radiación de todos los conocidos y *Chloroflexus* es un fotótrofo anoxigénico que muestra características fotosintéticas propias tanto de bacterias verdes del azufre como de bacterias rojas del azufre.

- ¿Cómo evita *Deinococcus radiodurans* la muerte por altos niveles de radiación?
- ¿De qué manera *Chloroflexus* y *Roseiflexus* se parecen a *Chlorobium*?
- ¿Qué característica exclusiva presenta *Thermomicrobium*?

XIII BACTERIAS HIPERTERMÓFILAS

Cerca de la hipotética raíz del árbol filogenético de bacterias se congregan tres grupos de bacterias hipertermófilas (Figuras 14.16 y 15.1). Cada grupo está formado por uno o dos géneros principales y el rasgo fisiológico clave de la mayoría de los miembros de estos géneros es su carácter hipertermófilo —su temperatura óptima de crecimiento supera los 80 °C (Secciones 6.12 y 6.14).

16.19 *Thermotoga* y *Thermodesulfobacterium*

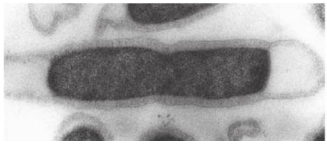
Géneros clave: *Thermotoga, Thermodesulfobacterium*

Thermotoga es un bacilo hipertermófilo capaz de crecer a temperaturas de hasta 90 °C (óptima, 80 °C). Las células de *Thermotoga* están cubiertas por una envoltura tipo vaina denominada *toga* (**Figura 16.48a**), presentan tinción gramnegativa y no producen esporas. *Thermotoga* es un quimioorganótrofo anaerobio fermentativo, que cataboliza azúcares y polímeros como almidón y produce lactato, acetato, CO_2 y H_2 como productos de fermentación. Este organismo también puede crecer mediante respiración anaerobia, utilizando H_2 como donante de electrones e ión férrico (Fe^{3+}) como aceptor de electrones. Se han aislado especies de *Thermotoga* en manantiales termales terrestres y en chimeneas hidrotermales marinas.

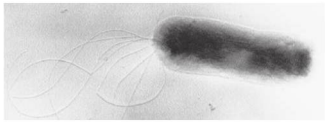
El genoma de *Thermotoga* ha sido secuenciado por completo y resulta interesante que este organismo contenga muchos genes que muestran una notable homología con genes de arqueas hipertermófilas. De hecho, más del 20% de los genes de *Thermotoga* se han obtenido probablemente por transferencia horizontal (Sección 13.11) de especies hipertermófilas de arqueas. Se ha propuesto que en los ambientes extremadamente calientes donde coexisten ambos tipos de bacterias *Thermotoga* experimentó un considerable intercambio horizontal de genes con especies de arqueas, obteniendo así varios genes útiles para sobrevivir en estas condiciones tan extremas. Aunque en los genomas de otras bacterias se han identificado unos cuantos genes similares a los de arqueas y viceversa, hasta el momento sólo en *Thermotoga* se ha podido detectar un intercambio tan extenso de genes por transferencia horizontal entre dominios.

Thermodesulfobacterium

Thermodesulfobacterium (**Figura 16.49a**) es una bacteria termófila y reductora de sulfato, que constituye en el árbol filogenético un filum independiente, situado entre *Thermotoga* y *Aquifex* (Figura 15.1). Aunque no es un verdadero termófilo ya que su temperatura óptima de crecimiento es de tan sólo 70 °C, *Thermodesulfobacterium* es la más termofílica de todas las bacterias reductoras del sulfato conocidas (la arqueobacteria reductora de sulfato *Archaeoglobus* se considera un auténtico hipertermófilo, Sección 17.7). Al igual que el mesófilo reductor de sulfato *Desulfovibrio* (Sección 15.18), *Thermodesulfobacterium* es un anaerobio estricto y no pue-

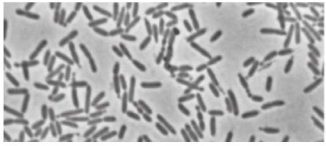


(a)

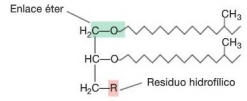


(b)

Figura 16.48 **Bacterias hipertermófilas.** *(a) Thermotoga maritima* —temperatura óptima, 80 °C. Observe la cubierta externa, denominada toga. *(b) Aquifex pyrophilus* —temperatura óptima, 85 °C. Las células de *Thermotoga* (sección fina) miden 0,6 × 3,5 μm; las células de *Aquifex* (microfotografía de una criofractura) miden 0,5 × 2,5 μm



(a)



(b)

Figura 16.49 ***Thermodesulfobacterium.*** *(a)* Microfotografía de sus células. *(b)* Estructura de uno de los lípidos de *T. mobile*. Observe que aunque las dos cadenas laterales hidrofóbicas presentan enlaces éter, no son unidades de fitanilo como en arqueas. «R» designa un residuo hidrofílico, como un grupo fosfato.

www.elibros.com

de utilizar acetato como donante de electrones para su metabolismo energético. En su lugar, *Thermodesulfobacterium* utiliza compuestos como el lactato, piruvato y etanol como donantes de electrones, reduciendo SO_4^{2-} hasta H_2S.

Un inusual rasgo bioquímico de las especies de *Thermodesulfobacterium* es la presencia de lípidos con enlaces éter. Recuerde que dichos lípidos son un sello distintivo de las arqueas y que una cadena poliisoprenoídica C_{20} (fitanilo) reemplaza al ácido graso como cadena lateral en los lípidos de arqueas (Secciones 4.3 y 14.8). Los lípidos unidos con enlace éter de *Thermodesulfobacterium* son inusuales en tanto que las cadenas laterales del glicerol no son grupos fitanilo como lo son en arqueas, sino que están formados por una cadena C_{17} específica, junto a ciertos ácidos grasos (Figura 16.49*b*).

Así que en *Thermodesulfobacterium* nos encontramos con un linaje filogenético muy antiguo (Figura 15.1) y un perfil lipídico que combina rasgos de bacterias y de arqueas (Figura 16.49*b*). En *Thermotoga* podría tratarse de un caso de flujo genético horizontal desde arqueas hacia bacterias. Sin embargo la bacteria *Ammonifex*, que es un miembro de las bacterias grampositivo y termófilo que crece anaeróbicamente por oxidación de H_2 acoplada a la reducción de NH_3^- hasta NH_3, también tiene lípidos como los de *Thermodesulfobacterium*. Por tanto, los lípidos ligados con enlaces éter podrían ser más frecuentes entre las bacterias que lo que se ha creído hasta ahora.

16.20 *Aquifex, Thermocrinis* y organismos relacionados

Géneros clave: *Aquifex, Thermocrinis*

El género *Aquifex* (Figura 16.48*b*) es un hipertermófilo, quimiolitótrofo y autótrofo estricto, que es la más termófila de todas las bacterias conocidas. Diversas especies de *Aquifex* utilizan H_2, S^0 o $S_2O_3^{2-}$ como donadores de electrones y O_2 o NO_3^- como aceptores de electrones; estas células habitan ambientes de hasta 95 °C de temperatura (con un óptimo a 85 °C). *Aquifex* sólo puede soportar concentraciones de O_2 muy bajas, pese a lo cual sigue considerándose (junto a unas cuantas especies de arqueas, Secciones 17.5 y 17.9) uno de los pocos hipertermófilos aerobios (o más exactamente microaerofilos) que se conocen. El estudio de la nutrición de las especies de *Aquifex* ha demostrado que son totalmente incapaces de crecer como quimioorganótrofos a partir de compuestos orgánicos, lo que incluye mezclas complejas como extractos de levadura o de carne. *Hydrogenobacter* es un organismo relacionado con *Aquifex*, que muestra casi las mismas propiedades, excepto que es un aerobio estricto.

La autotrofía en *Aquifex* se basa en las enzimas del ciclo inverso del ácido cítrico, una serie de reacciones que sólo se habían descrito previamente dentro del dominio bacterias en las bacterias verdes del azufre (Sección 16.15 y Sección 20.7). Se ha secuenciado el genoma completo de *Aquifex aeolicus*, cuyo estilo de vida quimiolitótrofo y autótrofo se mantiene gracias a un genoma muy pequeño de tan sólo 1.55 Mpb (un tercio del tamaño del genoma de *Escherichia coli*).

El descubrimiento de que tantas especies hipertermófilas de arqueas y bacterias, como por ejemplo *Aquifex*, son quimiolitótrofos del H_2, en combinación con el hecho de que se separan como linajes muy antiguos en sus respectivos árboles filogenéticos (Figuras 14.16, 15.1 y 17.1), sugiere que el H_2 fue un donante de electrones clave para los organismos primitivos en las condiciones ambientales de la Tierra primigenia (Secciones 14.23 y 17.15). La Figura 14.8 muestra un modelo sencillo sobre el uso de H_2 para generar una fuerza protón motriz y en consecuencia energía en forma de ATP.

Thermocrinis

Thermocrinis (**Figura 16.50**) es un pariente interesante de *Aquifex* e *Hydrogenobacter*. Este organismo es hipertermófilo (temperatura óptima de 80 °C) quimiolitótrofo, capaz de oxidar H_2, tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$) o azufre (S^0) como

(a)

(b)

Figura 16.50 ***Thermocrinis.*** *(a)* Células de *Thermocrinis ruber* creciendo como serpentinas filamentosas (flecha) adheridas a aglomerados silíceos en la corriente de salida (85 °C) de Octopus Spring, Lower Geyser Basin, Parque Nacional de Yellowstone. El color rosa se debe a un pigmento carotenoide. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de barrido de células bacilares de *T. ruber* crecidas sobre un cristal recubierto de silicio. El silicio se ve como estructuras con aspecto de pelo. Cada célula de *T. ruber* mide aproximadamente 0,4 μm de diámetro y desde 1 hasta 3 μm de largo.

donantes de electrones, utilizando O_2 como aceptor de electrones.

La única especie conocida es *Thermocrinis ruber*, que crece en la corriente de ciertos manantiales termales en el Parque Nacional de Yellowstone, donde forma unas «serpentinas» rosas constituidas por una forma celular filamentosa unida a aglomerados silíceos (Figura 16.50*a*). En un cultivo sin agitación, las células de *T. ruber* crecen individualmente en forma de bacilos (Figura 16.50*b*). Sin embargo, cuando se cultivan en un sistema de flujo en el que el medio de cultivo se va derramando de manera continua sobre una superficie sólida de cristal a la que las células pueden adherirse, *Thermocrinis* adopta la morfología serpentina que forma cuando se encuentra en el flujo constante de su hábitat natural (Figura 16.50*a*).

T. ruber es una especie con cierto valor histórico en microbiología, porque fue uno de los organismos estudiados en la década de los 60 por Thomas Brock, un pionero en el campo de la microbiología termal. El descubrimiento de Brock de que las serpentinas rosas (Figura 16.50*a*) contenían proteínas y ácidos nucleicos, indicaba claramente que se trataba de organismos vivos y no tan sólo de deshechos de materiales minerales. Lo que es más, la existencia de serpentinas en la corriente de salida de manantiales termales a 80-90 °C, pero no a temperaturas inferiores, apoyaba la hipótesis de Brock de que los organismos de dichos manantiales de hecho necesitaban altas temperaturas para crecer y probablemente podían sobrevivir incluso en agua hirviendo. Ambas conclusiones fueron respaldadas por el descubrimiento, de Brock y otros investigadores, de docenas de géneros de bacterias hipertermófilas viviendo en manantiales termales, chimeneas hidrotermales y otros ambientes termales. Hay más información disponible sobre hipertermófilos en las Secciones 6.12, 6.14, 17.5-17.15 y 24.11.

XIV NITROSPIRA Y DEFERRIBACTER

16.21 *Nitrospira, Deferribacter* y organismos relacionados

Géneros clave: *Nitrospira, Deferribacter*

Varios otros filums de bacterias han sido identificados mediante el análisis de secuencia de sus genes del 16S rRNA, aunque de dichos filums se conoce relativamente poco. Dos de estos filums incluyen a los organismos *Nitrospira* y *Deferribacter* (Figura 15.1). Fisiológicamente, estos organismos son quimiolitótrofos o quimioorganótrofos y los hay desde mesófilos hasta termófilos.

Al igual que las proteobacterias oxidadoras de nitrito (Secciones 15.3 y 20.12), *Nitrospira* oxida NO_2^- hasta NO_3^- y crece autotróficamente. Pese a esta similitud fisiológica con las bacterias nitrificantes clásicas, *Nitrospira* es bastante distinta filogenéticamente. Además, *Nitrospira* carece de las extensas membranas internas que se pueden ver en las especies de proteobacterias nitrificantes (Figuras 15.7 y 15.8). Sin embargo, *Nitrospira* habita muchos de los mismos ambientes que las proteobacterias oxidadoras del nitrito, como por ejemplo *Nitrobacter*, de modo que se ha propuesto que sus capacidades fisiológicas podrían haberle sido transferidas por transferencia horizontal de genes desde las proteobacterias nitrificantes (o viceversa). Como ya sabemos, este mecanismo para la obtención de capacidades fisiológicas es muy habitual en bacterias (Sección 13.11). Muestreos realizados en la naturaleza en busca de bacterias nitrificantes han demostrado que *Nitrospira* es mucho más común que *Nitrobacter*; por tanto, la mayoría del NO_2^- que es oxidado en ambientes donde la nitrificación se produce a niveles significativos, como en las plantas de tratamiento de aguas, lo es debido a la actividad de *Nitrospira*.

Otros géneros del grupo de *Nitrospira* son *Leptospirillum*, un quimiolitótrofo oxidador del hierro que es responsable de muchos de los filtrados mineros ácidos asociados con la minería del carbón y del hierro (Sección 24.6) y *Thermodesulfovibrio*, una bacteria termófila reductora de sulfato que habita en tapices bacterianos en manantiales termales. Observe que aunque son parecidos en nombre y fisiología, *Thermodesulfovibrio* y *Thermodesulfobacterium* (Sección 16.19) son organismos filogenéticamente distintos.

Deferribacter

El género *Deferribacter* constituye su propio linaje independiente (Figura 15.1) y se compone de especies que se especializan en un metabolismo energético anaerobio. Otros géneros de este grupo son *Geovibrio* y *Flexistipes*; este último género lo forman bacterias fermentativas anaerobias estrictas.

Deferribacter y *Geovibrio* son extremadamente versátiles en cuanto a su respiración anaerobia ya que utilizan diversos aceptores de electrones incluidos los metales Fe^{3+} y Mn^{4+}. Analizaremos la respiración anaerobia en las Secciones 21.6-21.12 y demostraremos que este proceso puede acoplarse a muchos aceptores terminales de electrones distintos. Los miembros del grupo *Deferribacter* parecen ser inusuales en cuanto al gran número de aceptores de electrones alternativos que pueden utilizar y por el hecho de ser anaerobios estrictos. En contraposición, la mayoría de organismos capaces de crecer mediante respiración anaerobia utilizando nitrato o metales como aceptores de electrones suelen ser anaerobios facultativos, que también pueden crecer sin problemas aeróbicamente (Sección 21.6).

16.19-16.21 Minirrevisión

Thermotoga, *Thermodesulfobacterium* y *Aquifex* crecen a altas temperaturas y cada uno de ellos representa un

importante linaje de bacterias. *Aquifex* y *Thermocrinis* son quimiolitótrofos oxidadores del H_2, mientras que *Thermotoga* y *Thermodesulfobacterium* son ambos quimioorganótrofos anaerobios. *Nitrospira* y *Deferribacter* forman cada uno su propio filum de bacterias.

- Compare el metabolismo catabólico de *Thermotoga* y *Thermodesulfobacterium*.
- ¿Qué tienen de inusual los lípidos de *Thermodesulfobacterium*?
- Desde una perspectiva genómica, ¿por qué resulta sorprendente que *Aquifex* sea capaz de crecer en gases como H_2, CO_2 y O_2?
- Compare las características metabólicas de *Nitrospira* y *Deferribacter*.

Glosario de términos

Ácido alcohol resistente: propiedad de las especies de *Mycobacterium* por la cual las células teñidas con el colorante básico fucsina resisten la decoloración por alcohol ácido.

Bacterias verdes del azufre: fotótrofos anoxigénicos con clorosomas, que emplean bacterioclorofila *c*, *d* o *e* como clorofila captadora de luz.

Cianobacterias: fotótrofos oxigénicos bacterianos que contienen clorofila *a* y ficobilinas, pero no tienen clorofila *b*.

Clorosoma: estructura en forma de cigarro envuelta por una membrana sin estructura de unidad de membrana que contiene la bacterioclorofila captadora de luz (*c*, *d* o *e*) en las bacterias verdes del azufre y en *Chloroflexus*.

Consorcio: asociación de dos o más bacterias, que normalmente conviven en estrecha simbiosis.

Espiroqueta: bacteria gramnegativa y enrollada en forma de fina espiral cerrada, que se caracteriza por tener endoflagelos que emplea para moverse.

Ficobilina: el tetrapirrol de cadena abierta captador de luz que forma parte de las ficobiliproteínas.

Heliobacterias: fotótrofos anoxigénicos que tienen bacterioclorofila *g*.

Heterofermentativo: en referencia a las bacterias del ácido láctico, capaz de generar más de un producto de fermentación.

Homofermentativo: en referencia a las bacterias del ácido láctico, que genera ácido láctico como único producto de fermentación.

Proclorofita: una bacteria fotótrofa oxigénica que tiene clorofila *a* y *b*, pero carece de ficobilinas.

Reacción de Stickland: fermentación de una pareja de aminoácidos en la que uno de ellos actúa como donante de electrones y el otro como aceptor de electrones.

Preguntas de repaso

1. Describa rasgos fisiológicos y morfológicos que diferenciarían a *Staphylococcus* de *Micrococcus*.
2. ¿Qué rasgos morfológicos y fisiológicos diferencian a *Sporosarcina* de *Clostridium*?
3. ¿Qué rasgos clave pueden utilizarse para distinguir entre los siguientes géneros de bacterias grampositivas: *Bacillus*, *Mycoplasma* y *Mycobacterium*?
4. Compare la morfología de *Nocardia* con la de *Anabaena*.
5. Describa los tipos de bacterias fotótrofas oxigénicas que pueden encontrarse en aguas abiertas oceánicas. ¿Se encuentran en alto o bajo número y cómo de relevante es su contribución a la productividad primaria (es decir, fijación de dióxido de carbono) del océano?
6. Describa un rasgo morfológico clave que diferenciaría cada una de las siguientes bacterias: *Streptococcus*, *Streptomyces*, *Verrucomicrobium*, *Gemmata* y *Spirochaeta*.
7. Describa un rasgo morfológico clave de las siguientes bacterias que las diferencie de las otras: *Lactobacillus*, *Nitrobacter* y *Oscillatoria*.
8. ¿Qué tienen en común las especies del filum *Planctomyces* con las arqueas? ¿Y con las eucariota?
9. Compare la fotosíntesis en las cianobacterias con la de las bacterias verdes del azufre.
10. ¿Qué caracteres tienen en común las clamidias y las rickettsias (alfaproteobacterias)? ¿En qué se diferencian? ¿Cuál es la función de cada uno de los dos tipos de células formados por *Chlamydia*?
11. Describa los posible beneficios para cada uno de sus miembros de un consorcio compuesto por una bacteria verde sulfurosa y un quimioorganótrofo.
12. ¿Qué importante característica fisiológica relaciona las especies de *Thermotoga*, *Aquifex* y *Thermocrinis*?

Ejercicios prácticos

1. Defienda o rebata la afirmación de que la evolución convergente explica la presencia de representantes fotótrofos en distintos filums de bacterias.
2. La capacidad de fijación de nitrógeno es característica de representantes de diversos filums de bacterias. Proponga qué condiciones ambientales seleccionarían organismos con esta capacidad y qué razones podrían explicar por qué la fijación de nitrógeno es una actividad exclusivamente bacteriana.

www.medilibros.com

17

Dominio *Archaea*

I FILOGENIA Y METABOLISMO GENERAL 539

17.1 Visión general filogenética de las arqueas **539**

17.2 Conservación de la energía y autotrofia en arqueas **540**

II FILUM EURYARCHAEOTA 541

17.3 Arqueas halófilas extremas **541**

17.4 Arqueas productoras de metano: metanógenos **546**

17.5 *Thermoplasmatales* **550**

17.6 *Thermococcales* y *Methanopyrus* **552**

17.7 *Archaeoglobales* **553**

17.8 *Nanoarchaeum* y *Aciduliprofundum* **554**

III FILUM CRENARCHAEOTA 556

17.9 Hábitats y metabolismo energético de las crenarqueotas **556**

17.10 Hipertermófilos de hábitats volcánicos terrestres **558**

17.11 Hipertermófilos de hábitats volcánicos submarinos **560**

17.12 Crenarqueotas no termófilas **563**

IV EVOLUCIÓN Y LA VIDA A ALTAS TEMPERATURAS 564

17.13 Un límite superior de temperatura para la vida microbiana **564**

17.14 Adaptaciones a la vida a alta temperatura **565**

17.15 Arqueas hipertermófilas, H_2 y evolución microbiana **567**

Las salinas son el hábitat de una extensa variedad de arqueas halófilas. Estos organismos no sólo sobreviven en estas duras condiciones, sino que prosperan en ellas y, de hecho, necesitan una alta concentración de sal para vivir.

En este capítulo analizaremos el dominio *Archaea*. En el Capítulo 8 analizamos los principales parecidos y diferencias entre *Archaea* y *Bacterias* —los dos dominios de células procariotas. En el Capítulo 14 enfatizamos las profundas diferencias filogenéticas entre *Archaea* y *Bacterias*. Aquí analizaremos los organismos en cuestión. Algunas de las principales características de las arqueas incluyen la ausencia de peptidoglicano en la pared celular y la presencia de lípidos con enlaces éter y complejas polimerasas de RNA. Pero más allá de estas características, las arqueas muestran una enorme diversidad fenotípica, que analizaremos aquí. Al igual que en el Capítulo 15 sobre el dominio bacterias, empezaremos este capítulo con una visión general filogenética, para mostrar las relaciones evolutivas dentro de este dominio.

I FILOGENIA Y METABOLISMO GENERAL

Las arqueas constituyen uno de los tres dominios de la vida. Comparten muchas características con los otros dos dominios, bacterias y eucariotas, pero son evolutivamente distintas. Por ejemplo, al igual que las bacterias, las arqueas tienen una estructura celular procariota; sin embargo, su historia evolutiva está separada de la de las bacterias. Comenzaremos este capítulo con una visión general de la filogenia y el metabolismo de las arqueas y luego procederemos a analizar los dos filums de arqueas: euriarqueotas y crenarqueotas.

17.1 Visión general filogenética de las arqueas

La **Figura 17.1** muestra un árbol filogenético de las arqueas. Este árbol, basado en la secuencia de genes del 16S rRNA, descubre la importante separación de las arqueas en dos grupos, las euryarchaeota y las crenarchaeota. La separación entre ambos grupos está apoyada por el análisis de genomas secuenciados al completo. Estos grupos podrían constituir filums, el tipo de agrupamiento empleado en este libro, similares en su complejidad y divergencia filogenética a los filums de bacterias o podrían constituir grupos de un orden superior, cada uno de ellos compuesto por múltiples filums. En cualquier caso, el análisis de muestras de campo y los estudios basados en cultivos están haciendo avanzar rápidamente

www.medilibros.com

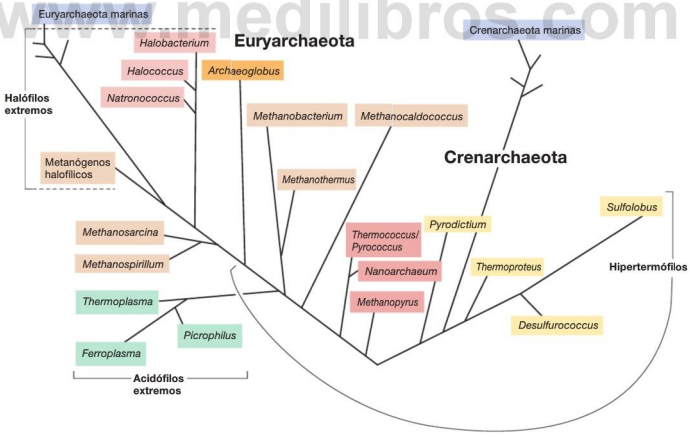


Figura 17.1 Árbol filogenético detallado de las arqueas, basado en la comparación de las secuencias de genes del 16S rRNA. Recientemente se han aislado y caracterizado diversos miembros de las *Euryarchaeota* y *Crenarchaeota* marinas, que previamente sólo se conocían por muestreos de comunidades microbianas. No todas las Especies de *Methanobacterium* son termófilas.

nuestro conocimiento de la filogenia y la diversidad de las arqueas.

Filum *Crenarchaeota*

Entre las arqueas que han sido cultivadas en laboratorio, las ***Crenarchaeota*** incluyen fundamentalmente **hipertermófilos** —organismos cuya temperatura óptima de crecimiento supera los 80 °C— lo que incluye aquellos capaces de crecer a las más altas temperaturas de todos los organismos conocidos. Sin embargo es interesante resaltar que varios crenarqueotas no termófilos relacionados con las especies hipertermófilas habitan en ambientes acuáticos y terrestres. Muchos hipertermófilos son quimiolitótrofos autótrofos y como no existen fotótrofos capaces de sobrevivir a tales temperaturas, estos organismos son los únicos productores primarios en estos hábitats.

Las especies hipertermófilas de crenarqueotas tienden a estar muy agrupadas y a ocupar ramas cortas en el árbol filogenético construido a partir de los genes del 16S rRNA (Figuras 14.16 y 17.1). Por tanto, se cree que estos organismos evolucionan más lentamente que otros linajes del mismo dominio. Si esto fuera cierto, las crenarqueotas hipertermófilas debieran ser buenos modelos de las arqueas «primitivas» y quizás incluso de las formas de vida primigenias en general; volveremos a este tema al final de este capítulo (Sección 17.15). Por otro lado, mediante el análisis de genes de rRNA de arqueas obtenidos mediante muestreos de comunidades microbianas (Secciones 22.5 y 23.9) se han identificado parientes de las crenarqueotas hipertermófilas que viven en ambientes fríos como océanos y otra serie de ambientes templados y polares, algunos de los cuales han podido cultivarse en laboratorio. Desde una perspectiva filogenética, estas especies están en ramas más largas en el árbol filogenético y por tanto podría ser que evolucionaran más rápidamente. Analizaremos las crenarqueotas con más detalle en las Secciones 17.9-17.12.

Filum *Euryarchaeota*

Las ***Euryarchaeota*** forman un grupo de arqueas filogenéticamente diverso. Como las crenarqueotas, muchas habitan en ambientes extremos de un tipo u otro. Este filum incluye metanógenos —organismos cuyo metabolismo produce metano (CH_4)— y varios géneros de arqueas halófilas extremas, las «halobacterias» (Figura 17.1). Como un estudio de contrastes fisiológicos, estos dos grupos son excepcionales. Los metanógenos son anaerobios de los más estrictos, mientras que los halófilos extremos son en su mayor parte aerobios estrictos.

Otros grupos de euriarqueotas incluyen los hipertermófilos *Thermococcus* y *Pyrococcus* y el metanógeno *Methanopyrus*, todos los cuales se separan cerca de la raíz del árbol filogenético (Figura 17.1) y un organismo fenotípicamente similar a los micoplasmas (Sección 16.3) denominado *Thermoplasma*, que carece de pared celular. Finalmente, en paralelo con los crenarqueotas, existe un gran grupo de euriarqueotas que habita en ambientes marinos y que todavía no ha podido cultivarse en el laboratorio, que forma largas ramas cerca de la copa del árbol filogenético de las arqueas (Figura 17.1). Muchas euriarqueotas también habitan hábitats terrestres o de agua dulce. Analizaremos las euriarqueotas con más detalle en las Secciones 17.3-17.8.

Después de esta visión general de la filogenia de las arqueas, procederemos a presentar una breve descripción de los rasgos metabólicos de arqueas. Más tarde pasaremos a describir los principales representantes que han sido cultivados en el laboratorio.

17.2 Conservación de la energía y autotrofia en arqueas

El metabolismo energético de los metanógenos, un importante grupo de arqueas, es completamente distinto al de cualquier otro grupo microbiano, tanto en arqueas como en bacterias. Analizaremos más tarde los numerosos aspectos exclusivos de la metanogénesis (Sección 21.10) y ahora nos centraremos en el metabolismo de las arqueas no metanógenas, que es más parecido al metabolismo de las bacterias.

Quimiorganotrofia y quimiolitotrofia en arqueas

Diversas arqueas son quimioorganótrofas, que utilizan compuestos orgánicos como donadores de electrones en su metabolismo energético. En arqueas el metabolismo de la glucosa se lleva a cabo mediante la ruta de Entner-Doudoroff (Sección 15.7) o mediante glicólisis (Sección 5.10), con ligeras modificaciones. La oxidación del acetato hasta CO_2 en arqueas se lleva a cabo mediante el ciclo del ácido cítrico (Sección 5.13), a veces con ligeras modificaciones o bien mediante la **ruta del acetil-CoA** (Sección 21.9). Poco se sabe en arqueas al respecto de la biosíntesis de aminoácidos y de otros precursores de macromoléculas; sin embargo, los monómeros clave probablemente son producidos a partir de los intermediarios biosintéticos básicos que analizamos previamente para bacterias (Secciones 5.15-5.17) y muchas de las enzimas clave del metabolismo de aminoácidos comentadas previamente para bacterias tienen sus equivalentes en arqueas.

En algunas arqueas existen cadenas de transporte de electrones que incluyen citocromos *a*, *b* y *c*. El metabolismo quimiorganótrofo en la mayoría de las arqueas utiliza estos citocromos y otros transportadores de electrones y se lleva a cabo mediante la introducción de electrones procedentes de donadores orgánicos en la cadena de transporte de electrones, lo que resulta en la reducción O_2, S^0 o algún otro aceptor de electrones. Las reacciones de transporte de electrones permiten la síntesis de una fuerza protón motriz, acoplada a la síntesis de ATP por medio de ATPasas de membrana (el funcionamiento de las ATPasas se describe en la Sección 5.12). También exis-

ten muchas arqueas quimiolitótrofas, que habitualmente utilizan H_2 como donador de electrones (Sección 17.15). Analizaremos el metabolismo quimiolitótrofo de las arqueas hipertermófilas en la Sección 17.9).

Autotrofia en arqueas

La autotrofia está muy extendida entre las arqueas y se lleva a cabo a través de varias rutas diferentes. En los metanógenos hipertermófilos y entre ciertos miembros de las arqueoglobales, el CO_2 se fija mediante la ruta del acetil-CoA o mediante alguna variación de dicha ruta. La mayoría de los quimiolitótrofos hipertermófilos fijan el CO_2 bien mediante la ruta inversa (reductora) del ácido cítrico, una serie de reacciones que también constituyen la ruta autotrófica en las bacterias verdes del azufre, bien mediante el ciclo del 3-hidroxipropionato (Sección 20.7) o bien mediante el ciclo de Calvin, que es la ruta autotrófica más extendida entre las bacterias y los eucariotas (Sección 20.6). En dos hipertermófilos, el metanógeno *Methanocaldococcus jannaschii* y una especie de *Pyrococcus*, se han caracterizado genes que codifican versiones funcionales y muy termoestables de la enzima RubisCO (que cataliza el primer paso del ciclo de Calvin).

Por tanto, podemos concluir que muchas de las rutas catabólicas y anabólicas en arqueas son similares a las presentes en bacterias, un buen recordatorio de que el metabolismo tiene una larga historia evolutiva. Con esta información previa y teniendo bien presente la filogenia de las arqueas (Figura 17.1), ahora analizaremos la diversidad de microorganismos que podemos encontrar en este fascinante dominio de la vida.

17.1-17.2 Minirrevisión

Las arqueas forman dos grupos principales, las euriarqueotas y las crenarqueotas. Con excepción de la metanogénesis, la bioenergética y el metabolismo intermediario de las especies de arqueas muestra un gran parecido con sus equivalentes en varias especies de bacterias.

- ¿En qué grupo de las arqueas se encuadran la mayoría de los hipertermófilos cultivados en laboratorio?
- ¿Qué rutas autotróficas pueden encontrarse en las arqueas?

II FILUM EURYARCHAEOTA

Las euriarqueotas forman un grupo de arqueas fisiológicamente diverso, muchas de cuyas especies viven en ambientes extremos. Entre las euriarqueotas se cuentan los halófilos extremos, los metanógenos y varias especies extremadamente termófilas o acidófilas. Aunque algunas euriarqueotas comparten características como la hipertermofília con los crenarqueotas. Estos dos filums son filogenéticamente distintos (Figura 17.1). Comenzaremos con una descripción de los halófilos extremos y luego continuaremos con los metanógenos y demás grupos.

17.3 Arqueas halófilas extremas

Géneros clave: *Halobacterium, Haloferax, Natronobacterium*

Las arqueas halófilas extremas (Figura 17.1), a veces denominadas haloarqueas, componen un variado grupo de procariotas que habitan en ambientes naturales de elevada salinidad, como en los estanques de evaporación de las salinas y lagos salados o en ambientes salinos artificiales como la superficie de salazones de carne o pescado. Dichos hábitats se denominan hipersalinos. El término **halófilo extremo** no se emplea sólo para indicar que estos organismos viven en ambientes hipersalinos, sino también que necesitan estas altas concentraciones de sal, rondando en algunos casos la saturación.

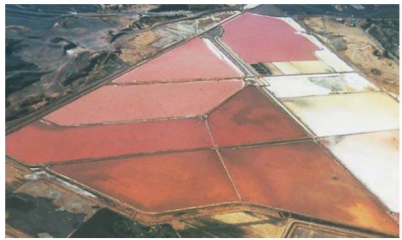
Se considera a un organismo como halófilo extremo si necesita al menos 1,5 M (alrededor del 9%) de NaCl para crecer. La mayoría de las especies de halófilos extremos necesitan entre 2-4 M NaCl (12-23%) para un crecimiento óptimo. Virtualmente todos los halófilos extremos pueden crecer hasta a 5,5 M NaCl (32%, el límite de saturación para el NaCl), aunque algunas especies crecen muy lentamente a esta salinidad. Algunos organismos relacionados filogenéticamente con las arqueas halófilas extremas, por ejemplo, las especies *Haloferax* y *Natronobacterium* son capaces de crecer a salinidades mucho menores, similares a la del agua marina (aproximadamente un 2,5% NaCl); sin embargo, estos organismos se agrupan junto a otros que son halófilos extremos. El aislamiento de estas haloarqueas de «baja *salinidad*» resalta un tema generado por los muestreos de campo y los estudios basados en el cultivo de arqueas, que es la existencia de una diversidad ecológica, metabólica y fisiológica, previamente desconocida (Sección 17.12).

Ambientes hipersalinos: química y productividad

Los ambientes hipersalinos son habituales por todo el mundo, pero los ambientes extremadamente hipersalinos son poco habituales. La mayoría de estos ambientes se localizan en regiones del planeta secas y cálidas. Los lagos salados varían considerablemente en su composición iónica. Los iones predominantes en un lago hipersalino dependen de la topografía del terreno circundante, la geología y las condiciones climáticas generales.

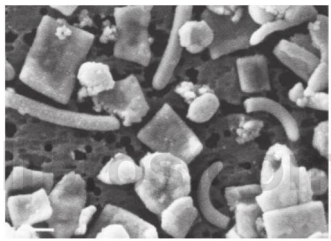
Por ejemplo, el Gran Lago Salado en Utah (EE.UU) (**Figura 17.2a**), es básicamente agua marina concentrada; las proporciones relativas de los distintos iones son las mismas que en el agua de mar, aunque la concentración total de iones sea mucho más alta. El sodio es el catión

(a)



(b)

(c)



(d)

Figura 17.2 **Hábitats hipersalinos de arqueas halófilas.** *(a)* El Gran Lago Salado de Utah, un lago hipersalino en el que la proporción de iones es parecida a la del agua de mar, pero en el que las concentraciones absolutas de iones son unas 10 veces las del agua marina. El color verde se debe fundamentalmente a células de cianobacterias y de algas verdes. *(b)* Vista aérea de la bahía de San Francisco en California, donde pueden verse una serie de balsas de evaporación de agua marina de las que se obtiene la sal. El color rojo purpúreo se debe fundamentalmente a las bacterioruberinas y la bacteriorrodopsina de las células de *Halobacterium*. *(c)* Lago Hamara, Wadi El Natroun, Egipto. Una explosión poblacional de haloalcalófilos pigmentados creciendo en este lago alcalino a pH 10. Observe los depósitos de natrón ($NaHCO_3{\cdot}Na_2CO_3{\cdot}2H_2O$) en los bordes del lago. *(d)* Microfotografía con el microscopio electrónico de barrido que muestra bacterias halófilas, incluyendo algunas bacterias de forma cuadrada, de una salina en España.

predominante en el Gran Lago Salado, mientras que el cloruro es el anión predominante; a un pH ligeramente alcalino, también existen niveles significativos de sulfatos (**Tabla 17.1**). En contraposición, otra cuenca hipersalina, la del Mar Muerto, tienen niveles relativamente bajos de sodio, pero contiene un alto nivel de magnesio (Tabla 17.1).

Los lagos alcalinos son ambientes hipersalinos muy alcalinos. La química del agua de los lagos alcalinos recuerda a la de lagos hipersalinos como el Gran Lago Salado, pero como consecuencia de los altos niveles de carbonatos en los estratos circundantes, el pH de los lagos alcalinos es bastante alto. En este tipo de ambiente no son infrecuentes aguas con un pH 10-12 (Tabla 17.1 y Figura 17.2*c*). Además, el Ca^{2+} y el Mg^{2+} están prácticamente ausentes en los lagos alcalinos, porque precipitan a pH alto y a elevadas concentraciones de carbonatos (Tabla 17.1)

La química tan variada de los ambientes hipersalinos ha favorecido la selección de una gran diversidad de microorganismos halófilos. Algunos organismos se circunscriben a un sólo ambiente, mientras que otros se extienden por diversos hábitats. Lo que es más, a pesar de que podrían parecer unas condiciones bastante duras, los lagos salinos pueden ser ecosistemas muy productivos (en el sentido de un alto nivel de fijación de CO_2). Las arqueas no son los únicos microorganismos presentes. El alga eucariota *Dunaliella* es el principal, si no el único, fotótrofo oxigénico en la mayoría de los lagos salinos. En

Tabla 17.1 Composición iónica de algunos ambientes altamente salinos[a]

	Concentración (g/l)		
Ión	*Gran lago salado*[b]	*Mar muerto*	*Lago Zugm*[c]
Na^+	105	40,1	142
K^+	6,7	7,7	2,3
Mg^{2+}	11	44	<0,1
Ca^{2+}	0,3	17,2	<0,1
Cl^-	181	225	155
Br^-	0,2	5,3	—
SO_4^{2-}	27	0,5	23
HCO_3^-	0,7	0,2	67
pH	7,7	6,1	11

[a] Como referencia el agua de mar (gramos por litro): Na^+, 10,6; K^+, 0,38; Mg^{2+}, 1,27; Ca^{2+}, 0,4; Cl^-, 19; Br^-, 0,065; SO_4^{2-}, 2,65; HCO_3^-, 0,14; pH 7,8.

[b] Ver Figura 17.2a.

[c] Wadi El Natroun, Egipto (véase Figura 17.2c).

Tabla 17.2 Algunos géneros de arqueas halófilas extremas

Género	*Morfología*	*Hábitat*
Halófilas extremas		
Halobacterium	Bacilo	Salazones; pieles; lagos hipersalinos; salinas
Halorubrum	Bacilo	Mar muerto; salinas
Halobaculum	Bacilo	Mar muerto
Haloferax	Disco aplanado	Mar muerto; salinas
Haloarcula	Disco irregular	Piscinas saladas, Valle de la Muerte, California, EEUU; salinas marinas
Halococcus	Coco	Salazones; salinas
Halogeometricum	Coco	Salinas solares
Haloterrigena	Bacilo ovalado	Suelo salino
Haloalcalófilos		
Natronobacterium	Bacilo	Lagos alcalinos altamente salados
Natrinema	Bacilo	Salazones; pieles
Natrialba	Bacilo	Lagos alcalinos; arena de playa
Natronomonas	Bacilo	Lagos alcalinos
Natronococcus	Coco	Lagos alcalinos
Natronorubrum	Células aplastadas	Lagos alcalinos

lagos muy alcalinos donde no existe *Dunaliella*, predominan las bacterias rojas fotótrofas anoxigénicas de los géneros *Ectothiorhodospira* y *Halorhodospira* (Sección 15.2). La materia orgánica procedente de la producción primaria por fotótrofos anoxigénicos prepara el terreno para el crecimiento de haloarqueas, las cuales son todas quimioorganótrofas. Además, unas cuantas bacterias halófilas extremas, quimioorganótrofas anaerobias, como *Halanaerobium*, *Halobacteroides* y *Salinibacter*, prosperan en estos ambientes.

Las salinas también son el hábitat de halófilos extremos. Las salinas están formadas por balsas pequeñas y cerradas, llenas de agua de mar, que se dejan evaporar al sol para obtener sal marina (Figura 17.2*b*, *d*). Conforme las salinas se van acercando al límite mínimo de salinidad para los halófilos extremos, su agua se vuelve de un color rojo purpúreo debido al crecimiento masivo —denominado *explosión de crecimiento* (llamados *blooms* o *faros de agua*)— de arqueas halófilas (el color rojo que se ve en las Figuras 17.2*b* y *c* es debido a los carotenoides y otros pigmentos que comentaremos más tarde). En las salinas se encuentran a menudo arqueas morfológicamente inusuales, incluso algunas especies con forma cuadrada (Figura 17.2*d*). Los halófilos extremos también están presentes en alimentos muy salados, como ciertas salchichas, pescados o cerdo salado.

Taxonomía y fisiología de arqueas halófilas extremas

La **Tabla 17.2** enumera muchos de los 27 géneros de arqueas halófilas extremas reconocidos hasta el momento. Además del término haloarqueas, estas arqueas son habitualmente denominadas «halobacterias», porque el género *Halobacterium* (**Figura 17.3**) fue el primero descrito en este grupo y todavía sigue siendo su representante mejor conocido. *Natronobacterium*, *Natronomonas* y organismos relacionados se diferencian de otros halófilos extremos en que además de halófilos, también son alcalófilos extremos. Como corresponde a su hábitat en lagos alcali-

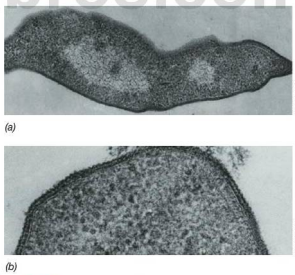


Figura 17.3 Microfotografía con el microscopio electrónico de secciones finas del halófilo extremo *Halobacterium salinarum*. Cada célula mide aproximadamente 0,8 μm de diámetro. *(a)* Sección longitudinal de una célula en división que muestra los nucleoides. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de gran aumento que muestra la estructura de subunidades de glicoproteínas de la pared celular.

www.libros.com

nos (Tabla 17.1 y Figura 17.2*c*), el crecimiento de las natronobacterias es óptimo a concentraciones muy bajas de Mg^{2+} y a pH alto (9-11).

Las arqueas halófilas extremas son gramnegativas, se reproducen por fisión binaria y no forman esporas u otras formas de resistencia. La mayoría de las halobacterias carecen de movilidad, pero unas cuantas cepas presentan una débil movilidad por flagelos o bien son capaces de flotar por medio de vesículas de gas (Sección 4.11). Los genomas de *Halobacterium* y *Halococcus* son inusuales en tanto que frecuentemente presentan grandes plásmidos que representan hasta el 25-30% del total del DNA celular y que presentan una composición de bases (57-60% GC) significativamente diferente de la del DNA cromosómico (66-68% GC). Los plásmidos de los halófilos extremos se cuentan entre los más grandes plásmidos naturales conocidos y podrían de hecho ser pequeños cromosomas (Sección 11.2).

La mayoría de las especies de arqueas halófilas extremas son aerobios obligados. La mayoría de las halobacterias utilizan aminoácidos o ácidos orgánicos como fuentes de energía y necesitan una serie de factores de crecimiento (básicamente vitaminas, Sección 5.1) para un crecimiento óptimo. Unas cuantas especies de *Halobacterium* son capaces de oxidar carbohidratos, aunque esto no es algo muy frecuente. *Halobacterium* tiene cadenas de transporte de electrones con citocromos *a*, *b* y *c* y durante el crecimiento aeróbico la energía se conserva en forma de fuerza protón motriz, generada por el transporte de electrones. Algunas arqueas halófilas son capaces de crecer anaeróbicamente. En ciertas especies se ha demostrado crecimiento en ausencia de oxígeno, mediante la fermentación de azúcares y respiración anaerobia (Sección 21.6) acoplada a la reducción de nitrato o fumarato.

Equilibrio hídrico en halófilos extremos

Las arqueas halófilas extremas necesitan una gran cantidad de sodio para crecer, normalmente proporcionado en forma de NaCl. Detallados estudios sobre salinidad y *Halobacterium* han demostrado que su necesidad de Na^+ no puede ser satisfecha por ningún otro ión, incluido el ión K^+ químicamente parecido. En cualquier caso, las células de *Halobacterium* necesitan tanto Na^+ como K^+ para crecer, porque cada uno de ellos cumple un importante cometido en el mantenimiento del equilibrio osmótico.

Como aprendimos en la Sección 6.16, las células microbianas deben soportar las fuerzas osmóticas inherentes a la vida. Para conseguirlo en un ambiente con tan elevada concentración de soluto como el de los hábitats ricos en sal de *Halobacterium*, los organismos deben acumular o sintetizar solutos intracelularmente. Este tipo de solutos se denominan **solutos compatibles**. Estos compuestos contrarrestan la tendencia de la célula a deshidratarse en condiciones de alta presión osmótica, al permitir a la célula alcanzar un equilibrio hídrico positivo respecto a su entorno (Sección 6.16). Sin embargo, las células de *Halobacterium* ni sintetizan ni acumulan compuestos orgánicos, sino que bombean grandes cantidades de K^+ del entorno hacia el interior del citoplasma. Esto consigue que la concentración de K^+ en el interior de la célula sea incluso mayor que la concentración de Na^+ fuera de ella (**Tabla 17.3**). Esta distribución de iones mantiene un balance hídrico positivo.

La pared celular de *Halobacterium* (Figura 17.3*b*) está formada por glicoproteínas y estabilizada por Na^+. Los iones de sodio se unen a la superficie externa de la pared de *Halobacterium* y son absolutamente esenciales para mantener la integridad celular. Cuando no hay suficiente Na^+, la pared celular se destruye y la célula se lisa. Esto es consecuencia del contenido excepcionalmente alto de los aminoácidos cargados negativamente (ácidos) aspartato y glutamato (Figura 3.12) en la glicoproteína de la pared celular de *Halobacterium*. Las cargas negativas presentadas por los grupos carboxilo de estos aminoácidos están protegidas por Na^+. Cuando el Na^+ se diluye, las partes de las proteínas cargadas negativamente se repelen entre sí activamente, lo que conduce a la lisis celular.

Componentes citoplasmáticos halófilos

Como las proteínas de la pared celular, las proteínas citoplasmáticas de *Halobacterium* son muy ácidas, pero es el K^+ y no el Na^+, el ión que se necesita para su actividad. Esto, por supuesto, resulta lógico porque el K^+ es el catión predominante en el citoplasma de las células de *Halobacterium* (Tabla 17.3). Las proteínas citoplasmáticas de *Halobacterium*, además de tener una composición más rica en aminoácidos cargados negativamente que las proteínas de organismos no halófilos, también contienen habitualmente niveles más bajos de aminoácidos hidrofóbicos y de lisina, un aminoácido cargado positivamente (básico). Esto también es previsible, porque en un citoplasma con alto contenido de iones las proteínas polares tienden a mantenerse en solución, mientras que las proteínas no polares tenderían a agregarse y quizás a perder actividad. Los ribosomas de *Halobacterium* también necesitan altos niveles de K^+ para su estabilidad, mientras que los ribosomas de organismos no halófilos no lo necesitan.

Las arqueas halófilas extremas están por tanto bien adaptadas, tanto interna como externamente, a la vida en ambientes de alto contenido en iones. Los componentes

Tabla 17.3 Concentración de iones en células de *Halobacterium salinarum*

Ión	*Concentración en el medio (M)*	*Concentración en la célula (M)*
Na^+	3,3	0,8
K^+	0,05	5,3
Mg^{2+}	0,13	0,12
Cl^-	3,3	3,3

celulares expuestos al medio externo necesitan alta concentración de Na^+ para su estabilidad, mientras que los componentes internos necesitan alta concentración de K^+. En ningún otro grupo de bacterias se presenta esta particular necesidad de altas concentraciones de cationes específicos, con la excepción de unos pocos miembros halófilos extremos de bacterias, que también utilizan el K^+ como soluto compatible.

Bacteriorrodopsina y la síntesis de ATP dependiente de la luz en halobacteria

Ciertas especies de haloarqueas pueden llevar a cabo la síntesis de ATP dependiente de luz. Esto sucede en ausencia de pigmentos clorofílicos y por tanto no se considera fotosíntesis. No obstante, intervienen otros pigmentos sensibles a la luz, incluyendo carotenoides rojos y naranjas —principalmente pigmentos C_{50} denominados bacterioruberinas— y pigmentos inducibles implicados en la conservación de la energía, que analizaremos ahora.

En condiciones de baja aireación, *Halobacterium salinarum* y algunos otros halófilos extremos sintetizan una proteína denominada bacteriorrodopsina, que insertan en su membrana citoplasmática. La **bacteriorrodopsina** se denomina así por su parecido estructural y funcional con la rodopsina, el pigmento visual del ojo. La bacteriorrodopsina tiene conjugada una molécula de retinal, una molécula tipo carotenoide que puede absorber energía luminosa y bombear un protón a través de la membrana citoplasmática. El retinal confiere a la bacteriorrodopsina un tono púrpura. Por esto cuando las células de *Halobacterium* pasan de crecer en condiciones de alta aireación a condiciones en las que el oxígeno resulta limitante (lo que dispara la síntesis de bacteriorrodopsina), cambian su color gradualmente de rojo anaranjado a rojo purpúra, conforme sintetizan bacteriorrodopsina y la integran en sus membranas citoplasmáticas.

La bacteriorrodopsina absorbe luz verde, con un máximo de absorción a 570 nm. Después de absorber la luz, el retinal de la bacteriorrodopsina, que normalmente se encuentra en configuración *trans* (Ret_T), se excita y pasa a adoptar una configuración *cis* (Ret_C) (**Figura 17.4**). Esta transformación está acoplada a la translocación de un protón a través de la membrana citoplasmática. Posteriormente la molecula de retinal vuelve a su configuración *trans* conforme toma un protón del citoplasma, lo que completa el ciclo. La bomba de protónes está de nuevo lista para repetir el ciclo (Figura 17.4). Conforme se van acumulando protónes en la superficie externa de la membrana, se genera una fuerza protón motriz que se acopla a la síntesis de ATP mediante la actividad de una ATPasa translocadora de protónes (Sección 5.12) (Figura 17.4).

La producción de ATP mediada por la luz en *H. salinarum* también sirve para bombear Na^+ fuera de la célula mediante la actividad de un sistema de antiporte Na^+/H^+ (Sección 4.5) y también impulsa la toma de nutrientes, incluyendo el K^+ que se necesita para alcanzar el equilibrio osmótico. La toma de aminoácidos por *H. salinarum* está impulsada indirectamente por la luz, porque los aminoácidos se cotransportan al interior de la célula junto con el Na^+, mediante simporte (Sección 4.5); la expulsión de Na^+ del interior de la célula se produce por medio del antiporte Na^+/H^+ impulsado por la luz. **http://www.microbiologyplace.com. Tutorial online 17.1. Bacteriorrodopsina y la síntesis de ATP dependiente de la luz.**

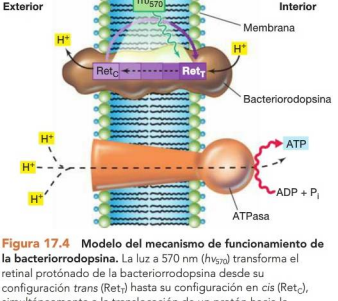


Figura 17.4 Modelo del mecanismo de funcionamiento de la bacteriorrodopsina. La luz a 570 nm ($h\upsilon_{570}$) transforma el retinal protónado de la bacteriorrodopsina desde su configuración *trans* (Ret_T) hasta su configuración en *cis* (Ret_C), simultáneamente a la translocación de un protón hacia la superficie externa de la membrana citoplasmática, generando de este modo una fuerza protón motriz. La actividad de la ATPasa será impulsada por dicha fuerza protón motriz.

Otras rodopsinas

Además de la bacteriorrodopsina, en la membrana citoplasmática de *H. salinarum* hay al menos otras tres rodopsinas. La **halorrodopsina** es una bomba impulsada por la luz que bombea cloruro (Cl^-) al interior de la célula como anión para el K^+. El retinal de la halorrodopsina se une a Cl^- y lo transporta al interior de la célula. En *H. salinarum* también hay otros dos sensores de luz, denominados rodopsinas sensoras. Estos sensores controlan la fototaxis (el movimiento hacia la luz, Sección 4.15) de este organismo. Las rodopsinas sensoras modulan la rotación flagelar, por medio de la interacción de una cascada de proteínas parecidas a las de quimiotaxis (Secciones 4.15 y 9.7), de tal modo que las células de *H. salinarum* se desplazan hacia la luz, donde la bacteriorrodopsina pueda funcionar para producir ATP (Figura 17.4).

Cuando analicemos microbiología marina (Sección 23.9), veremos que varias bacterias que habitan en las capas superiores del océano contienen proteínas similares a la bacteriorrodopsina, denominadas proteorrodopsinas. Hasta el momento se sabe que las proteorrodopsinas fun-

cionan de forma similar a la bacteriorrodopsina, aunque existen diversas formas espectrales de proteorrodopsinas, cada una de las cuales absorbe luz a una diferente longitud de onda. Las proteorrodopsinas constituyen un mecanismo para la conservación de la energía con un claro sentido ecológico para las bacterias marinas, ya que en mar abierto el nivel de materia orgánica disuelta es habitualmente muy bajo (Sección 23.9), lo que hace difícil un modo de vida estrictamente quimiorganótrofo.

17.3 Minirrevisión

Las arqueas halófilas extremas necesitan grandes cantidades de Na^+ para su crecimiento y acumulan niveles elevados de K^+ en su citoplasma como soluto compatible. Estas sales afectan a la estabilidad de la pared celular y la actividad enzimática. La bacteriorrodopsina es una bomba de protónes impulsada por la luz que ayuda a los halófilos extremos a producir ATP.

- ¿Cuál es la diferencia fisiológica fundamental entre *Halobacterium* y *Natronobacterium*?
- Si las células de *Halobacterium* necesitan niveles elevados de Na^+, ¿por qué no es este el caso con sus enzimas citoplásmicas (Tabla 17.3)?
- ¿Qué ventaja confiere la bacteriorrodopsina a una célula de *Halobacterium salinarum*? ¿Y la halorrodopsina?

17.4 Arqueas productoras de metano: metanógenos

Géneros clave: *Methanobacterium, Methanocaldococcus, Methanosarcina*

Muchas euriarqueotas son **metanógenos**, es decir microorganismos que producen metano (CH_4) como parte integral de su metabolismo energético (la producción de metano se denomina metanogénesis). El metano fue descrito como «aire combustible» por el físico italiano Alessandro Volta; Volta recogió gas de sedimentos de marisma y demostró que era inflamable. El experimento de Volta, como ha llegado a conocerse, se puede reproducir fácilmente si se recolecta el metano atrapado en sedimentos de agua dulce y se enciende con precaución (**Figura 17.5**).

En un capítulo posterior estudiaremos el distintivo y sorprendentemente complejo proceso bioquímico de la formación de metano (Sección 21.10). Lo que es más, aprenderemos que la metanogénesis es el último paso en la biodegradación de materia orgánica en numerosos hábitats carentes de oxígeno de la naturaleza, como por ejemplo el pantano ilustrado en la Figura 17.5. La **Tabla 17.4** enumera los hábitats de los metanógenos; estos hábitats son fuentes importantes de metano de origen biológico en la naturaleza.

Figura 17.5 Reproducción del experimento de Volta durante un curso de verano sobre diversidad microbiana en Woods Hole, Massachusetts. Se coloca un gran embudo invertido sobre sedimentos de agua dulce del pantano de Cedar Swamp, Woods Hole, en los que se está produciendo descomposición anaerobia. Una vez que el agua desplaza el aire en el embudo, se tapa el embudo y se agitan los sedimentos con un palo, liberando las burbujas de metano allí atrapadas, que van acumulándose en el embudo invertido. Inmediatamente después de destaparlo, se aplica una llama a la boca del embudo, provocando la ignición del metano. El físico italiano Alessandro Volta llevó a cabo este experimento hace más de 200 años, lo que lo llevó a describir el metano como «aire combustible».

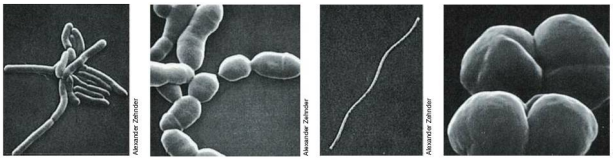
Tabla 17.4 Hábitats de metanógenos

I.	Sedimentos anóxicos: marismas, pantanos (Figura 17.5) y sedimentos lacustres, arrozales, terrenos encharcados (Sección 21.10)
II.	Tracto digestivo animal:
	(a) Rumen de rumiantes como vacas, ovejas, alces, ciervos y camellos (Sección 24.10)
	(b) Ciego de animales como caballos y conejos (Sección 24.10)
	(c) Intestino grueso de animales monogástricos como humanos, cerdos y perros (Sección 28.4)
	(d) Intestino posterior de insectos celulolíticos (por ejemplo, termitas) (Sección 24.2)
III.	Fuentes geotérmicas de $H_2 + CO_2$: chimeneas hidrotermales (Sección 24.11)
IV.	Instalaciones artificiales de biodegradación: digestores de aguas residuales (Sección 36.2)
V.	Endosimbiontes de protozoos anaeróbicos (Figura 24.4)

Diversidad y fisiología de los metanógenos

Los metanógenos muestran diversas morfologías (**Figura 17.6** y **Tabla 17.5**). Su taxonomía se basa en análisis fenotípicos y filogenéticos (Tabla 17.5) y existen varios órde-

www.medi



(a) (b) (c) (d)

Figura 17.6 Microfotografía con el microscopio electrónico de barrido de células de arqueas metanogénicas, que muestra su considerable diversidad morfológica. *(a) Methanobrevibacter ruminantium.* Cada célula mide aproximadamente 0,7 μm de diámetro. *(b) Methanobrevibacter arboriphilus.* Cada célula mide aproximadamente 1 μm de diámetro. *(c) Methanospirillum hungatei.* Cada célula mide aproximadamente 0,4 μm de diámetro. *(d) Methanosarcina barkeri.* Cada célula mide aproximadamente 1,7 μm de ancho.

Tabla 17.5 Características de algunas arqueas metanogénicas[a]

Orden/Género	*Morfología*	*Sustratos de metanogénesis*
Methanobacteriales		
Methanobacterium	Bacilos largos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanobrevibacter	Bacilos cortos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanosphaera	Cocos	Metanol + H_2 (ambos necesarios)
Methanothermus	Bacilos	$H_2 + CO_2$
Methanothermobacter	Bacilos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanococcales		
Methanococcus	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, piruvato + CO_2, fórmico
Methanothermococcus	Cocos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanocaldococcus	Cocos	$H_2 + CO_2$
Methanotorris	Cocos	$H_2 + CO_2$
Methanomicrobiales		
Methanomicrobium	Bacilos cortos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanogenium	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanospirillum	Espirilos	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanoplanus	Células con forma de placa —placas finas con bordes afilados	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanocorpusculum	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, fórmico, alcoholes
Methanoculleus	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, alcoholes, fórmico
Methanofollis	Cocos irregulares	$H_2 + CO_2$, fórmico
Methanolacinia	Bacilos irregulares	$H_2 + CO_2$, alcoholes
Methanosarcinales		
Methanosarcina	Grandes cocos irregulares en paquetes	$H_2 + CO_2$, metanol, metilaminas, acetato
Methanolobus	Cocos irregulares en agregados	Metanol, metilaminas
Methanohalobium	Cocos irregulares	Metanol, metilaminas
Methanococcoides	Cocos irregulares	Metanol, metilaminas
Methanohalophilus	Cocos irregulares	Metanol, metilaminas, metilsulfatos
Methanosaeta	Bacilos largos a filamentos	Acetato
Methanosalsum	Cocos irregulares	Metanol, metilaminas, dimetilsulfatos
Methanopyrales		
Methanopyrus	Bacilos en cadenas	$H_2 + CO_2$

[a] Los órdenes taxonómicos están en negrita.

www.medilibros.com

nes taxonómicos reconocidos (en taxonomía un orden incluye grupos de familias relacionadas, cada una de las cuales contiene uno o más géneros, Sección 14.14).

Los metanógenos tienen diversas composiciones químicas de la pared célular. Entre ellas se cuenta la pseudomureina de las paredes de las especies de *Methanobacterium* y organismos relacionados (**Figura 17.7a**); las paredes de *Methanosarcina* y organismos relacionados, compuestas de metanocondroitina (así denominada por su parecido estructural con la condroitina, el polímero del tejido conectivo de vertebrados); las paredes de las especies de *Methanocaldococcus* (**Figura 17.8a**) y *Methanopla-*

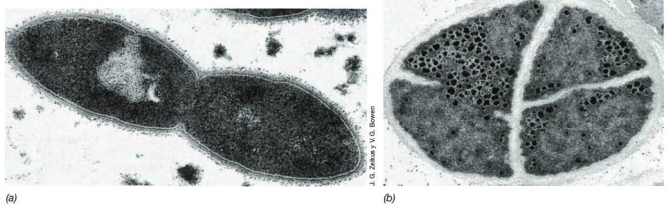


Figura 17.7 **Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de secciones finas de arqueas metanogénicas.** *(a) Methanobrevibacter ruminantium.* Cada célula mide aproximadamente 0,7 μm de diámetro. *(b) Methanosarcina barkeri,* que muestra su gruesa pared celular y el modo de segmentación celular y de formación del septo. Cada célula mide aproximadamente 1,7 μm de diámetro.

www.medilibros.com

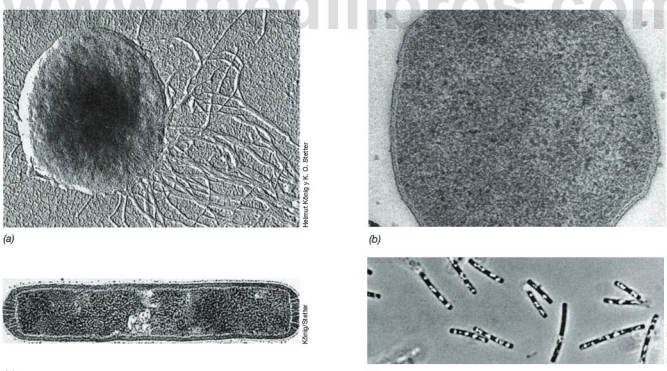


Figura 17.8 **Metanógenos termófilos e hipertermófilos.** *(a) Methanocaldococcus jannaschii* (temperatura óptima, 85 °C), microfotografía con el microscopio electrónico. Cada célula mide aproximadamente 1 μm de diámetro. *(b) Methanotorris igneus* (temperatura óptima, 88 °C), sección fina. Cada célula mide aproximadamente 1 μm de diámetro. *(c) Methanothermus fervidus* (temperatura óptima, 88 °C), microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. Cada célula mide aproximadamente 0,4 μm de diámetro. *(d) Methanosaeta thermophila* (temperatura óptima, 60 °C), microfotografía de contraste de fase. Cada célula mide aproximadamente 1 μm de diámetro. Los cuerpos refractantes en el interior de las células son vesículas de gas.

nus, compuestas de proteínas o glicoproteínas, respectivamente; y las paredes S de *Methanospirillum* (Figura 17.6; Sección 4.8).

Fisiológicamente, los metanógenos son anaerobios estrictos y para su aislamiento se requiere utilizar técnicas en rigurosa ausencia de oxígeno. Según las especies, el cultivo de metanógenos puede llevarse a cabo en un medio con sales minerales en una atmósfera de H_2 y CO_2 (en una proporción 4:1, la reacción se muestra más abajo) o bien en medios complejos. La mayoría de los metanógenos conocidos son mesófilos y no halófilos, aunque también se han descrito especies «extremófilas», que presentan un crecimiento óptimo a muy altas (Figura 17.8) o muy bajas temperaturas o a concentraciones de sal muy elevadas o a pH extremo.

Sustratos para la metanogénesis

Los cultivos puros de metanógenos pueden convertir once sustratos distintos en metano (**Tabla 17.6**). Resulta interesante que ninguno de estos sustratos sean compuestos tan habituales como la glucosa, los ácidos grasos o los ácidos orgánicos (aparte del acetato y el piruvato). Los compuestos como la glucosa pueden convertirse en metano, pero sólo mediante la cooperación entre metanógenos y otras bacterias anaerobias. En presencia de la mezcla adecuada de microorganismos, prácticamente cualquier compuesto orgánico puede ser convertido en metano y CO_2 (Sección 21.10).

La lista de sustratos que se muestra en la Tabla 17.6 incluye tres clases de compuestos. Estas clases corresponden a los sustratos tipo CO_2, sustratos metilados y sustratos acetótroficos. Los sustratos tipo CO_2 incluyen por supuesto al propio CO_2, que es reducido a metano usando H_2 como donante de electrones:

$$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O \; \Delta G^{0\prime} = -131 \text{ kJ}$$

Tabla 17.6 Sustratos convertidos a metano por varias arqueas metanogénicas

I. Sustratos tipo CO_2
Dióxido de carbono, CO_2 (con electrones derivados de H_2, algunos alcoholes o piruvato)
Fórmiato, $HCOO^-$
Monóxido de carbono, CO
II. Sustratos metilo
Metanol, CH_3OH
Metilamina, $CH_3NH_3^+$
Dimetilamina, $(CH_3)_2NH_2^+$
Trimetilamina, $(CH_3)_3NH^+$
Metilmercaptano, CH_3SH
Dimetilsulfuro, $(CH_3)_2S$
III. Sustratos acetotróficos
Acetato, CH_3COO^-
Piruvato, CH_3COCOO^-

Otros sustratos en esta clase incluyen el formiato (que es $CO_2 + H_2$ en forma orgánica) y monóxido de carbono (CO).

La segunda clase de sustratos metanogénicos son los sustratos metilados (Tabla 17.6). Con el metanol (CH_3OH) como modelo de sustrato metilado, la formación de CH_4 puede realizarse de dos maneras distintas. En la primera, el CH_3OH puede reducirse empleando un donador de electrones externo como por ejemplo el H_2:

$$CH_3OH + H_2 \rightarrow CH_4 + H_2O \; \Delta G^{0\prime} = -113 \text{ kJ}$$

Alternativamente y en ausencia de H_2, parte del CH_3OH puede oxidarse hasta CO_2 para generar los electrones que se necesitan para reducir otras moléculas de CH_3OH hasta CH_4:

$$4CH_3OH \rightarrow 3CH_4 + CO_2 + 2H_2O \; \Delta G^{0\prime} = -319 \text{ kJ}$$

El proceso metanogénico final es la rotura del acetato hasta $CO_2 + CH_4$, lo que se denomina reacción *acetotrófica*:

$$CH_3COO^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^- \; \Delta G^{0\prime} = -31 \text{ kJ}$$

Muy pocos metanógenos son acetotróficos (Tabla 17.5). Sin embargo, las mediciones de metanogénesis en algunos hábitats metanogénicos como los fangos de aguas residuales (Sección 36.2) demuestran que alrededor de dos tercios del metano generado se produce a partir de acetato y un tercio a partir de $CO_2 + H_2$. Por tanto, el papel ecológico de los metanógenos acetotróficos parece ser muy importante, aunque estos organismos parezcan presentar una diversidad limitada.

Como es evidente al analizar las reacciones mostradas más arriba, todas son reacciones que liberan energía (exoergónicas) y por tanto pueden emplearse para sintetizar ATP. Los detalles bioquímicos de la metanogénesis serán presentados con más detalle en la Sección 21.10. Aquí sólo comentaremos que el proceso puede acoplarse a la generación de fuerza protón motriz y que la síntesis de ATP se produce mediante la acción de ATPasas (Sección 5.12). La fosforilación a nivel de sustrato, típica de las bacterias fermentativas, no parece ocurrir en los metanógenos.

Methanocaldococcus jannaschii como modelo de metanógeno

Como se comentó en la Sección 13.2, el genoma del metanógeno hipertermófilo *Methanocaldococcus jannaschii* (Figura 17.8*a*) y los de varios otros metanógenos, han sido secuenciados al completo. El genoma circular de *M. jannaschii* (1.66-Mpb) contiene aproximadamente 1700 genes, entre los cuales ya se han identificado los que codifican las enzimas de la metanogénesis y los de varias funciones celulares esenciales. Resulta interesante resaltar que la mayoría de los genes de *M. jannaschii* que codifican funciones tales como las rutas metabólicas esenciales o la división celular, son parecidos a los de bacterias. En contraposición, la mayoría de los genes de *M. jannaschii* que codifican procesos moleculares básí-

www.medi

cos, como la transcripción o la traducción, se parecen más a los de eucariotas. Este descubrimiento refleja los diversos rasgos compartidos entre arqueas y eucariotas y entre bacterias y eucariotas (Tablas 14.1 y 14.2) y podrían también reflejar el hipotético origen endosimbiótico de las células eucariotas (Sección 14.4). Por otro lado, el análisis del genoma de *M. jannaschii* también demuestra que cerca del 50% de sus genes no tienen equivalentes entre los genes conocidos de ningún otro grupo de organismos. Esto sugiere bien que existen muchas funciones celulares codificadas por el DNA de arqueas que todavía no han sido descubiertas o bien que muchas de las funciones conocidas están codificadas por grupos redundantes (y bastante distintos) de genes.

17.4 Minirrevisión

Las arqueas metanogénicas son anaerobios estrictos cuyo metabolismo está ligado a la producción de metano (CH_4).

- ¿Qué demuestra el experimento de Volta?
- ¿Cuáles son los principales sustratos para la metanogénesis?

17.5 *Thermoplasmatales*

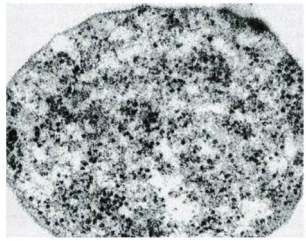
Géneros clave: *Thermoplasma, Picrophilus, Ferroplasma*

Una línea filogenética distinta de arqueas incluye géneros termófilos y acidófilos extremos: *Thermoplasma*, *Ferroplasma* y *Picrophilus* (Figura 17.1). Estos procariotas se encuentran entre los más acidófilos de todos los microorganismos conocidos, hasta el extremo de que *Picrophilus* es capaz de crecer incluso por debajo de pH 0. También forman su propio orden taxonómico dentro de las euriarqueotas; los termoplasmatales. Comenzaremos con una descripción de *Thermoplasma* y *Ferroplasma*, dos organismos con cierto parecido a los micoplasmas.

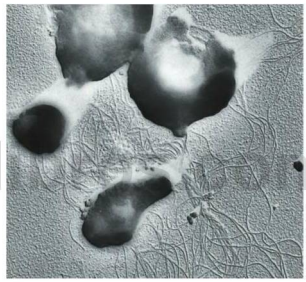
Arqueas carentes de pared celular

Thermoplasma y *Ferroplasma* carecen de pared celular y se parecen en este respecto a los micoplasmas (Sección 16.3). *Thermoplasma* (**Figura 17.9a**) es un quimiorganótrofo que crece en medio complejo a una temperatura óptima de 55 °C y pH2. Se han descrito dos especies de *Thermoplasma*, *Thermoplasma acidophilum* y *Thermoplasma volcanium*. Las especies de *Thermoplasma* son aerobios facultativos, que crecen aeróbica o anaeróbicamente mediante la respiración de azufre (Sección 21.8). La mayoría de las estirpes de *T. acidophilum* se han obtenido de montones de residuos de carbón autocalentados. Los residuos de carbón contienen fragmentos de carbón, pirita (FeS_2) y otros materiales orgánicos extraídos del carbón. Cuando se amontonan en las minas a cielo abierto, los residuos de carbón se calientan por combustión espontánea (**Figura 17.10**). Esto prepara el terreno para el crecimiento de *Thermoplasma*, que aparentemente metaboliza los compuestos orgánicos que se filtran desde los residuos de carbón calientes. Otra especie, *Thermoplasma volcanium*, se ha aislado en suelos ácidos calientes de todo el mundo y exhibe una gran movilidad gracias a sus múltiples flagelos (Figura 17.9*b*).

Para sobrevivir el estrés osmótico inherente a la vida sin una pared celular y para soportar el doble carácter extremo de su medio ambiente, con bajo pH y alta tem-



(a)



(b)

Figura 17.9 Especies de *Thermoplasma*. *(a) Thermoplasma acidophilum*, una arquea termófila y acidófila parecida a los micoplasmas. Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. El diámetro de las células es muy variable, desde 0,2 hasta 5 μm. La célula de la imagen tiene alrededor de 1 μm de diámetro. *(b)* Preparación de células de *Thermoplasma volcanium* aisladas de manantiales termales. Las células miden 1-2 μm de diámetro. Observe los abundantes flagelos y la morfología irregular de la célula.

www.medilibros.com

Figura 17.10 Imagen de un típico montón de residuos de carbón autocalentados, el hábitat de *Thermoplasma*. El montón de desechos que contiene restos de carbón, pirita u otros sustratos microbianos, se mantiene caliente como consecuencia del metabolismo microbiano.

peratura, *Thermoplasma* ha desarrollado evolutivamente una membrana citoplasmática de estructura única. Esta membrana está formada por un material tipo lipopolisacárido denominado *lipoglicano* (Sección 16.3). Esta substancia consiste en una membrana monocapa de lípido tetraéter con manosa y glucosa (**Figura 17.11**). Esta molécula constituye una importante proporción de la composición total de lípidos de *Thermoplasma*. La membrana también contiene glicoproteínas, pero no esteroles. Estas moléculas estabilizan la membrana de *Thermoplasma* frente a condiciones ácidas y temperatura alta.

El genoma de *Thermoplasma* resulta interesante. Como los micoplasmas (Secciones 16.3 y 13.2), *Thermoplasma* tiene un genoma pequeño (1.5 Mpb). Además, el DNA de *Thermoplasma* está asociado con una proteína muy básica de unión a DNA que organiza al DNA en partículas globulares que recuerdan a los nucleosomas de las células eucariotas (la Sección 8.5 analiza la organización del DNA en eucariotas). Esta proteína es homóloga a la proteína HU de bacterias, que se une a DNA, es similar a las histonas y juega un importante papel en la organización del DNA celular. En contraposición, otras euriarqueotas contienen proteínas básicas homólogas a las histonas de unión a DNA de las células eucariotas (Sección 17.14).

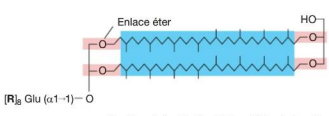


Figura 17.11 Estructura del lipoglicano tetraéter de *Thermoplasma acidophilum*. Glu, Glucosa; Man, manosa. Fíjese en los enlaces éter (marcados en rosa) y observe que este lípido tiende a formar una membrana monocapa en lugar de una membrana bicapa (compare con la Figura 4.8*b*).

Ferroplasma

Ferroplasma es un pariente quimiolitótrofo de *Thermoplasma*. *Ferroplasma* es un acidófilo extremo; sin embargo no es termófilo, ya que crece a una temperatura óptima de 35 °C. Para obtener energía, *Ferroplasma* oxida Fe^{2+} hasta Fe^{3+}(esta reacción produce ácido, Figura 17.16*d*) y emplea CO_2 como fuente de carbono (autotrofía).

Ferroplasma vive en residuos mineros que contienen pirita (FeS), que es su fuente de energía. La acidofilia extrema de *Ferroplasma* le permite bajar el pH de su hábitat hasta valores extremadamente ácidos. Una vez que se ha generado una acidez moderada por medio de la oxidación del Fe^{2+} por organismos acidófilos como por ejemplo *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, *Ferroplasma* se activa y acaba generando el pH extremadamente bajo propio del drenaje minero ácido. La actividad de *Ferroplasma* puede llegar a producir agua ácida a pH 0 (Figura 24.12 y Secciones 24.5 y 24.6).

Picrophilus

Picrophilus es un organismo relacionado filogenéticamente con *Thermoplasma* y *Ferroplasma*. Aunque *Thermoplasma* y *Ferroplasma* son acidófilos extremos, *Picrophilus* lo es aún más, dado que su pH óptimo de crecimiento es de 0,7 y es capaz de crecer por debajo de pH 0. *Picrophilus* sí tiene pared celular (una pared S; Sección 4.9) y su DNA presenta una proporción GC mucho más baja que la de *Thermoplasma* o *Ferroplasma*. Aunque están relacionados filogenéticamente, *Thermoplasma*, *Ferroplasma* y *Picrophilus* tienen genomas bastante diferentes. Se han aislado en Japón dos especies de *Picrophilus* de solfataras ácidas y ambas crecen como heterótrofos en medios complejos, al igual que *Thermoplasma*.

La fisiología de *Picrophilus* resulta interesante como modelo de tolerancia a condiciones extremas de acidez. El análisis de su membrana citoplasmática revela una disposición inusual de lípidos, lo que conforma una membrana muy ácida e impermeable a un pH muy bajo. En contraposición, a una acidez moderada como por ejemplo pH 4, las membranas de las células de *Picrophilus* empiezan a perder consistencia y se desintegran. Resulta obvio que estos organismos han evolucionado para sobrevivir tan sólo en ambientes muy ácidos.

17.5 Minirrevisión

Thermoplasma, *Ferroplasma* y *Picrophilus* son termófilos extremadamente acidófilos que forman su propia familia filogenética en arqueas y que habitan en pilas de residuos de carbón y en solfataras muy ácidas. Las células de *Thermoplasma* y *Ferroplasma* carecen de pared celular, aspecto en el que se parecen a los micoplasmas.

- ¿En qué se parecen *Thermoplasma* y *Picrophilus*? ¿Y en qué se diferencian?
- ¿Cómo refuerza *Thermoplasma* su membrana citoplasmática para sobrevivir careciendo de pared celular?
- ¿Cómo obtiene *Ferroplasma* su energía para el crecimiento?

17.6 *Thermococcales* y *Methanopyrus*

Géneros clave: *Thermococcus, Pyrococcus, Methanopyrus*

Unos cuantos euriarqueotas prosperan en ambientes termales y algunos son hipertermófilos. Analizaremos aquí tres euriarqueotas hipertermófilos que forman un grupo separado muy cerca de la raíz del árbol filogenético de las arqueas (Figura 17.1). Dos de estos organismos, *Thermococcus* y *Pyrococcus*, muestran características fenotípicas muy similares a las de las crenarqueotas hipertermófilas (que se analizarán en las Secciones 17.9-17.11). *Thermococcus* y *Pyrococcus* forman un orden independiente: los *Thermococcales* (Tabla 17.9). El tercer organismo, *Methanopyrus*, es un metanógeno que en su fisiología básica se parece mucho a otros metanógenos (Sección 17.4 y Tabla 17.5), pero es inusual en su hipertermofilia y su localización filogenética (Figura 17.1).

Thermococcus y *Pyrococcus*

Thermococcus es una *Euriarqueota* hipertermófila esférica, que vive en aguas termales en ausencia de oxígeno en diversas regiones de la Tierra. Sus células esféricas tienen un mechón de flagelos polares y son por tanto muy móviles (**Figura 17.12a**). *Thermococcus* es un quimioorganótrofo anaerobio estricto, que metaboliza proteínas y otras mezclas orgánicas complejas (incluyendo algunos azúcares) utilizando S^0 como donador de electrones, a temperaturas que varían entre 55 y 95 °C.

Pyrococcus es parecido morfológicamente a *Thermococcus* (Figura 17.12*b*). *Pyrococcus* (en latín «pyro» significa literalmente «fuego») se diferencia de *Thermococcus* fundamentalmente en que necesita temperaturas más altas; *Pyrococcus* crece mejor entre 70 y 106 °C, con 100 °C como temperatura óptima. Metabólicamente, *Thermococcus* y *Pyrococcus* son también muy parecidos. Oxidan proteínas, almidón o maltosa como donadores de electrones y utilizan S^0 como aceptor final de electrones, reduciéndolo hasta H_2S. Tanto *Thermococcus* como *Pyrococcus* generan H_2S en presencia de S^0, mientras que en su ausencia generan H_2. Las Tablas 17.8 y 17.9 enumeran más características de estos organismos.

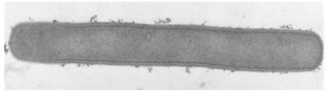
Methanopyrus

Methanopyrus es un bacilo metanógeno hipertermófilo (**Figura 17.13**). *Methanopyrus* se ha aislado de los sedimentos calientes en el entorno de chimeneas hidrotermales submarinas y de las paredes de chimeneas hidrotermales (Sección 17.11; Sección 24.11). La localización filogenética de *Methanopyrus* no está muy clara por el momento. Parece situarse cerca de la base del árbol filogenético de las arqueas (Figura 17.1) y comparte características fenotípicas con los hipertermófilos (puede crecer a una temperatura máxima de 110 °C) y con los metanógenos.

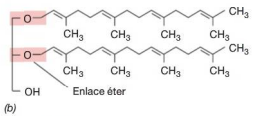
(a)

(b)

Figura 17.12 Arqueas hipertermófilas esféricas de regiones volcánicas submarinas. *(a) Thermococcus celer*. Microfotografía con el microscopio electrónico de una preparación de células (observe en los mechones de flagelos). *(b)* Célula de *Pyrococcus furiosus* en división. Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. Las células de ambos organismos miden aproximadamente 0,8 μm de diámetro.



(a)



(b)

Figura 17.13 *Methanopyrus*. *Methanopyrus* crece a una temperatura óptima de 100 °C y sólo puede producir CH_4 a partir de $CO_2 + H_2$. *(a)* Microfotografía con el microscopio electrónico de una célula de *Methanopyrus kandleri*, el más termófilo de todos los metanógenos (límite superior de temperatura, 110 °C). Esta célula mide 0,5 × 8 μm. *(b)* Estructura del inusual lípido de *M. kandleri*. Se trata del lípido con enlace éter habitual de las arqueas, excepto en que sus cadenas laterales están constituidas por una forma insaturada de fitanilo denominada geranilgeraniol.

Methanopyrus sólo produce metano a partir de H_2 y CO_2 y crece muy rápidamente para ser un organismo autótrofo (creciendo a una temperatura óptima de 100 °C, su tiempo de generación es menor de 1 h). Sin embargo y en contraposición a los metanógenos mesófilos, las células de *Methanopyrus* contienen disueltos en su citoplasma niveles elevados del compuesto cíclico 2,3-difosfoglicerato, un compuesto derivado de la glicólisis. Este compuesto está presente en *Methanopyrus* a una concentración superior a 1 M y se cree que actúa como un agente termoestabilizador que previene la desnaturalización de las enzimas y del DNA celulares (Sección 17.14).

Otro aspecto inusual de *Methanopyrus* es que contiene lípidos de membrana que no se encuentran en ningún otro organismo. Recuerde que en los lípidos de las arqueas, las cadenas laterales de glicerol contienen **fitanilo** en lugar de ácidos grasos, unidos al glicerol mediante enlaces éter (Sección 4.3). En *Methanopyrus*, el lípido unido mediante enlace éter es una forma insaturada de los tetraéteres de dibifitanilo frente a los normalmente saturados que se encuentran en otras arqueas hipertermófilas (Figura 17.13*b*; Sección 4.3 y Figura 4.8). Por lo que se conoce de la bioquímica de su ruta biosintética, se cree que este lípido constituye una característica primitiva. El genoma de *Methanopyrus kandleri* ha sido secuenciado y consiste en un sólo cromosoma circular de aproximadamente 1,7 Mpb, parecido al de otros metanógenos en el tipo y orden de sus genes. Este organismo constituye un fascinante modelo de las más primitivas formas de vida sobre la Tierra (Secciones 14.2-14.4 y 17.15) tanto por su posición filogenética, como por su hipertermofilia, metabolismo anaerobio y lípidos primitivos.

El descubrimiento de *Methanopyrus* ofrece una posible alternativa a la fuente del metano presente en los sedimentos oceánicos calientes, que antes se consideraban demasiado calientes para permitir metanogénesis de origen biológico. A la profundidad a la que se ha encontrado *Methanopyrus* —aproximadamente 2.000 m— el agua permanece líquida a temperaturas de hasta 350 °C. Por tanto, cabe la posibilidad de que existan otros metanógenos hipertermófilos capaces de crecer a 110 °C o a temperaturas aún mayores.

17.7 *Arqueoglobales*

Géneros clave: *Archaeoglobus, Ferroglobus*

Más tarde veremos que una serie de *crenarqueotas* hipertermófilas son capaces de respiración anaerobia durante la cual el azufre elemental (S^0) se emplea como aceptor de electrones, reduciéndose hasta H_2S (*véase* Tabla 17.8). Resulta curioso que ninguna de estas crenarqueotas sean reductoras de sulfato, es decir, capaces de reducir SO_4^{2-} hasta H_2S mediante su metabolismo energético. Sin embargo *Archaeoglobus* es una euriarqueotas hipertermófila que sí puede reducir SO_4^{2-} y forma un linaje filogenéticamente independiente dentro de las euriarqueotas (Figura 17.1).

Archaeoglobus y su genoma

Archaeoglobus fue aislado de sedimentos marinos calientes en el entorno de chimeneas hidrotermales. El metabolismo de *Archaeoglobus* acopla la oxidación de H_2, lactato, piruvato, glucosa o compuestos orgánicos complejos a la reducción de sulfato hasta sulfuro. Las células de *Archaeoglobus* son cocos irregulares (**Figura 17.14a**) y sus cultivos crecen de forma óptima a 83 °C.

Archaeoglobus comparte una serie de características con los metanógenos. En la Sección 21.10 analizaremos la distintiva bioquímica de la metanogénesis. Resumiendo, este proceso requiere una serie de coenzimas características. Con raras excepciones, estas coenzimas sólo se han encontrado en metanógenos (Sección 21.10). Sorprendentemente, *Archaeoglobus* también tiene muchas de estas coenzimas y de hecho cultivos de este organismo pueden generar pequeñas cantidades de metano. Por tanto *Archaeoglobus*, que tiene una cercana relación filogenética con los metanógenos (Figura 17.1), podría ser un

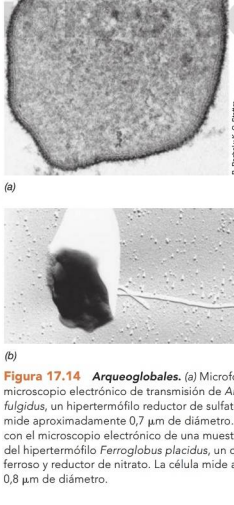


Figura 17.14 ***Arqueoglobales.*** *(a)* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de *Archaeoglobus fulgidus*, un hipertermófilo reductor de sulfato. Cada célula mide aproximadamente 0,7 μm de diámetro. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de una muestra de criofractura del hipertermófilo *Ferroglobus placidus*, un oxidador de hierro ferroso y reductor de nitrato. La célula mide aproximadamente 0,8 μm de diámetro.

tipo de organismo metabólicamente intermedio, enlazando los procesos de mantenimiento de energía de la metanogénesis con otras formas de respiración.

La secuencia del genoma de *Archaeoglobus* ha planteado un enigma al respecto de la metanogénesis. Aunque *Archaeoglobus* puede producir metano, carece del gen codificante de una enzima clave en la metanogénesis, la metil-CoM reductasa (Sección 21.10). Por tanto el metano producido por *Archaeoglobus* no proviene de la actividad de esta enzima clave, desconociéndose su origen. El genoma de *Archaeoglobus* tiene alrededor de 2.400 genes y comparte una serie de ellos con los metanógenos (Sección 17.4). Sin embargo, el genoma de *Archaeoglobus* también tiene una serie de genes exclusivos de este organismo, lo que constituye un ejemplo de la amplia diversidad genética de las arqueas. Como sucede en las especies de bacterias, aproximadamente un tercio de los genes en cada genoma son exclusivos, y no están presentes en ningún otro organismo (Sección 13.2).

Ferroglobus

Ferroglobus (Figura 17.14*b*) está relacionado con *Archaeoglobus*, pero no es reductor de sulfato. *Ferroglobus* es un quimiolitótrofo oxidador de hierro y obtiene energía de la oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} acoplada a la reducción de NO^{3-} hasta NO^{2-} y NO (*véase* Tabla 17.8). *Ferroglobus* crece autotróficamente y también puede utilizar H_2 o H_2S como donadores de electrones en su metabolismo energético. *Ferroglobus* fue aislado en chimeneas hidrotermales de fondos marinos someros y crece a una temperatura óptima de 85 °C.

Ferroglobus resulta interesante por varias razones, pero especialmente por su capacidad de oxidar Fe^{2+} hasta Fe^{3+} en ausencia de oxígeno. Este proceso podría explicar la abundancia de Fe^{3+} en rocas muy antiguas, como las formaciones bandeadas de hierro (Sección 14.3), lo que previamente se pensaba que podía deberse a la oxidación de Fe^{2+} por el O_2 generado por las cianobacterias (fotosíntesis oxigénica). Por tanto, el metabolismo de *Ferroglobus* puede tener cierta repercusión en la datación del origen de las cianobacterias y la subsecuente oxigenación de la Tierra. Ciertas bacterias fotótrofas anoxigénicas también pueden oxidar Fe^{2+} en ausencia de oxígeno (Sección 20.11). Por tanto, obviamente existen varios posibles orígenes anaerobios para el Fe^{3+} formado en tiempos remotos, lo que dificulta estimar el momento preciso de aparición evolutiva de las cianobacterias (Figura 14.7).

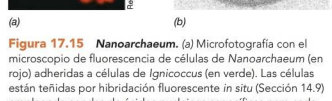
17.8 Nanoarchaeum y Aciduliprofundum

Géneros clave: *Nanoarchaeum y Aciduliprofundum*

Otros dos miembros de las *euriarqueotas* merecen comentario en este capítulo, *Nanoarchaeum* y *Aciduliprofundum*. *Nanoarchaeum equitans* es un procariota muy inusual. Es uno de los organismos conocidos más pequeños, tiene uno de los genomas más pequeños de cualquier célula y vive como simbionte obligado de *Ignicoccus*, una *crenarqueota* (Sección 17.11). Las células cocoidales de *Nanoarchaeum* son muy pequeñas, de aproximadamente 0,4 μm de diámetro, con tan sólo el 1% del volumen de una célula de *Escherichia coli*. No pueden crecer en cultivo puro y sólo se replican cuando están unidas a la superficie de las células de *Ignicoccus*, a una densidad de hasta 10 o más células de *Nanoarchaeum* por cada célula de *Ignicoccus* (**Figura 17.15a**). Todavía no se sabe si el crecimiento de *Ignicoccus* puede verse retrasado por la asociación de un gran número de células de *Nanoarchaeum*, actuando como un parásito de su hospedador. Por tanto, está pendiente de confirmación si esta es la primera asociación parasítica identificada en arqueas. En cualquier caso, el aspecto de las células de *Nanoarchaeum* es el típico de las arqueas, con una pared celular compuesta por una capa S (Sección 4.9) que reviste lo que parece ser un espacio periplásmico (Figura 17.15*b*).

N. equitans y su hospedador *Ignicoccus* se aislaron por primera vez de una chimenea hidrotermal submarina cerca de la costa de Islandia. Muestreos de campo de genes del 16S rRNA (Sección 22.5) indican que existen organismos parecidos filogenéticamente a *Nanoarchaeum* en otras chimeneas hidrotermales submarinas y en manantiales termales terrestres; las arqueas de este tipo están probablemente distribuidas por todo el mundo en hábitats lo suficientemente calientes. *Nanoarchaeum*, al igual que su hospedador *Ignicoccus*, crece a temperaturas que varían entre los 70 y los 98 °C, con un óptimo alrededor de los 90 °C.

El metabolismo de *Nanoarchaeum* no está todavía bien estudiado, pero parece depender de su hospedador



(a) (b)

Figura 17.15 ***Nanoarchaeum.*** *(a)* Microfotografía con el microscopio de fluorescencia de células de *Nanoarchaeum* (en rojo) adheridas a células de *Ignicoccus* (en verde). Las células están teñidas por hibridación fluorescente *in situ* (Sección 14.9) empleando sondas de ácidos nucleicos específicas para cada organismo. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de una sección fina de una célula de *Nanoarchaeum*. Observe la peculiar pared celular. Las células de *Nanoarchaeum* miden aproximadamente 0,4 μm de diámetro.

para muchas de sus funciones metabólicas; *Ignicoccus* es un autótrofo que utiliza H_2 como donante de electrones y S^0 como aceptor de electrones. Por ejemplo, *Nanoarchaeum* no es capaz de metabolizar hidrógeno y azufre para obtener energía y todavía no está claro si genera ATP a partir de compuestos que obtiene de *Ignicoccus* o si consigue directamente ATP de su hospedador.

Filogenia y genómica de *Nanoarchaeum*

Aunque la secuencia de su gen del 16S rRNA coloca claramente a *Nanoarchaeum* dentro del dominio arqueas, su secuencia se diferencia en muchos sitios de las secuencias de los genes del 16S rRNA de otras arqueas, incluso en regiones de la molécula que están muy conservadas entre las arqueas. Estas diferencias hicieron que se colocara inicialmente a *Nanoarchaeum* en un nuevo filum independiente. Sin embargo, análisis filogenéticos más detallados, que emplean genes de proteínas ribosomales y otras proteínas clave para la célula, sugieren que *Nanoarchaeum* probablemente es un género de *euriarqueotas* y más cercano a los miembros de las *Thermococcales* (Figura 17.1).

La secuencia del genoma de *N. equitans* proporciona información sobre el estilo de vida simbiótico estricto de este organismo. Su genoma circular único sólo tiene 490.885 nucleótidos, lo que lo convierte en uno de los genomas no víricos más pequeños secuenciados. Por ejemplo el genoma de *Escherichia coli*, un miembro de las gammaproteobacterias, tiene un tamaño nueve veces mayor, de 4.639.000 nucleótidos. En el genoma de *N. equitans* parecen faltar los genes para varias funciones metabólicas importantes , incluyendo los de la biosíntesis de aminoácidos, nucleótidos, coenzimas y lípidos. También faltan genes que codifican proteínas de las rutas catabólicas, como la glicólisis. Se supone que todas estas funciones las cubre para *Nanoarchaeum* su hospedador *Ignicoccus*, transfiriendo las substancias necesarias desde *Ignicoccus* hasta las células asociadas de *Nanoarchaeum*. *Nanoarchaeum* tiene algunos, pero no todos, los genes necesarios para codificar una ATPasa, lo que sugiere que podría no ser capaz de sintetizar una ATPasa funcional. Si no tiene una ATPasa y no se produce fosforilación a nivel de susbtrato (por falta de enzimas glucolíticas), entonces *Nanoarchaeum* podría depender de su hospedador *Ignicoccus* tanto para el ATP como para el carbono. Como las bacterias intracelulares obligadas parasíticas o simbióticas, como *Rickettsia* y *Chlamydia*, que infectan al hombre, *Nanoarchaeum* parece depender de *Ignicoccus* para la mayoría de sus necesidades metabólicas.

Con la falta de tantos genes, ¿qué genes son los que tiene el genoma de *Nanoarchaeum*? *Nanoarchaeum* tiene genes identificables como los que codifican enzimas clave para la replicación del DNA, la transcripción y la traducción, así como genes que codifican las enzimas de reparación del DNA. Además de ser muy pequeño, el genoma de *Nanoarchaeum* se cuenta entre los más compactos (densos en genes) de todos los organismos conocidos; más del 95% del cromosoma de *Nanoarchaeum* codifica proteínas, 552 proteínas comparadas con las 4.243 de *E. coli*. Claramente, *Nanoarchaeum* vive cerca del límite de la vida en cuanto a volumen celular y capacidad genética. El único organismo con un genoma más pequeño y con menos genes que *Nanoarchaeum* es *Carsonella*, una bacteria endosimbionte de ciertos insectos cuyo genoma tiene sólo 159.000 nucleótidos y codifica tan sólo 182 proteínas.

La reducción del genoma, algo común entre organismos parásitos o endosimbiontes obligados (Sección 13.4), puede producirse mediante la eliminación de genes innecesarios durante la adaptación al hospedador y la integración genética con éste a lo largo del proceso evolutivo. Por el momento, la hipótesis más probable sobre la evolución de *Nanoarchaeum* es que fue en algún momento una especie hipertermófila y de vida libre de *euriarqueotas*, que se introdujo en un estilo de vida parasítico y desde entonces ha sufrido una notable reducción de su genoma conforme se integraba genéticamente con su hospedador *Ignicoccus*. Una interesante pregunta a este respecto sería si de hecho existen parientes de vida libre de *Nanoarchaeum*. Hasta el momento, no se ha aislado ninguno. Pero teniendo en cuenta que el análisis de genes del SSU rRNA obtenidos por muestreos de comunidades microbianas demuestran la existencia de una enorme diversidad de arqueas todavía sin cultivar en los hábitats con altas temperaturas, no sería sorprendente que finalmente se produjera el descubrimiento de especies de *Nanoarchaeum* de vida libre.

Aciduliprofundum

Aciduliprofundum es otro *euriarqueota* notable. Este termófilo crece en un rango de temperaturas entre 55-75 °C. Esto es particularmente llamativo porque también es un acidófilo, que crece en un rango de pH de entre 3,3-5,8, en los depósitos sulfurosos de las chimeneas hidrotermales. Antes de su descubrimiento, tan sólo se habían aislado microorganismos neutrófilos o tolerantes al ácido de estos depósitos, que se habían propuesto como un ambiente adecuado para los acidófilos. *Aciduliprofundum*, que es un quimiorganótrofo que emplea azufre elemental o ión férrico como aceptores de electrones, constituye hasta el 15% de las arqueas presentes en estos depósitos y que por tanto podría participar de modo relevante en los ciclos del azufre y del hierro en los depósitos de azufre en las chimeneas hidrotermales del fondo oceánico.

17.6-17.8 Minirrevisión

Las *euriarqueotas* hipertermófilas incluyen a las *Thermococcales*, *Arqueoglobales*, *Methanopyrus*, *Nanoarchaeum* y *Aciduliprofundum*. Todos los organismos de este grupo tienen una temperatura óptima de crecimiento superior a los 80 °C. *Nanoarchaeum* es un miembro de las arqueas pequeño

y parásito. Su genoma es uno de los más pequeños de todos los organismos conocidos. *Nanoarchaeum* carece de muchos genes, excepto aquellos que codifican procesos moleculares centrales y por tanto depende de su hospedador, *Ignicoccus*, para la mayoría de sus necesidades celulares.

- ¿En qué se diferencia el metabolismo de *Thermococcus* del de *Methanopyrus*?
- ¿Cuál de las euriarqueotas hipertermófilas es un auténtico reductor de sulfato?
- ¿En qué se diferencia el metabolismo de *Ferroglobus* del de *Archaeoglobus*?
- ¿Qué rasgos de *Nanoarchaeum* lo hacen particularmente interesante desde una perspectiva evolutiva?
- ¿Cómo sabemos que *Nanoarchaeum* es un *hipertermófilo*?

III FILUM *CRENARCHAEOTA*

Las crenarqueotas son diferentes filogenéticamente de las euriarqueotas (Figura 17.1) y habitan en ambos extremos de temperatura de la naturaleza: agua hirviendo y agua helada. La mayoría de las crenarqueotas cultivadas en el laboratorio son hipertermófilas, hasta el punto de que la temperatura óptima para algunas de ellas supera el punto de ebullición del agua. Comenzaremos con una visión general de los hábitats y el metabolismo energético de las crenarqueotas y describiremos las propiedades de algunos géneros termófilos clave. Cerraremos esta sección con un análisis de las crenarqueotas de ambientes templados y fríos.

17.9 Hábitats y metabolismo energético de las crenarqueotas

La **Tabla 17.7** muestra un resumen de las crenarqueotas. La mayoría de las arqueas hipertermófilas se han aislado de suelos o aguas calentados por energía geotérmica, que contienen azufre elemental y sulfuros y la mayoría de las especies metabolizan el azufre de una forma u otra. En ambientes terrestres, las fuentes termales ricas en sulfuros, el barro hirviente y ciertos suelos pueden tener temperaturas de hasta 100 °C y pueden ser desde suavemente ácidas hasta extremadamente ácidas, debido a la producción de ácido sulfúrico (H_2SO_4) procedente de oxidación biológica del H_2S y del S^0 (Secciones 20.10 y 24.4). Estos ambientes calientes y ricos en sulfuros, denominados **solfataras**, pueden encontrarse por todo el mundo (**Figura 17.16**), por ejemplo en Italia, Islandia, Nueva Zelanda y el Parque Nacional de Yellowstone en Wyoming (EE.UU).

Dependiendo de la geología del terreno circundante, las solfataras pueden ser desde suavemente ácidas o ligeramente alcalinas (pH 5-8), hasta extremadamente ácidas con pH inferiores a 1. Las crenarqueotas hipertermófilas se han aislado tanto de ambientes alcalinos como de ambientes ácidos, pero la mayoría de estos organismos habitan en ambientes calientes neutrales o ligeramente ácidos. Además de sus hábitat naturales, las arqueas hipertermófilas prosperan en ambientes calientes artificiales, en particular en el flujo de agua hirviente que procede de las centrales geotérmicas.

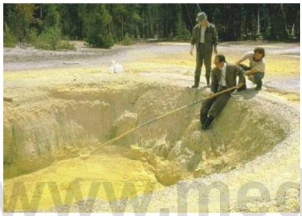
Las crenarqueotas hipertermófilas también viven en las fuentes termales submarinas **denominadas chimeneas hidrotermales**. Analizaremos la geología y microbiología de estos hábitats en la Sección 24.11. Aquí sólo es necesario mencionar que el agua submarina puede estar mucho más caliente que el agua en la superficie, por-

Tabla 17.7 Hábitats de crenarqueotas

	Área termal[b]		
Características	***Terrestre***	***Marina***	***Área no termal***[b]
Localizaciones	Solfataras (manantial termal, fumarolas, pozos de lodo, suelos calentados por vapor); plantas de energía geotérmica; profundidades de la corteza terrestre	Manantiales termales submarinos, sedimentos calientes y chimeneas; reservorios profundos de petróleo	Plancton en océanos de todo el mundo; cercanas a orilla y en aguas profundas de la Antartida; hielo marino; simbiontes de esponjas marinas
Temperatura	Superficie a 100 °C; subsuperficie, por encima de 100 °C	Hasta 400 °C (fumarolas)	−2 a +4 °C
Salinidad/pH	Normalmente menos del 1% NaCl; pH 0,5-9	Moderado, aproximadamente 3% NaCl; pH 5-9	3–8% NaCl; pH 7-9
Gases y otros nutrientes	CO_2, CO, CH_4, H_2, H_2S, S^0, $S_2O_3^{2+}$, SO_4^{2+}, NH_4^+, N_2	Igual que terrestres	CO_2, N_2, O_2; para quimiolitótrofos, sustratos inorgánicos sustratos como NH_4^+

[a] *Véanse* Figuras 17.10 y 17.16 Figuras 24.32 y 24.33.
[b] *Véase* Figura 17.22. Algunas especies de euriarqueotas también están presentes en agua de mar.

(a)



(b)

(c)

(d)

Figura 17.16 **Hábitats de arqueas hipertermófilas.** *(a)* Una típica solfatara en el *Parque Nacional de Yellowstone*. Vapor de agua rico en sulfuro de hidrógeno mana hasta la superficie terrestre. Debido al calor y a la acidez, sólo hay procariotas presentes. *(b)* Manantial termal rico en azufre, un hábitat con una densa población de *Sulfolobus*. La acidez de las solfataras y de los manantiales sulfurosos proviene de la oxidación del H_2S y S^0 hasta H_2SO_4 (ácido sulfúrico) por parte de *Sulfolobus* y otros procariotas relacionados. *(c)* Un típico manantial hirviente de pH neutro del Parque de Yellowstone; Imperial Geyser. En un hábitat de este tipo pueden habitar muchas especies diferentes de arqueas hipertermófilas. *(d)* Un manantial geotermal ácido y rico en hierro, que constituye otro hábitat para *Sulfolobus*. Aquí, las condiciones ácidas están producidas por la oxidación de Fe^{2+} hasta Fe^{3+} ($Fe^{3+} + 3H_2O \rightarrow Fe(OH)_3 + 3H^+$), más que la de S^0 hasta SO_4^{2-}.

que el agua submarina se encuentra bajo presión. De hecho, todos los hipertermófilos que tienen una temperatura óptima de crecimiento por encima de los 100 °C han sido aislados de dichas fuentes submarinas. Estas fuentes incluyen chimeneas tanto de aguas someras como las de la costa de Vulcano en Italia (a una profundidad de 2-10 m), como de aguas profundas (a una profundidad de 2.000-4.000 metros) cercanas a las dorsales oceánicas (Sección 23.9). Las chimeneas hidrotermales del fondo oceánico son los ambientes más calientes conocidos donde se hayan encontrado procariotas.

www.medilibros.com

Metabolismo energético

Las crenarqueotas hipertermófilas son, con unas pocas excepciones, anaerobios estrictos. Su metabolismo de producción de energía puede ser quimiorganótrofo o quimiolitótrofo (o ambos, por ejemplo en *Sulfolobus*) y depende de diversos donadores y aceptores de electrones (**Tabla 17.8**). La fermentación es infrecuente y la mayoría de las estrategias bioenergéticas implican respiración anaerobia (Tabla 17.8). La energía se conserva durante estos procesos respiratorios por el mismo mecanismo general tan extendido en bacterias: la transferencia de electrones en la membrana citoplasmática, dirigida a la generación de fuerza protón motriz, que se aprovecha para producir ATP por medio de ATPasas translocadoras de protónes (Sección 5.12).

Muchas crenarqueotas hipertermófilas pueden crecer quimiolitotróficamente en condiciones de ausencia de oxígeno, con H_2 como donante de electrones y S^0 o NO^{3-} como aceptores de electrones; unas cuantas también pueden oxidar H_2 de modo aerobio (Tabla 17.8). La respiración de H_2 con ión férrico ($Fe3^+$) como aceptor de electrones es el proceso empleado por varias hipertermófilas (Tabla 17.8). Otros estilos de vida quimiolitotróficos incluyen la oxidación de S^0 y $Fe2^+$aeróbicamente o de $Fe2^+$ anaeróbicamente con NO^{3-} como aceptor de electrones (Tabla 17.8). Sólo se conoce un hipertermófilo reductor de sulfato (*Archaeoglobus*, de los *euriarqueotas*, Sección 17.7). La única opción bioenergética que no es posible es la fotosíntesis; el organismo fotótrofo más termófilo conocido puede crecer hasta 73 °C (Tabla 6.1 y Figu-

Tabla 17.8 Reacciones de producción de energía en arqueas hipertermófilas

Clase nutricional	*Reacción de producción de energía*	*Tipo metabólico*[a]	*Ejemplo*
Quimioorganótrofo	Compuesto orgánico + $S^0 \rightarrow H_2S + CO_2$	AnR	*Thermoproteus, Thermococcus, Desulfurococcus, Thermofilum, Pyrococcus*
	Compuesto orgánico + $SO_4^{2-} \rightarrow H_2S + CO_2$	AnR	*Archaeoglobus*
	Compuesto orgánico + $O_2 \rightarrow H_2O + CO_2$	AeR	*Sulfolobus*
	Compuesto orgánico $\rightarrow CO_2 + H_2$ + ácidos grasos	AnR	*Staphylothermus, Pyrodictium*
	Compuesto orgánico + $Fe^{3+} \rightarrow CO_2 + Fe^{2+}$	AnR	*Pyrodictium*
	Piruvato $\rightarrow CO_2 + H_2$ + acetato	AnR	*Pyrococcus*
	Péptidos (H_2 + $S^0 \rightarrow H_2S$ estimula el crecimiento)	F	*Hyperthermus*
Quimiolitótrofo	$H_2 + S^0 \rightarrow H_2S$	AnR	*Acidianus, Pyrodictium, Thermoproteus, Stygiolobus, Ignicoccus*
	$H_2 + NO_3^- \rightarrow NO_2^- + H_2O$ (NO_2^- es reducido a N_2 en varias especies)	AnR	*Pyrobaculum*
	$4H_2 + NO_3^- + H^+ \rightarrow NH_4^+ + 2H_2O + OH^-$	AnR	*Pyrolobus*
	$H_2 + 2Fe^{3+} \rightarrow 2Fe^{2+} + 2H^+$	AnR	*Pyrobaculum, Pyrodictium, Archaeoglobus*
	$2H_2 + O_2 \rightarrow 2H_2O$	AeR	*Acidianus, Sulfolobus, Pyrobaculum*
	$2S^0 + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow 2H_2SO_4$	AeR	*Sulfolobus, Acidianus*
	$2FeS_2 + 7O_2 + 2H_2O \rightarrow 2FeSO_4 + 2H_2SO_4$	AeR	*Sulfolobus, Acidianus, Metallosphaera*
	$2FeCO_3 + NO_3^- + 6H_2O \rightarrow 2Fe(OH)_3 + NO_2^- + 2HCO_3^- + 2H^+ + H_2O$	AnR	*Ferroglobus*
	$4H_2 + SO_4^{2-} + 2H^+ \rightarrow 4H_2O + H_2S$	AnR	*Archaeoglobus*
	$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	AnR	*Methanopyrus, Methanocaldococcus, Methanothermus*

[a] AnR, respiración anaérobica; AeR, respiración aeróbica; F, fermentación.

www.medilibros.com

ra 17.26), demasiado frío para la mayoría de los hipertermófilos (**Tabla 17.9**).

Con estos conocimientos básicos sobre los hábitats y el metabolismo energético de las *crenarqueotas* hipertermófilas, veamos ahora algunos organismos representativos.

17.10 Hipertermófilos de hábitats volcánicos terrestres

Géneros clave: *Sulfolobus, Acidianus, Thermoproteus, Pyrobaculum*

Los hábitats volcánicos terrestres pueden alcanzar temperaturas de hasta 100 °C y son por tanto adecuados para las arqueas hipertermófilas. *Sulfolobus* y *Acidianus* son dos organismos relacionados filogenéticamente aislados de dichos ambientes. Estos géneros forman el núcleo del orden denominado Sulfolobales (Tabla 17.9).

Sulfolobales

Sulfolobus crece en manantiales termales ácidos, ricos en azufre (Figura 17.16), a temperaturas de hasta 90 °C y a valores de pH entre 1-5. *Sulfolobus* es un quimiolitótrofo aerobio, que oxida H_2S o S^0 hasta H_2SO_4 y fija CO_2como fuente de carbono. *Sulfolobus* también puede crecer como quimiorganótrofo. Las células de *Sulfolobus* son más o menos esféricas, pero están claramente lobulados (**Figura 17.17a**). Sus células se adhieren estrechamente a los cristales de azufre, donde son visibles al microscopio después de ser teñidas con colorantes fluorescentes (Figura 20.26*b*). Además de la respiración aeróbica de azufre o de compuestos orgánicos, *Sulfolobus* también puede oxidar Fe_2^+ hasta Fe_3^+, lo que se ha aplicado en el lavado a alta temperatura de las menas de hierro y de cobre (Sección 24.6).

Existe un aerobio facultativo que también vive en solfataras ácidas y se parece a *Sulfolobus*. Este organismo, llamado *Acidianus* (Figura 17.17*b*), se diferencia de *Sulfolobus* fundamentalmente en su capacidad para crecer utilizando azufre elemental tanto aeróbica como anaeróbicamente. En condiciones aerobias este organismo emplea S^0 como donador de electrones, oxidando S^0 hasta H_2SO_4, utilizando O_2 como aceptor de electrones. Anaeróbicamente, *Acidianus* utiliza S^0 como aceptor de electrones y H_2 como donador de electrones, formando H_2S como producto reducido. Por tanto, el destino metabólico del S^0 en los cultivos de *Acidianus* depende de la presencia o ausencia de O_2. *Acidianus* es más o menos esférico, al igual que *Sulfolobus*, pero no está tan lobulado (Figura 17.17*b*). Crece a temperaturas que varían desde 65 °C hasta un máximo de 95 °C, con un óptimo de 90 °C.

Thermoproteales

Los géneros clave entre los *termoproteales* son *Thermoproteus*, *Thermofilum* y *Pyrobaculum*. Los géneros *Thermoproteus* y *Thermofilum* están formados por bacilos que habitan en manantiales termales neutros o ligeramente

Table 17.9 Propiedades de algunas Crenarqueotas hipertermófilas

Orden/Género[a]	Morfología	Relación con el O_2[b]	Temperatura			pH óptimo
			Mínimo	Óptimo	Máximo	
Sulfolobales						
Sulfolobus	Coco lobulado	Ae	55	75	87	2-3
Acidianus	Coco	Fac	60	88	95	2
Metallosphaera	Coco	Ae	50	75	80	2
Stygiolobus	Coco lobulado	An	57	80	89	3
Sulfurisphaera	Coco	Fac	63	84	92	2
Sulfurococcus	Coco	Ae	40	75	85	2,5
Thermoproteales						
Thermoproteus	Bacilo	An	60	88	96	6
Thermofilum	Bacilo	An	70	88	95	5,5
Pyrobaculum	Bacilo	Fac	74	100	102	6
Caldivirga	Bacilo	An	60	85	92	4
Thermocladium	Bacilo	An	60	75	80	4,2
Desulfurococcales						
Desulfurococcus	Coco	An	70	85	95	6
Aeropyrum	Coco	Ae	70	95	100	7
Staphylothermus	Cocos en grupo	An	65	92	98	6-7
Pyrodictium	Forma de disco con filamentos	An	82	105	110[c]	6
Pyrolobus	Coco lobulado	Fac	90	106	113	5,5
Thermodiscus	Forma de disco	An	75	90	98	5,5
Ignicoccus	Coco irregular	An	65	90	103	5
Hyperthermus	Coco irregular	An	75	102	108	7
Stetteria	Coco	An	68	95	102	6
Sulfophobococcus	Forma de disco	An	70	85	95	7,5
Thermosphaera	Coco	An	67	85	90	7
Cepa 121	Coco	An	85	106	121	7
Arqueoglobales[c]						
Archaeoglobus	Coco	An	64	83	95	7
Ferroglobus	Coco irregular	An	65	85	95	7
Thermococcales[d]						
Thermococcus	Coco	An	70	88	98	6-7
Pyrococcus	Coco	An	70	100	106	6-8

[a] Los nombres de grupo acabados en «ales» corresponden a órdenes (Sección 14.14).
[b] Ae, aerobio; An, anaerobio; Fac, facultativo.
[c] Una especie puede crecer hasta a 121 °C.
[d] Filogenéticalmente, los géneros de este orden de hipertermófilos son miembros de las *euriarqueotas* (Secciones 17.6 y 17.7).

www.medilibros.com

ácidos. Las células de *Thermoproteus* son bacilos rígidos de aproximadamente 0,5 μm de diámetro y de longitud muy variable, desde células cortas de 1-2 μm (**Figura 17.18a**) hasta filamentos de 70-80 μm de longitud. Los filamentos de *Thermofilum* son más finos, unos 0,17-0,35 μm de ancho, con una longitud que llega hasta los 100 μm (Figura 17.18*b*).

Tanto *Thermoproteus* como *Thermofilum* son anaerobios estrictos que llevan a cabo una respiración anaerobia basada en el S^0 (Tabla 17.8). En contraposición a la mayoría de los termófilos, la sensibilidad al oxígeno de *Thermoproteus* y *Thermofilum* es extremada, comparable a la de los metanógenos (Sección 17.4). Por tanto se deben tomar estrictas precauciones durante su cultivo. La mayoría de los miembros de *Thermoproteus* crecen quimiolitotróficamente utilizando H_2 o quimiorganotróficamente utilizando sustratos de carbono complejos como extracto de levadura, pequeños péptidos, almidón, glucosa, etanol, malato, fumarato o formiato (Tabla 17.8). Los DNA de *Thermoproteus* y *Thermofilum* presentan proporciones GC similares (56-58% GC), pero sus genomas son diferentes según se ha determinado mediante el análisis de hibridación de sus ácidos nucleicos (Sección 14.11).

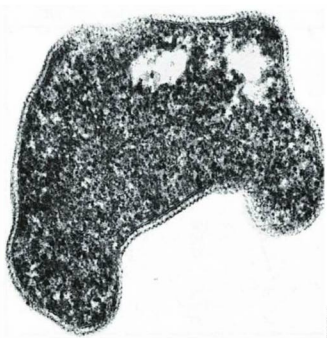


Figura 17.17 **Las *Sulfolobales*, unas arqueas hipertermófilas y acidófilas.** *(a) Sulfolobus acidocaldarius.* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. *(b) Acidianus infernus.* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. Las células de ambos organismos varían entre los 0,8 y los 2 μm de diámetro.

www.medilibros.com

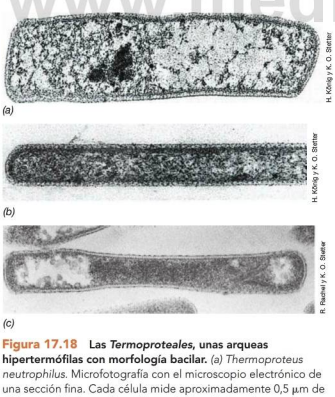


Figura 17.18 **Las *Termoproteales*, unas arqueas hipertermófilas con morfología bacilar.** *(a) Thermoproteus neutrophilus.* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina. Cada célula mide aproximadamente 0,5 μm de diámetro. *(b) Thermofilum librum.* Cada célula mide aproximadamente 0,25 μm de diámetro. *(c) Pyrobaculum aerophilum.* Microfotografía con el microscopio electrónico de transmisión de una sección fina; cada célula mide aproximadamente 0,5 × 3,5 μm.

Pyrobaculum (Figura 17.18*c*) es un bacilo hipertermófilo, pero que es fisiológicamente distinto de otros *Thermoproteales* al menos en una cosa: algunas especies de *Pyrobaculum* son capaces de respirar aeróbicamente. Además, los cultivos de *Pyrobaculum* pueden llevar a cabo respiración anaerobia utilizando NO_3^-, Fe_3^+ o S^0como aceptores de electrones y H_2 como donante de electrones (es decir, pueden crecer quimiolitotróficamente y autotróficamente). Otras especies de *Pyrobaculum* pueden crecer anaeróbicamente utilizando donantes orgánicos de electrones, reduciendo S^0 hasta H_2S. La temperatura óptima de crecimiento de *Pyrobaculum* es de 100 °C y algunas especies de este organismo se han aislado en fuentes termales terrestres y en chimeneas hidrotermales.

17.11 Hipertermófilos de hábitats volcánicos submarinos

Géneros clave: *Pyrodictium, Pyrolobus, Ignicoccus, Staphylothermus*

Ahora analizaremos la microbiología de los hábitats volcánicos submarinos, donde viven las arqueas más hipertermófilas conocidas. Estos hábitats incluyen tanto manantiales termales de aguas someras, como chimeneas hidrotermales del fondo oceánico. Analizaremos la geología de estos fascinantes hábitats microbianos en la Sección 24.11. Los organismos que ahora describiremos

constituyen un orden de las arqueas denominado Desulfurococcales (Tabla 17.9).

Pyrodictium y *Pyrolobus*

Pyrodictium y *Pyrolobus* son ejemplos de microorganismos cuya temperatura óptima de crecimiento supera los 100 °C; el óptimo para *Pyrodictium* es 105 °C y para *Pyrolobus* es 106 °C. Las células de *Pyrodictium* tienen forma de disco irregular y crecen en cultivo formando una capa de aspecto micelial unida a cristales de azufre elemental. La masa celular está formada por una red de fibras a las que están unidas las células (**Figura 17.19*a*, *b***). Las fibras son huecas y están formadas por proteínas dispuestas de manera similar a las de los flagelos bacterianos (Sección 4.13). Sin embargo estos filamentos no participan en la movilidad bacteriana, sino que funcionan como órganos de adhesión. La pared celular de *Pyrodictium* está compuesta de glicoproteínas. Fisiológicamente, *Pyrodictium* es un anaerobio estricto que crece quimiolitotróficamente utilizando H_2, con S^0 como aceptor de electrones o quimiorganotróficamente utilizando mezclas complejas de compuestos orgánicos (Tabla 17.8).

Pyrolobus fumarii (Figura 17.19*c*) es uno de los más termófilos entre los hipertermófilos. Su temperatura máxima de crecimiento es de 113 °C (Tabla 17.9). *Pyrolobus* vive en las paredes de las chimeneas hidrotermales (Sección 24.11 y Figura 24.33), donde sus capacidades como autótrofo proporcionan carbono orgánico a este ambien-

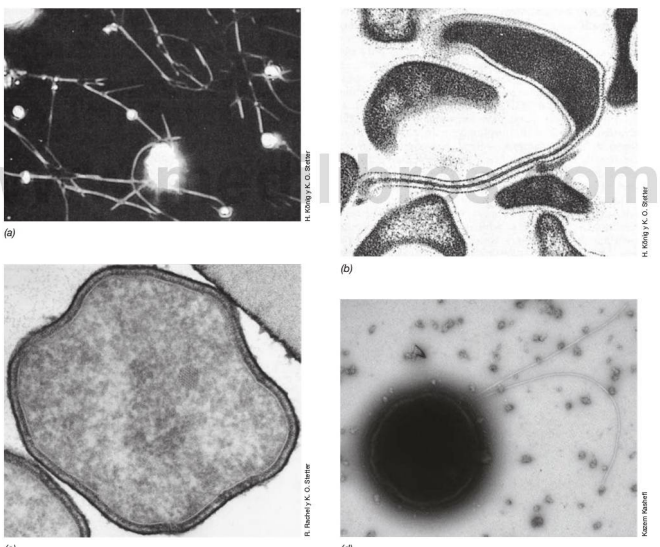


Figura 17.19 ***Desulfurococcales*, con una temperatura óptima >100 °C.** *(a) Pyrodictium occultum* (temperatura óptima de crecimiento, 105 °C), microfotografía de campo oscuro. *(b)* Microfotografía con el microscopio electrónico de una sección fina de *P. occultum*. Las células tienen un diámetro muy variable, entre 0,3 y 2,5 μm. *(c)* Sección fina de una célula de *Pyrolobus fumarii*, una de las bacterias conocidas más termófilas (temperatura óptima de crecimiento, 106 °C); una célula mide aproximadamente 1,4 μm de diámetro. *(d)* Tinción negativa de una célula de la cepa 121, la más termófila de todas las arqueas conocidas; una célula mide aproximadamente 1 μm de ancho.

te por lo demás inorgánico. Las células de *Pyrolobus* son cocoidales (Figura 17.19*c*) y su pared celular está compuesta de proteína. Este organismo es un quimiolitótrofo estricto reductor de H_2 que crece mediante la oxidación del H_2 acoplada a la reducción NO_3^- (hasta NH_4^+), $S_2O_3^{2-}$ (hasta H_2S) o muy bajas concentraciones de O_2 (hasta H_2O). Además de su naturaleza extremadamente termófila, *Pyrolobus* también resiste a temperaturas sustancialmente por encima de su temperatura máxima de crecimiento. Por ejemplo, los cultivos de *P. fumarii* sobreviven al autoclave (121 °C) durante una hora, una situación que no pueden soportar ni siquiera las endosporas bacterianas (Sección 4.12).

Cepa 121

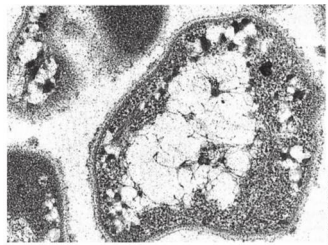
Un organismo relacionado con *Pyrodictium* al que se le ha asignado el nombre provisional de cepa 121 comparte con *Pyrolobus* una temperatura óptima de crecimiento de 106 °C. Sin embargo, la cepa 121 puede crecer hasta a 121 °C, la temperatura a la que se esterilizan en el autoclave los materiales y medios de cultivo microbiológicos (Sección 27.1). La cepa 121 es por tanto el procariota más termófilo que se ha cultivado en el laboratorio. Sorprendentemente, las células de la cepa 121 sobreviven temperaturas aún mayores que 121 °C, pues pueden permanecer viables después de 2 h a 130 °C.

La cepa 121, con células cocoidales dotadas de flagelos lofotricos (Figura 17.19*d*), fue aislada de una chimenea hidrotermal en el noreste del Océano Pacífico y es un anaerobio estricto que utiliza Fe_3^+ como aceptor de electrones. La cepa 121 crece quimiolitotróficamente y autotróficamente, utilizando óxido de Fe^{3+} como aceptor de electrones y formiato o H_2 como donador de electrones. El análisis filogenético basado en la secuencia del gen del SSU rRNA coloca a la cepa 121 dentro de la familia de las pirodictiaceae, junto a *Pyrodictium* y *Pyrolobus*, probablemente como un nuevo género de dicha familia. Por tanto, esta familia de las arqueas incluye los procariotas más hipertermófilos que se conocen.

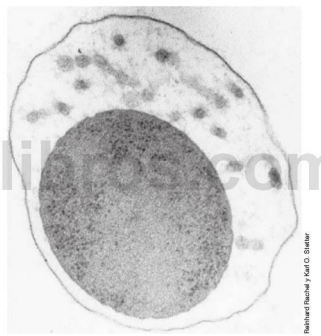
Desulfurococcus e *Ignicoccus*

Otros miembros notables de las *Desulfurococcales* incluyen a *Desulfurococcus*, el género que da nombre a la familia (**Figura 17.20*a***) e *Ignicoccus*. *Desulfurococcus* es un organismo anaerobio estricto que reduce S^0, al igual que *Pyrodictium*, pero que se diferencia de este último en su filogenia y en que es mucho menos termófilo, ya que crece a una temperatura óptima de 85 °C.

Ignicoccus crece a una temperatura óptima de 90 °C, con un metabolismo basado en H_2/S^0 como el de tantas arqueas hipertermófilas (Tabla 17.8). *Ignicoccus* (Figura 17.20*b*) es un hipertermófilo diferente en tanto que su membrana externa es parecida a las de las bacterias gramnegativas (Sección 4.7). En cualquier caso la membrana externa de *Ignicoccus* es inusual, porque está situada a una cierta distancia del citoplasma celular. Esta disposición permite la formación de un periplasma



(a)



(b)

Figura 17.20 ***Desulfurococcales*, con una temperatura óptima de crecimiento por debajo del punto de ebullición.** *(a)* Sección fina de *Desulfurococcus saccharovorans*; una célula mide aproximadamente 0,7 μm de diámetro. *(b)* Sección fina de *Ignicoccus islandicus*. La célula en sí está rodeada de un periplasma extremadamente grande. La célula en sí mide aproximadamente 1 μm de diámetro, mientras que la célula con el periplasma incluido mide 1,4 μm.

inusualmente grande (Figura 17.20*b*). En efecto, el volumen del periplasma de *Ignicoccus* es unas 2-3 veces mayor que su citoplasma, a diferencia de las bacterias gramnegativas, en las que el volumen del periplasma ronda el 25% del volumen citoplasmático. El periplasma de *Ignicoccus* también tiene vesículas de membrana (Figura 17.20*b*) que podrían servir para exportar substancias fuera de la célula. Además, como vimos en la Sección 17.8,

algunas especies de *Ignicoccus* son hospedadoras de *Nanoarchaeum*, una pequeña bacteria parásita.

Staphylothermus

El género *Staphylothermus* (**Figura 17.21**) es un miembro morfológicamente inusual del orden Desulfurococcales. Las células de *Staphylothermus* son esféricas, de aproximadamente 1 μm de diámetro y se agregan en grupos de hasta 100 células. *Staphylothermus* no es un quimiolitótrofo, a diferencia de tantos de sus parientes hipertermófilos, sino más bien un quimiorganótrofo, que crece a una temperatura óptima de 92 °C. Este organismo consigue su energía mediante la fermentación de péptidos, generando los ácidos grasos acetato e isovalerato como productos de fermentación (Tabla 17.8).

Staphylothermus se ha aislado tanto de chimeneas hidrotermales de fondos marinos someros como de las muy calientes chimeneas hidrotermales (Sección 24.11). Este organismo está por tanto ampliamente distribuido en zonas submarinas termales donde es probablemente un consumidor significativo de las proteínas liberadas por organismos muertos.

17.12 Crenarqueotas no termófilas

Las crenarqueotas no termófilas (Tabla 17.7), a diferencia de los hipertermófilos, se han identificado por medio de muestreos de genes del SSU rRNA, obtenidos de comunidades microbianas en muchos ambientes frescos o fríos, marinos y terrestres. Empleando sondas filogenéticas fluorescentes (Sección 14.9 y 22.3), los microbiólogos han encontrado crenarqueotas por todo el mundo en agua marina con oxígeno. En serio contraste con los hipertermófilos, las crenarqueotas marinas prosperan incluso en aguas glaciales y en el hielo marino, como los que se encuentran cerca de la Antártida (**Figura 17.22**).

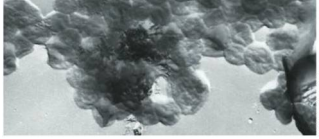
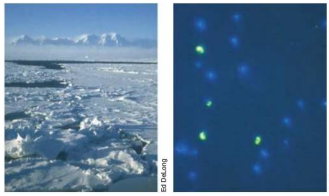


Figura 17.21 El hipertermófilo *Staphylothermus marinus* (temperatura óptima de crecimiento, 92 °C). Microfotografía con el microscopio electrónico de una preparación de células. Cada célula mide aproximadamente 1 μm de diámetro.



(a) (b)

Figura 17.22 Crenarqueotas de ambientes fríos. *(a)* Foto de la península Antártica tomada desde un barco. Las aguas gélidas bajo la superficie del hielo que aquí se muestran son el hábitat de las Crenarqueotas de ambientes fríos. *(b)* Microfotografía con el microscopio de fluorescencia de agua marina tratada con una sonda FISH (Sección 14.9) específica para especies de Crenarqueotas (células en verde). Las células en azul están teñidas con DAPI, un colorante que tiñe cualquier célula.

Son organismos planctónicos (suspendidos libremente en la columna de agua o unidos a partículas suspendidas en ésta, Figura 17.22*b*) y están presentes en número considerable (~10^4/ml) en aguas simultáneamente muy frías y pobres en nutrientes (2-4 °C en el agua marina y menos de 0 °C en el hielo marino). Las crenarqueotas marinas podrían constituir hasta el 40% de todos los procariotas en aguas oceánicas profundas (Sección 23.9 y Figura 23.19). El análisis de los lípidos de crenarqueotas marinas filtradas del agua marina han demostrado que contienen lípidos con enlaces éter, el distintivo de las arqueas (Sección 4.3 y Tabla 14.1). Las crenarqueotas marinas probablemente desarrollen un importante papel en el ciclo global del carbono, a juzgar por su elevado número y por su capacidad para fijar carbono inorgánico, como ha quedado demostrado mediante el análisis del contenido en isótopos estables de carbono (Sección 22.8) de los lípidos de estas arqueas.

Las especies no termófilas de euriarqueotas también se encuentran en ambientes marinos. Los estudios realizados hasta el momento sugieren que estos organismos son más abundantes en las aguas superficiales templadas, mientras que las crenarqueotas parecen ser más abundantes en aguas frías (Figura 17.22*a*) y en aguas muy profundas.

Nitrificación en las arqueas

La fisiología de las crenarqueotas marinas ha sido un misterio hasta el reciente descubrimiento de la existencia de nitrificación en algunos de estos organismos. Una crenarqueotas denominada tentativamente *Nitrosopumilus maritimus* fue aislada de un acuario de agua salada y se mostró capaz de crecer quimiolitotróficamente mediante la oxidación aeróbica del amonífaco hasta nitrito,

lo que constituye la primera demostración de nitrificación entre las arqueas (Sección 20.12). Este organismo también crece utilizando CO_2 como única fuente de carbono (autotrofía), al igual que las bacterias nitrificantes. Extensos muestreos de las aguas oceánicas en busca de genes necesarios para la oxidación del amoníaco (como por ejemplo amoA), junto al aislamiento de otras crenarqueotas marinas nitrificantes, han demostrado que las crenarqueotas marinas tienen un papel más importante que las bacterias nitrificantes en este aspecto del ciclo marino del nitrógeno. La ecología de las crenarqueotas marinas se analiza en la Sección 23.9.

17.9-17.12 Minirrevisión

Las crenarqueotas hipertermófilas habitan los ambientes más calientes conocidos capaces de sostener vida. También existen organismos relacionados filogenéticamente pero que viven en gran número en ambientes fríos, ocupando hábitats terrestres y marinos. Se conocen varios tipos morfológicos de crenarqueotas, así como diversas estrategias metabólicas para sostener su crecimiento.

- ¿Cuáles son las principales diferencias entre los organismos *Sulfolobus* y *Pyrolobus*? ¿Y entre *Staphylothermus* e *Ignicoccus*?
- ¿Qué tienen de inusual las características metabólicas de *Acidianus* en cuanto al azufre elemental (S^0) se refiere?
- ¿Cómo denominamos a la clase de organismos capaces de utilizar H2 como donador de electrones? Enumere los géneros de crenarqueotas que pueden emplear H2 como donador de electrones y diga qué compuestos utilizan como aceptores de electrones.
- ¿En qué sentido es única entre los procariotas la cepa 121?
- ¿Cuáles son las principales habilidades fisiológicas de las crenarqueotas marinas?

IV EVOLUCIÓN Y LA VIDA A ALTAS TEMPERATURAS

Como hemos visto a lo largo de este capítulo, la mayoría de los hipertermófilos descubiertos hasta el momento son especies de arqueas. Algunas crecen cerca de lo que podría ser el límite superior de temperatura para el mantenimiento de la vida. En consecuencia, estas arqueas tienen mucho que enseñarnos respecto a dónde, cuándo y en qué condiciones podría haber surgido la vida en la caliente Tierra primigenia (Sección 14.2). Definir el límite superior de temperatura que permite el desarrollo y el mantenimiento de la vida puede ayudarnos a identificar la profundidad a la que podría haber existido vida bajo la superficie de la Tierra y también proporcionarnos alguna información sobre la posibilidad de que la vida haya surgido en otros planetas que se hayan formado de manera parecida a la Tierra. En esta sección analizaremos los factores principales que probablemente definan el límite superior de temperatura para el desarrollo y el mantenimiento de la vida y las adaptaciones biológicas de los hipertermófilos que les permite sobrevivir a temperaturas excepcionalmente altas, iguales o superiores a los 100 °C. Cerraremos esta sección con una discusión sobre hipertermofilia y el metabolismo del hidrógeno.

17.13 Un límite superior de temperatura para la vida microbiana

En muchos lugares de los océanos pueden encontrase hábitats que contienen agua líquida, lo que constituye un requisito previo para la vida celular y que están a temperaturas superiores a 100 °C, normalmente en los flujos de salida de agua caliente geotermal que manan de las chimeneas o fallas del fondo oceánico (Figuras 24.30, 24.32 y 24.33). La presión hidrostática sobre estos hábitats evita que el agua hierva incluso a temperaturas de 350 °C o superiores, muy por encima del punto de ebullición. En contraposición, los manantiales termales en superficie pueden hervir, liberando calor y por tanto sólo alcanzan temperaturas cercanas a los 100 °C. En consecuencia, es de esperar que los hipertermófilos con las temperaturas de crecimiento más elevadas se encuentren en chimeneas hidrotermales situadas a una profundidad considerable en el fondo del océano, donde se localizan los hábitats con agua supercalentada. En efecto, las chimeneas hidrotermales (Figuras 24.32 y 24.33) se han mostrado como ricas fuentes de arqueas excepcionalmente hipertermófilas (Tabla 17.9), incluyendo a *Methanopyrus*, *Pyrodictium*, *Pyrolobus* y a la cepa 121 (Secciones 17.6-17.11).

De las chimeneas hidrotermales mana fluido hidrotermal a 250-350 °C o aún más, lo que acaba formando unas estructuras verticales denominadas chimeneas, compuestas de sulfuros metálicos que precipitan de dicho fluido conforme se mezcla con el agua marina circundante mucho más fría (aproximadamente entre 2-4 °C). El agua hidrotermal supercalentada es de por sí estéril. Sin embargo, de las paredes de dichas chimeneas se han aislado varios hipertermófilos, que parecen habitar en zonas donde la temperatura ha bajado a niveles que permitan su desarrollo y supervivencia y siguen el gradiente de temperatura que varía entre los 250 a 350 °C del interior hasta los 2 a 4 °C del exterior.

¿Cuál es el límite superior?

¿Hasta qué temperatura pueden sobrevivir los hipertermófilos? En las últimas décadas, el límite superior de temperatura que permite la vida microbiana ha continua-

do subiendo cada vez más, conforme se han ido aislando y caracterizando nuevas especies de termófilos e hipertermófilos (**Figura 17.23**). Hasta hace muy poco, el récord lo poseía *Pyrolobus fumarii*, con un límite superior de temperatura de 113 °C (Figura 17.19c). El plusmarquista actual es la cepa 121 (Sección 17.11, Figura 17.19*d*), que ha llevado el límite algo más arriba, con su capacidad de crecer a 121 °C y de sobrevivir períodos considerables a 130 °C. Vista la tendencia de los últimos años (Figura 17.23), podría predecirse que en los ambientes hidrotermales existen arqueas incluso más hipertermófilas que la cepa 121, que todavía no han sido aisladas. Por tanto, el límite superior de temperatura que permite el crecimiento de procariotas podría incluso superar los 130 °C, con un máximo para la supervivencia unos cuantos grados mayor.

¿Existe una temperatura a la cual sea imposible concebir la vida según la entendemos? La respuesta obviamente es que sí, pero todavía no conocemos dicho límite superior. Sin embargo, experimentos de laboratorio sobre la estabilidad de las biomoléculas sugieren que el límite superior debe encontrarse entre los 140 y los 150 °C. Por encima de 150 °C los organismos casi con seguridad serían incapaces de evitar la fragilidad frente al calor de las moléculas esenciales para la vida. El ATP, por ejemplo, se degrada instantáneamente a 150 °C y muy rápidamente a temperaturas ligeramente más bajas. Por tanto, el límite superior de temperatura que permite la supervivencia podría perfectamente superar los 130 °C, pero está casi con toda seguridad por debajo de los 150 °C.

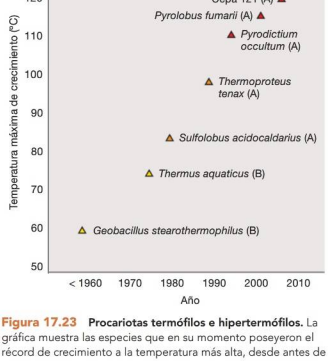


Figura 17.23 **Procariotas termófilos e hipertermófilos.** La gráfica muestra las especies que en su momento poseyeron el récord de crecimiento a la temperatura más alta, desde antes de 1960 hasta el momento actual. Los estudios que dieron a conocer estas nuevas especies fueron aumentando en repetidas ocasiones el límite superior conocido de temperatura apta para la vida. B, *bacteria*; A, arquea. Modificado de D.A. Cowan, *TRENDS in Microbiology* (2004) 12: 58-60.

17.14 Adaptaciones a la vida a alta temperatura

Como todas las estructuras y actividades celulares se ven afectadas por el calor, los hipertermófilos necesariamente deben presentar múltiples adaptaciones a las temperaturas excepcionalmente elevadas de sus hábitats. En esta sección examinaremos brevemente las adaptaciones que permiten a los organismos hipertermófilos sobrevivir y crecer a altas temperaturas. Nuestro conocimiento de dichas adaptaciones seguramente se ampliará en el futuro, conforme se estudien las estructuras celulares, el metabolismo y la fisiología de la cepa 121 y de *Pyrolobus fumarii*, dos especies con las máximas temperaturas conocidas de crecimiento en el laboratorio.

Estabilidad de los monómeros

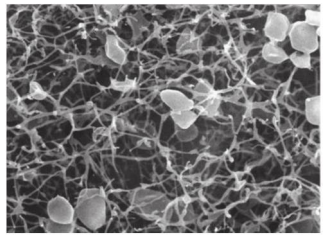
Como acabamos de mencionar, la sensibilidad térmica de pequeñas moléculas como el ATP podría ser crítica para determinar el límite superior de temperatura para el crecimiento y la supervivencia de los hipertermófilos. Incluso a temperaturas tan bajas como 120 °C, algunas pequeñas moléculas esenciales son destruidas a un ritmo significativo. Por ejemplo, dos moléculas clave del metabolismo energético como el ATP y el NAD^+ (Secciones 5.7 y 5.8), se hidrolizan rápidamente a esta temperatura; la vida media *in vitro* a 120 °C del ATP o el NAD^+ está por debajo de 30 minutos y se acorta dramáticamente por encima de esta temperatura, al menos cuando se mide en solución acuosa. Sin embargo, el crecimiento de la cepa 121 a 121 °C implica que la estabilidad de este tipo de moléculas debe ser significativamente mayor en las condiciones en las que se encuentran en el citoplasma celular. La alta concentración de solutos citoplasmáticos, como las sales, azúcares y otras pequeñas moléculas, probablemente tenga un efecto protector sobre el ATP y otras moléculas clave. Alternativamente, la función de algunos de estos compuestos podría estar reemplazada por otras moléculas más termoestables, por ejemplo mediante el uso de proteínas con hierro no hemo como proteínas redox, en sustitución de proteínas que utilizan NAD y NADH.

Plegamiento proteico y termoestabilidad

Como la mayoría de las proteínas se desnaturalizan a alta temperatura, se ha investigado mucho para identificar las propiedades de las proteínas termoestables. La termoestabilidad de una proteína depende de su plegamiento. Sorprendentemente, la composición de aminoácidos de las proteínas termoestables no es particularmen-

te inusual, excepto por un sesgo hacia un alto nivel de aminoácidos que forman α-hélices (Sección 3.7), que podrían ayudar a estabilizar dichas proteínas. De hecho, muchas enzimas de hipertermófilos tienen los mismos rasgos estructurales principales, tanto en su estructura primaria como en niveles estructurales superiores (Sección 3.6-3.8), que sus equivalentes entre las bacterias mesófilas.

Las proteínas termoestables muestran habitualmente algunos aspectos estructurales que podrían mejorar su termoestabilidad. Esto incluye núcleos muy hidrofóbicos, que disminuyen la tendencia de una proteína a perder su plegamiento en presencia de alta concentración de iones y más interacciones iónicas en la superficie de la proteína, lo que también ayuda a mantener la proteína intacta y a contrarrestar la pérdida del plegamiento. A fin de cuentas, el plegamiento de una proteína es lo que más influye en su termoestabilidad y parece probable que la presencia en la superficie proteica de puentes salinos, que son enlaces no covalentes de tipo iónico, tengan un peso importante en el mantenimiento de una estructura biológicamente activa. Con todo y como hemos mencionado previamente, muchos de estos cambios son posibles con tan sólo cambios mínimos en la estructura primaria, lo que puede verse al comparar versiones termoestables y termolábiles de una misma proteína.



G. Rieger, R. Hermann, R. Rachel, K.O. Stetter

Figura 17.24 ***Pyrodictium abyssi*, microfotografía con el microscopio electrónico de barrido.** *Pyrodictium* se ha estudiado como modelo de estabilidad macromolecular a altas temperaturas. Las células están aglomeradas por medio de una matriz glicoproteica pegajosa.

Chaperonas: ayudando a las proteínas a mantenerse en su forma nativa

Antes mencionamos una clase de proteínas denominadas chaperonas (proteínas de choque térmico; Secciones 7.17 y 9.11) que actúan replegando proteínas parcialmente desnaturalizadas. Las arqueas hipertermófilas producen tipos especiales de chaperonas que funcionan a las temperaturas de crecimiento más elevadas. Por ejemplo, en las células de *Pyrodictium abyssi* (**Figura 17.24**), el complejo protéico denominado **termosoma** funciona como una importante chaperona. Se cree que este complejo mantiene a las demás proteínas de la célula correctamente plegadas y funcionales a alta temperatura, ayudando a las células a sobrevivir, incluso a temperaturas por encima de la temperatura máxima de crecimiento. Por ejemplo, las células de *P. abyssi* creciendo cerca de su temperatura máxima (110 °C) contienen una alta concentración de termosomas. Probablemente como consecuencia de ello estas células se mantienen viables después de un choque térmico, incluso después de 1 h en el autoclave (121 °C). Se cree que en aquellas células que han sufrido semejante tratamiento y que se vuelven a situar a su temperatura óptima, el termosoma (que de por sí es bastante termoestable) es capaz de plegar correctamente suficientes copias desnaturalizadas de proteínas clave como para que *P. abyssi* pueda volver a crecer y a dividirse. Por tanto, gracias a la actividad de las chaperonas, la temperatura máxima a la que muchos hipertermófilos son capaces de sobrevivir es mayor que la temperatura máxima a la que pueden crecer. La «red de seguridad» formada por la actividad de las chaperonas probablemente asegura que las células que experimenten breves suministros de calor por encima de su temperatura máxima de crecimiento no mueran como consecuencia de ello.

www.medilibros.com

Estabilidad del DNA a alta temperatura: solutos y girasa inversa

¿Cómo se mantiene intacto el DNA a altas temperaturas, evitando su destrucción? A ello pueden contribuir diversos mecanismos. Uno de ellos consiste en incrementar los niveles celulares de solutos, ya que la estabilidad del DNA se ve afectada por los iones, particularmente el potasio y por los solutos orgánicos compatibles. Por ejemplo y como se mencionó previamente, el citoplasma del metanógeno hipertermófilo *Methanopyrus* (Sección 17.6) contiene niveles molares del compuesto cíclico 2,3-difosfoglicerato de potasio. Este soluto evita daños químicos al DNA como la depurinación o depirimidinación (la pérdida de una base nucleotídica como consecuencia de la hidrólisis del enlace glicosídico) por altas temperaturas. Estas alteraciones químicas pueden llevar a la mutación (Sección 11.4). Este compuesto y otros solutos compatibles como por ejemplo el dimyoinositol fosfato de potasio, protegen frente a los estreses osmóticos y son producidos por procariotas termófilos e hipertermófilos en respuesta a temperaturas de crecimiento elevadas. Por tanto estos compuestos probablemente cumplan una función protectora en la célula, manteniendo en sus formas activas tanto al DNA como a otras macromoléculas, como las proteínas.

Existe una proteína exclusiva de hipertermófilos que probablemente es la razón principal por la que el DNA no se queda destruido en estos organismos. Todos los hipertermófilos producen una topoisomerasa de DNA denominada **girasa inversa de DNA**. La girasa inversa in-

troduce superenrollamiento positivo en el DNA (en contraposición al superenrollamiento negativo introducido por la girasa de DNA de la que disponen los microorganismos que no son hipertermófilos; Sección 7.3). El superenrollamiento positivo estabiliza al DNA frente al calor y previene por tanto que la hélice de DNA se desnaturalice. En efecto, la ausencia de girasa inversa en aquellos procariotas cuya temperatura óptima de crecimiento está por debajo de 80 °C sugiere una función específica para la girasa inversa en la estabilidad del DNA a alta temperatura.

Las poliaminas también cumplen una función en la estabilidad de DNA y en la de otras macromoléculas. Estos cationes orgánicos, por ejemplo la putrescina o la espermidina, están presentes a elevada concentración en la mayoría de los hipertermófilos. Junto al Mg^{2+}, las poliaminas estabilizan el RNA y el DNA y en las arqueas termófilas como *Sulfolobus* las poliaminas también contribuyen a estabilizar los ribosomas, facilitando la síntesis de proteínas a alta temperatura.

Estabilidad del DNA: proteínas de unión a DNA

Además de los iones como el potasio, de los solutos compatibles y de la girasa inversa de DNA, existen otras proteínas en los hipertermófilos que podrían contribuir a mantener la integridad de la doble cadena de DNA. Por ejemplo, en las células de *Sulfolobus* existe una pequeña proteína termoestable de unión al DNA, que se une al surco menor de la doble hélice de DNA (Figura 7.5) de manera inespecífica y que incrementa su temperatura de fusión en unos 40 °C. Esta proteína, denominada Sac7d, curva bruscamente el DNA y podría por tanto estar implicada en regulación génica (DNA curvado; Secciones 9.2 y 9.4).

Las especies de euriarqueotas también tienen proteínas de unión al DNA. Pero, a diferencia de Sac7d, son proteínas muy básicas (cargadas positivamente) tremendamente parecidas en su secuencia de aminoácidos y en su plegamiento a las histonas nucleares de los eucariotas (Sección 8.5). Las histonas de *Methanothermus fervidus*, una arquea metanógena e hipertermófila (Figura 17.8*c*), están particularmente bien estudiadas. Las *histonas* arqueas de este organismo enrollan y compactan el DNA en estructuras similares a los nucleosomas (**Figura 17.25**) (Figura 8.6). Dichas estructuras mantienen al DNA en forma de doble cadena a temperaturas muy altas. Las histonas de las arqueas se encuentran en la mayoría de las euriarqueotas, incluyendo halófilos extremos como *Halobacterium*. Sin embargo, ya que estos halófilos extremos no son termófilos, las histonas en arqueas deben cumplir otras funciones además de contribuir a la estabilidad el DNA, como por ejemplo regular la expresión génica.

Estabilidad lipídica

¿Y qué sucede con los lípidos celulares? ¿Cómo evitan los hipertermófilos que sus membranas citoplasmáticas se desensamblen a alta temperatura? Virtualmente todas las arqueas hipertermófilas sintetizan lípidos del tipo tetraéter de dibifitanilo (Sección 4.3). Los lípidos de este tipo son naturalmente resistentes al calor, porque el enlace covalente entre las unidades fitanilo forma una estructura de membrana lipídica monocapa, en lugar de la habitual bicapa lipídica (Figura 4.8). Esta estructura, mantenida por enlaces covalentes, resiste el efecto normal del calor de destruir la bicapa lipídica formada por ácidos grasos.

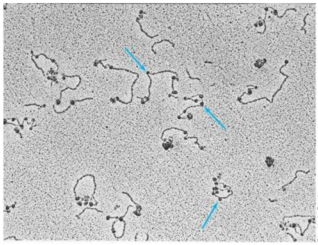


Figura 17.25 Histonas y nucleosomas de arqueas. Microfotografía con el microscopio electrónico de DNA plasmídico linearizado enrollado alrededor de copias de la histona de arqueas Hmf (del metanógeno hipertermófilo *Methanothermus fervidus*) para formar las estructuras tipo nucleosoma aproximadamente esféricas y teñidas de color oscuro (flechas). Compare esta microfotografía con la ilustración de las histonas y los nucleosomas de *eucariota* que se muestra en la Figura 8.6.

Estabilidad del SSU rRNA

Un elemento adicional en las adaptaciones a la vida a alta temperatura es la composición de bases de los 16S rRNAs. Los hipertermófilos, tanto bacterias como arqueas, tienen hasta un 15% mayor proporción de pares GC en sus SSU rRNAs que otros organismos. Las parejas GC, con tres puentes de hidrógeno en lugar de los dos de las parejas AU, confieren una mayor termoestabilidad y por tanto podrían ser una adaptación a las altas temperaturas. En contraposición, las proporciones GC (Sección 14.11) de los genomas de estos organismos no muestran un enriquecimiento global en la proporción de pares GC, lo que sugiere que la termoestabilidad específica de los SSU rRNAs debe ser crítica para la vida en condiciones hipertermofílicas.

17.15 Arqueas hipertermófilas, H_2 y evolución microbiana

En el momento en el que surgió la vida celular, hace aproximadamente 4.000 millones de años, es casi completamente seguro que la Tierra era mucho más caliente de lo

que es ahora (Sección 14.1), aunque la temperatura real a la que surgió la vida sigue siendo hoy en dia tema de discusión. Se cree que las formas de vida procariotas surgieron en circunstancias de muy alta temperatura y que la Tierra podría haber sido adecuada sólo para hipertermófilos durante un millón de años. Considerando el análisis previo sobre los límites de temperatura adecuados para la vida, se ha propuesto la hipótesis de que las moléculas biológicas, los procesos bioquímicos y las primeras células surgieran sobre la Tierra en el entorno de los manantiales hidrotermales y las chimeneas en el fondo marino, conforme estos se enfriaban hasta temperaturas por debajo de los 150 °C. La filogenia de los hipertermófilos modernos, así como los parecidos entre sus hábitats y su metabolismo con los de la Tierra primigenia, sugiere que estos organismos, más que ninguna otra forma de vida procariota, podrían ser los descendientes más cercanos de las células hipertermófilas primitivas. El estudio detallado de los hipertermófilos actuales, especialmente de aquellas especies con las temperaturas de crecimiento más elevadas, podría proporcionar una ventana al pasado lejano de la vida y evolución microbianas.

Hipertermófilos y restricciones evolutivas

El análisis comparativo de las secuencias de los genes del 16S rRNA coloca a las arqueas hipertermófilas y a las bacterias hipertermófilas (como por ejemplo *Thermotoga* y *Aquifex*) en las ramas más bajas y más cortas del árbol filogenético (Figura 17.1; Figuras 14.16, 15.1). Esto sugiere que los genes del 16S rRNA de los hipertermófilos están sometidos a restricciones inusualmente fuertes, en comparación con los de los organismos que no son hipertermófilos, respecto a la cantidad de cambio de secuencia que pueden tolerar en su SSU rRNA. Dichas restricciones están probablemente relacionadas con las temperaturas excepcionalmente elevadas a las que viven estos organismos, lo que tan sólo permitiría un pequeño número de variaciones antes de que la termoestabilidad y la función se vieran comprometidas. En efecto, el mayor porcentaje de bases GC en los SSU rRNAs de los hipertermófilos podría reflejar una de estas restricciones. Dado que este sesgo en la proporción de bases GC es algo que comparten los hipertermófilos de arqueas con los de bacterias, parece tratarse de un ejemplo de convergencia evolutiva, más que una indicación de cercanía filogenética. En cualquier caso es posible que si el grado permisible de divergencia en la secuencia del SSU rRNA de los hipertermófilos hubiera alcanzado la saturación más bien pronto en la historia evolutiva, entonces las secuencias de los genes del 16S rRNA en los hipertermófilos actuales habrían podido divergir relativamente poco respecto a los de las células primigenias. Lo mismo podría decirse de otras macromoléculas clave de la célula, como las proteínas. En efecto, es posible que la biología de los hipertermófilos de hoy en día sea muy parecida a la de los hipertermófilos que vivieron hace miles de millones de años.

Hábitats hipertermófilos y el hidrógeno (H_2) como fuente de energía

La oxidación del hidrógeno acoplada a la reducción del Fe^{3+} es una carcterística común a muchos hipertermófilos (**Figura 17.26**). Esta actividad es consistente con la presencia de H_2 y óxidos de Fe^{3+} en las chimeneas hidrotermales y otros ambientes calientes. Estos ambientes contienen H_2 y una gran variedad de otros donadores y aceptores inorgánicos de electrones. En efecto, muchos hipertermófilos crecen anaeróbicamente utilizando H_2 como donador de electrones y uno o más aceptores de electrones, incluidos S^0, NO_3^-, Fe^{3+} o O_2 (Tabla 17.8). La diversidad de arqueas hipertermófilas oxidadoras de H_2 (y bacterias; Secciones 15.5 y 16.20) que se conocen hoy en día es indicativa de la importancia de la oxidación del H_2 como mecanismo clave de conservación de energía.

El metabolismo del H_2 podría haber evolucionado en organismos primitivos como resultado de la notable disponibilidad en los ambientes primigenios de H_2 y de

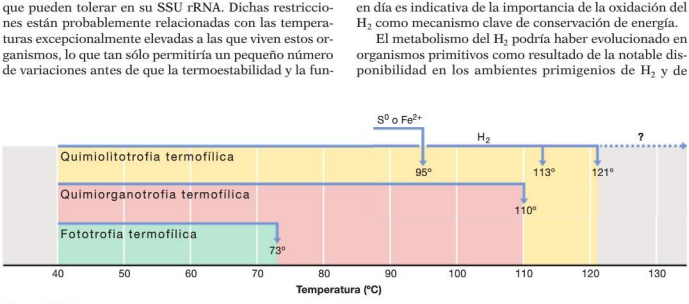


Figura 17.26 **Límites superiores de temperatura para el metabolismo energético.** Fototrofia, *Synechococcus lividus* (bacterias, cianobacteria); quimioorganotrofia, *Pyrodictium occultum* (arqueas); quimiolitotrofia, S^0 como donador de electrones, *Acidianus infernus* (arqueas); quimiolitotrofia, Fe^{2+} como donador de electrones, *Ferroglobus placidus* (arqueas); quimiolitotrofia, H_2 como donador de electrones, *Pyrolobus fumarii* (arqueas, 113 °C); cepa 121 (arqueas, 121 °C). La cepa 121 también crece en formiato, pero este compuesto puede ser metabolizado hasta $H_2 + CO_2$.

aceptores inorgánicos de electrones adecuados y también porque el catabolismo del H_2 necesita pocas proteínas (Figura 14.8 y Sección 21.11). La relación entre los termófilos y el metabolismo del H_2 se ve enfatizada por el análisis de los límites superiores de temperatura de crecimiento conocidos en base a los tres procesos de conservación de la energía: quimiorganotrofia, quimiolitotrofia y fototrofia.

Por encima de 110 °C, sólo podría ser posible la quimiolitotrofia, en tanto que sólo se conocen arqueas oxidadoras del H_2, incluyendo a *Pyrolobus* y la cepa 121 (Tabla 17.9 y Figura 17.26). La quimiorganotrofia es posible hasta al menos los 110 °C, ya que este es el límite superior de temperatura para el crecimiento de *Pyrodictium occultum*, un organismo que puede fermentar ciertos compuestos orgánicos, así como crecer quimiolitotróficamente utilizando H_2 con S^0 como aceptor de electrones (Tabla 17.9). La fotosíntesis es el proceso menos tolerante al calor, ya que no se conocen representantes hipertermófilos.

Este tipo de comparaciones apuntan a los hipertermófilos oxidadores de H_2 analizados en este capítulo (y en la Sección 16.20) como los ejemplos mejor conocidos de las más antiguas formas de vida celular todavía existentes. Mejor que ningún otro tipo de procariotas, estos organismos mantienen los rasgos metabólicos y fisiológicos que pudieran suponerse necesarios para la supervivencia en los hábitats hipertermófilos de la Tierra primigenia.

17.13-17.15 Minirrevisión

Aunque los hipertermófilos viven a temperaturas muy altas, en algunos casos por encima del punto de ebullición del agua, existen límites de temperatura por encima de los cuales ningún organismo puede sobrevivir. Este límite está probablemente sobre los 140-150 °C. El catabolismo del hidrógeno (H_2) podría haber sido el primer tipo de metabolismo celular productor de energía.

- Proponga al menos dos razones que justifiquen sin lugar a dudas la existencia de un límite superior de temperatura para la existencia de vida.
- ¿Cómo evitan los hipertermófilos que macromoléculas tan importantes como las proteínas y el DNA sean destruidas por el intenso calor?
- ¿Qué pruebas filogenéticas y fisiológicas sugieren que los hipertermófilos que todavía existen puedan mostrar parecido con los microorganismos primigenios?

www.medilibros.com

Glosario de términos

Bacteriorrodopsina: proteína de membrana producida por ciertos halófilos extremos, que contiene retinal y es capaz de generar fuerza protón motriz impulsada por luz.

Chimenea hidrotermal: manantial termal de las profundidades del océano del que mana agua templada (~20 °C) o supercalentada (~300 °C).

Crenarchaeota: un filum de las arqueas que incluye tanto organismos que viven en ambientes fríos como hipertermófilos.

Euryarchaeota: un filum de las arqueas que incluye fundamentalmente a metanógenos, halófilos extremos, *Thermoplasma* y algunos hipertermófilos marinos.

Fitanilo: un hidrocarburo de cadena ramificada que contiene 20 átomos de carbono y normalmente se encuentra en los lípidos de las arqueas.

Girasa inversa de DNA: una proteína presente en todos los hipertermófilos que introduce superenrollamiento positivo en DNA circular.

Halófilo extremo: un organismo cuyo crecimiento necesita de altas concentraciones (generalmente un 10% o más) de NaCl.

Halorrodopsina: bomba de cloruro impulsada por la luz que acumula Cl^- dentro del citoplasma.

Hipertermófilo: organismo con una temperatura óptima de crecimiento de 80 °C o mayor.

Metanógeno: organismo productor de metano; el CH_4 se produce bien por la reducción de CO_2 con H_2 o bien a partir de ciertos compuestos orgánicos.

Ruta del Acetil-CoA: una ruta autotrófica de fijación de CO_2 muy extendida entre los anaerobios estrictos, incluyendo los metanógenos, homoacetógenos y bacterias reductoras del sulfato.

Solfatara: hábitat caliente, rico en sulfuro y frecuentemente ácido, habitado por arqueas hipertermófilas.

Soluto compatible: una substancia orgánica o inorgánica que se acumula en el citoplasma de un organismo halófilo para mantener el equilibrio osmótico.

Termosoma: un complejo proteico de choque térmico (chaperona), que recupera el plegamiento de proteínas parcialmente desnaturalizadas por el calor en los hipertermófilos.

Preguntas de repaso

1. Enumere algunas características comunes a todas las arqueas (Sección 17.1)
2. ¿Cuál de los siguientes organismos es el más cercano filogenéticamente al halófilo extremo *Halobacterium*? *Pyrodictium*, *Thermoplasma* o *Methanosarcina* (Pista: puede encontrar la respuesta en la Figura 17.1) ¿Qué tipo de metabolismo energético tiene cada uno de los tres organismos mencionados (Secciones 17.1 y 17.2)?
3. ¿Cómo pueden sobrevivir los organismos como *Halobacterium* en ambientes hipersalinos, mientras que a un organismo como *Escherichia coli* le resulta imposible (Sección 17.3)?
4. Compare las funciones de la bacteriorrodopsina, la halorrodopsina y las rodopsinas sensoriales en *Halobacterium salinarum* (Sección 17.3).
5. ¿Cuál es el donante de electrones para la metanogénesis cuando el CO2 es reducido a CH4 (Sección 17.4)?
6. ¿Qué importante rasgo fisiológico unifica a todos los miembros de las termoplasmatales? ¿Por qué permite dicho rasgo a algunos de ellos a colonizar eficientemente los residuos mineros (Sección 17.5)?
7. ¿Qué característica fisiológica es exclusiva de *Methanopyrus*, en comparación con otro metanógeno como por ejemplo *Methanobacterium* (Sección 17.6)? ¿Qué característica fisiológica es exclusiva de *Archaeoglobus* (Sección 17.7)?
8. ¿En qué se parece *Nanoarchaeum* a otras arqueas? ¿Y en qué se diferencia (Sección 17.8)?
9. ¿Qué tipos de metabolismo energético tienen las crenarqueotas? ¿Y cuáles no tienen (Sección 17.9)?
10. ¿Por qué tiene el organismo *Sulfolobus* valor histórico en el campo de la microbiología (Sección 17.10)?
11. ¿Qué tiene de inusual el organismo *Pyrolobus fumarii* (Sección 17.11)?
12. ¿Qué tiene de inusual fisiológicamente el crenarqueotas marino *Nitrosopumilus maritimus* (Sección 17.12)?
13. ¿Qué organismo ostenta el récord de mayor temperatura de crecimiento (Sección 17.13)?
14. ¿Qué es la girasa inversa y porqué es importante para los hipertermófilos (Sección 17.14)?
15. ¿Por qué podría haber evolucionado un metabolismo del hidrógeno en organismos primitivos (Sección 17.15)?

www.medilibros.com

Ejercicios prácticos

1. Utilizando como guía la información de la Figura 17.1, discuta por qué la bacteriorrodopsina podría constituir un desarrollo evolutivo tardío.
2. Defienda o rebata la siguiente afirmación: el límite superior de temperatura apta para la vida no tiene relación con la estabilidad de las proteínas o de los ácidos nucleicos.

18

Biología celular y microorganismos eucariotas

I ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA CÉLULA EUCARIOTA 572

18.1 Estructura de la célula eucariota y del núcleo **572**

18.2 Orgánulos respiratorios y fermentativos: la mitocondria y el hidrogenosoma **573**

18.3 Orgánulos fotosintéticos: el cloroplasto **575**

18.4 Endosimbiosis: relaciones de mitocondrias y cloroplastos en las bacterias **575**

18.5 Otros orgánulos y estructuras celulares de eucariotas **577**

II DIVERSIDAD MICROBIANA EN EUCARIOTAS 580

18.6 Filogenia del dominio *Eukarya* **580**

III PROTISTAS 582

18.7 Diplomónadas y parabasálidos **583**

18.8 Euglenozoos **583**

18.9 Alveolados **585**

18.10 Estramenópilos **587**

18.11 Cercozoos y radiolarios **589**

18.12 Amoebozoos **589**

IV HONGOS 592

18.13 Fisiología y estructura de los hongos; asociaciones con otros organismos **592**

18.14 Reproducción y filogenia de los hongos **595**

18.15 Quitridiomicetos **597**

18.16 Zigomicetos **597**

18.17 Glomeromicetos **598**

18.18 Ascomicetos **598**

18.19 Basidiomicetos **601**

V ALGAS UNICELULARES VERDES Y ROJAS 601

18.20 Algas rojas unicelulares **602**

18.21 Algas verdes unicelulares **603**

Esta célula en gemación de la levadura panadera, Saccharomyces cerevisiae, *es el mejor conocido de todos los organismos eucariotas y es la base de las industrias panadera y cervecera.*

En este capítulo consideraremos la estructura celular, filogenia y diversidad de los microorganismos eucariotas. Los eucariotas unicelulares son muy variados, tienen una larga historia evolutiva y son de gran importancia ecológica. Varios de ellos tienen además impacto directo en humanos, bien favorable, como en el caso de las fermentaciones beneficiosas o desfavorable como en el caso de los patógenos de humanos.

I ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA CÉLULA EUCARIOTA

Las cinco secciones que siguen examinarán la estructura de la célula eucariota y el vínculo endosimbionte ancestral entre los orgánulos eucarióticos y las bacterias.

18.1 Estructura de la célula eucariota y del núcleo

La estructura típica de la célula eucariota se muestra en la **Figura 18.1**. Al contrario que los procariotas, los **eucariotas** contienen un núcleo rodeado de membrana y, dependiendo del organismo, varios orgánulos distintos. Por ejemplo, las mitocondrias son prácticamente universales entre las células eucariotas, mientras que los cloroplastos sólo se encuentran en células fototróficas. Otras estructuras internas típicas incluyen el aparato de Golgi, peroxisomas, lisosomas, retículo endoplásmatico, microtúbulos y microfilamentos (Figura 18.1). Estas estructuras compartimentan las diferentes actividades de la célula para un funcionamiento eficiente. Algunas células eucariotas tienen flagelos y cilios, orgánulos de motilidad, mientras que otras carecen de ellos. Las células eucariotas también pueden tener componentes extracelulares, tales como pared celular, en el caso de hongos, algas o células vegetales (no se hallan en células animales o la mayoría de los protistas) o una matriz extracelular en células animales. Además, muchos eucariotas, incluso microorganismos eucariotas, son capaces de formar estructuras multicelulares.

El núcleo

El **núcleo** contiene los cromosomas de la célula eucariota (**Figura 18.2**). En eucariotas, el DNA dentro del núcleo está enrollado alrededor de proteínas cargadas positivamente denominadas **histonas**, que ayudan a empaquetar

www.medilibros.com

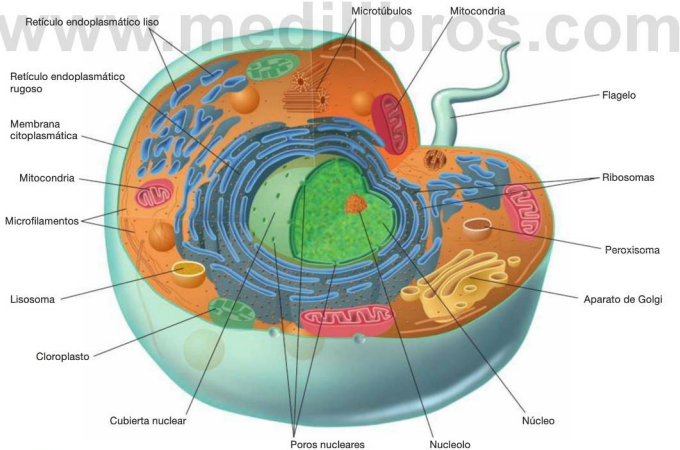


Figure 18.1 Vista esquemática de una célula eucariota. Aunque todas las células eucariotas poseen núcleo, no todos los orgánulos y otras estructuras celulares están presentes en todas ellas. No se muestra la pared celular que puede estar presente en algunos hongos, algas, plantas y algunos protistas.

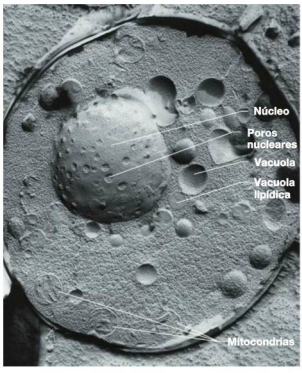


Figure 18.2 **El núcleo.** Fotografía al microscopio electrónico de una célula de levadura preparada por criofractura, mostrando una vista de la superficie del núcleo. La célula tiene unos 8 μm de ancho y el núcleo tiene aproximadamente 1,5 μm de ancho.

el DNA con carga negativa para formar los nucleosomas y a partir de éstos los cromosomas (Sección 8.6, Figura 8.7). En muchas células eucariotas, el núcleo tiene muchos μm de diámetro y es fácilmente visible bajo el microscopio óptico, incluso sin necesidad de tinción (Figura 2.5*a*). En los eucariotas más pequeños, no obstante, se requiere de procedimientos de tinción especiales para poder observar el núcleo.

El núcleo está rodeado de un par de membranas, cada una de ellas con su propia función y separadas por un espacio. La membrana interna es sencillamente un saco; la membrana externa se comunica en muchos sitios con el retículo endoplasmático. Las membranas interna y externa se especializan en interacciones con el nucleoplasma y el citoplasma, respectivamente.

La membrana nuclear tiene poros (Figura 18.2), formados por agujeros donde la membrana interna y la membrana externa se unen. Los poros permiten un complejo sistema de entrada y salida de proteínas y ácidos nucleicos del núcleo, un proceso que se denomina transporte nuclear. El transporte nuclear requiere energía y ésta procede de la hidrólisis de un compuesto rico en energía, el trifosfato de guanosina (GTP).

Dentro del núcleo, el nucleolo (Figura 18.1) es el sitio donde se produce la síntesis del RNA ribosómico. El nucleolo es rico en RNA y es frecuentemente visible bajo el microscopio óptico. Las proteínas ribosómicas son sintetizadas en el citoplasma y transportadas al núcleo donde se combinan con el RNA ribosómico para formar las subunidades pequeñas y grandes de los ribosomas eucariotas. Estos son, entonces, exportados hacia el citoplasma, donde se asocian para formar ribosomas completos y actuar en la síntesis de proteínas.

18.1 Minirrevisión

El núcleo contiene los cromosomas de la célula y está rodeado de dos membranas. El nucleolo es el sitio donde se produce la síntesis del RNA ribosómico.

- ¿Qué proteínas son las que se asocian y empaquetan al DNA en los cromosomas eucariotas?
- ¿Cuál es el papel de los poros de la membrana nuclear?

UNIDAD 3

18.2 Orgánulos respiratorios y fermentativos: la mitocondria y el hidrogenosoma

La mitocondria y el hidrogenosoma se especializan en el metabolismo energético quimiótrofo. Ambos orgánulos están rodeados por membranas pero llevan a cabo funciones muy diferentes.

www.medilibros.com

La mitocondria

En células eucariotas aerobias, la respiración y la fosforilación oxidativa (un mecanismo de producción de ATP) (Secciones 5.11 y 5.12) se localizan en la **mitocondria**. Las mitocondrias tienen dimensiones similares a las bacterias y pueden ser casi esféricas o tener forma de bastón (**Figura 18.3**). Una célula animal típica contiene más de 1000 mitocondrias, pero el número de ellas por célula depende, en cierta medida, del tipo celular y del tamaño de la célula. Una célula de levadura puede tener menos mitocondrias (Figura 18.2). Las mitocondrias están rodeadas por dos membranas. La membrana externa está compuesta en igual medida por lípidos y proteínas, es relativamente permeable y contiene numerosos canales pequeños que permiten el paso de iones y pequeñas moléculas orgánicas. La membrana interna es menos permeable y más rica en proteínas que la externa. Dado que las membranas de la mitocondria carecen de esteroles (Sección 4.3), son mucho menos rígidas que las membranas citoplasmáticas eucariotas, que sí contienen esteroles. De este modo, las membranas de la mitocondria pueden tomar muchas formas variadas (Figura 18.3*b*,*c*).

Las mitocondrias también tienen una serie de membranas internas plegadas que se denominan **crestas**. Estas membranas, formadas por invaginaciones de la membrana interna, son sitios donde se localizan las enzimas para la respiración y para la producción de ATP. Las crestas también contienen proteínas específicas de transpor-

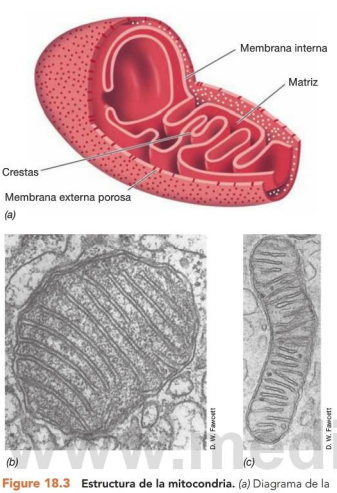


Figure 18.3 **Estructura de la mitocondria.** *(a)* Diagrama de la estructura general de la mitocondria. Obsérvense las membranas interna y externa. *(b, c)* Fotografías al microscopio electrónico de transmisión de la mitocondria de tejido de rata, que muestran la variabilidad de su morfología. Obsérvense las crestas.

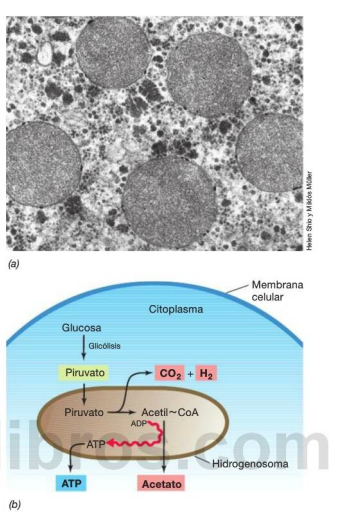


Figure 18.4 **El hidrogenosoma.** *(a)* Fotografía al microscopio electrónico de un corte fino atravesando una célula del anaerobio parabasálido *Trichomonas vaginalis*, mostrando la sección transversal de cinco hidrogenosomas. Compare su estructura interna con la de la mitocondria de la Figura 18.3. *(b)* Bioquímica del hidrogenosoma. El piruvato es introducido en el hidrogenosoma y su procesamiento produce H_2, CO_2 y ATP (mostrados en rojo).

www.medilibros.com

te que regulan el paso de metabolitos, en particular de ATP, hacia dentro y fuera de la matriz de la mitocondria (Figura 18.3*a*). La matriz de la mitocondria contiene enzimas para la oxidación de compuestos orgánicos, en particular enzimas del ciclo del ácido cítrico (Sección 5.13).

El hidrogenosoma

Algunos microorganismos eucariotas anaerobios carecen de mitocondria y tienen en su lugar **hidrogenosomas** (Figura 18.4*a*). Aunque de tamaño parecido al de la mitocondria, los hidrogenosomas carecen de enzimas del ciclo del ácido cítrico y normalmente carecen de crestas. Varios microorganismos eucariotas contienen hidrogenosomas y todos son anaerobios obligados o aerotolerantes cuyo metabolismo es estrictamente fermentativo. Algunos ejemplos incluyen parásitos humanos del tipo del flagelado *Tricomonas* (Sección 18.10) y varios protistas ciliados que viven en el rumen de rumiantes (Sección 24.10) o fangos y sedimentos sin oxígeno.

Las principales reacciones bioquímicas que se llevan a cabo en los hidrogenosomas son las que conducen a la oxidación de piruvato a H_2, CO_2 y acetato (Figura 18.4*b*). El piruvato es oxidado al compuesto rico en energía acetil-CoA (a partir del cual se produce ATP adicional durante la producción de acetato, Sección 21.9), H_2 y CO_2 (Figura 18.4*b*). Las enzimas clave en el hidrogenosoma son las piruvato: ferredoxin reductasa e hidrogenasa. Algunos eucariotas anaeróbicos tienen bacterias simbióticas que consumen H_2, como metanógenos, residiendo en sus citoplasmas (Figura 24.4*b*, *c*). Los simbiontes consumen el H_2 y el CO_2 producido por el hidrogenosoma (Figura 18.4*b*) produciendo metano. Dado que los hidrogenosomas carecen de cadena transportadora de electrones y normalmente también del ciclo del ácido cítrico, no pueden oxidar el acetato producido a partir del catabolismo del piruvato tal y como hace la mitocondria. El acetato

es por tanto excretado del hidrogenosoma al citoplasma de la célula hospedadora (Figura 18.4*b*).

18.2 Minirrevisión

La mitocondria y el hidrogenosoma son orgánulos eucariotas generadores de energía. La mitocondria lleva a cabo respiración aeróbica mientras que el hidrogenosoma, que sólo se encuentra en eucariotas anaeróbicos estrictos, fermenta piruvato a H_2, CO_2, acetato y ATP.

- ¿Qué reacciones clave tienen lugar en la mitocondria?¿Qué productos clave produce la mitocondria para la célula?
- Compare y contraste el destino metabólico del piruvato en la mitocondria y en el hidrogenosoma.

18.3 Orgánulos fotosintéticos: el cloroplasto

Los **cloroplastos** son orgánulos que contienen clorofila y que están presentes en eucariotas fotótrofos, plantas, **algas** uni y multicelulares y ciertos organismos unicelulares que se agrupan dentro de los protistas. Los cloroplastos de muchos protistas y de algas son relativamente grandes y fácilmente visibles en el microscopio óptico (Figura 18.5). El tamaño, forma y número de cloroplastos por célula varía mucho y a diferencia de la mitocondria, éstos son mucho mayores que las bacterias.

Al igual que la mitocondria, los cloroplastos tienen una membrana externa mucho menos permeable que la interna y un espacio intermembrana. La membrana interna rodea el lumen del cloroplasto, denominado **estroma**, pero no se pliega del mismo modo que en la mitocondria (Figura 18.3*a*). En vez de eso, la clorofila y el resto de los componentes necesarios para la fotosíntesis se localizan en una serie de discos membranosos aplastados que se llaman **tilacoides** (Figura 18.6). La membrana de los tilacoides es altamente impermeable a los iones y otros metabolitos porque su función es precisamente establecer la fuerza protón-negativa necesaria para que se sintetice ATP (Sección 5.12). En plantas y algas verdes, los tilacoides están típicamente apilados en unidades discretas que se denominan grana (Figura 20.5).

El estroma del cloroplasto contiene grandes cantidades de la enzima ribulosa difosfato carboxilasa o RubisCO. La RubisCO es un catalizador clave del **ciclo de Calvin**, que incluye una serie de reacciones biosintéticas que convierten el CO_2 en compuestos orgánicos (Sección 20.6). La RubisCO supone el 50% del total de proteína del cloroplasto y cataliza la formación de ácido fosfoglicérico, un compuesto clave en la biosíntesis de glucosa (Secciones 5.10 y 5.15). La permeabilidad de la membrana externa del cloroplasto permite que la glucosa y el ATP generados durante la fotosíntesis difundan hacia el citoplasma donde pueden ser utilizados para construir nuevos materiales celulares.

18.3 Minirrevisión

Los cloroplastos son el sitio de producción de energía fotosintética y de fijación de CO_2 en organismos fotótrofos.

- Explique las diferencias entre estroma y tilacoides.
- ¿Cuál es la función de la RubisCO y dónde se encuentra?

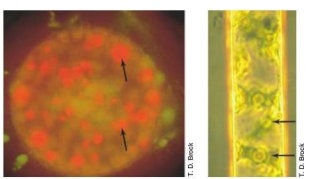


Figure 18.5 Fotografías al microscopio óptico de células de protistas y algas verdes donde se muestran cloroplastos. *(a)* Fotografía al microscopio de fluorescencia de la diatomea *Stephanodiscus*. La clorofila de los cloroplastos (flechas) absorben luz y fluoresce en rojo. La célula tiene aproximadamente 40 μm de ancho. *(b)* Fotografía en el microscopio de contraste de fase del alga verde *Spirogyra* donde se observa la forma espiral característica de sus cloroplastos (flechas). La célula tiene aproximadamente 20 μm de ancho.

18.4 Endosimbiosis: relaciones de mitocondrias y cloroplastos en las bacterias

Basándose en su relativa autonomía, su tamaño y su parecido morfológico con bacterias, hace tiempo que se sugirió que mitocondrias y cloroplastos podían descender de células procariotas ancestrales. Más recientemente se han

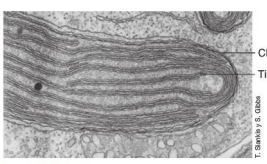


Figure 18.6 El cloroplasto. Fotografía al microscopio electrónico de transmisión donde se muestra un cloroplasto del estramenópilo *Ochromonas danica*. Obsérvense los tilacoides.

encontrado una serie de pruebas que parecen apoyar la hipótesis de que las mitocondrias eran originalmente alfaproteobacterias de vida libre, aeróbicas facultativas, que fueron adquiridas por otra célula y evolucionaron hasta dar lugar a la célula eucariota (Sección 14.4 y Figura 14.10). De la misma manera, el ancestro del cloroplasto era probablemente una cianobacteria adquirida hace aproximadamente 1.500 millones de años por un eucariota heterótrofo, algo después de que aparecieran las células eucariotas. Estos dos eventos evolutivos, la incorporación de las células ancestrales de la mitocondria y el cloroplasto a otras células, constituirían lo que se denominaría **endosimbiosis** primaria, para distinguirlo de la endosimbiosis secundaria, que será discutida más tarde. Hay varias líneas de pruebas que apoyan la endosimbiosis, la incorporación de un tipo celular dentro de otro para dar lugar a una asociación estable entre ambas, como el origen de las células eucariotas. Aquí vamos a comentar las pruebas moleculares que apoyan la endosimbiosis primaria.

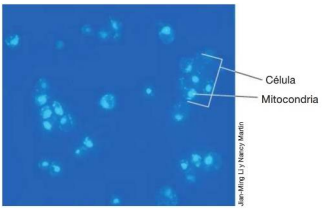


Figure 18.7 **Células de la levadura ascomiceto *Saccharomyces cerevisiae*.** Las células han sido teñidas con DAPI (Sección 22.3) para mostrar el DNA mitocondrial. Cada mitocondria tiene de dos a cuatro cromosomas que se tiñen en azul con este colorante fluorescente.

1. **La mitocondria y el cloroplasto contienen DNA.** Aunque la mayoría de las funciones de la mitocondria y del cloroplasto están codificadas en el núcleo, algunos de sus componentes están codificados por un pequeño genoma que se encuentra dentro de dichos orgánulos. Éstos contienen RNA ribosómico, RNA transferente y los genes que codifican algunas proteínas de la cadena respiratoria (en el caso de la mitocondria) y del aparato fotosintético (en el caso del cloroplasto). De esta manera, las células eucariotas no fotótrofas son quimeras genéticas que contienen DNA de dos orígenes diferentes, el endosimbionte y su hospedador. Los eucariotas fotótrofos contienen DNA procedente de tres orígenes diferentes, el endosimbionte que dio lugar a la mitocondria, el que dio lugar al cloroplasto y su célula hospedadora o sea el núcleo. La mayoría del DNA mitocondrial y cloroplástico está compuesto por moléculas circulares de DNA covalentemente cerradas, parecidas a las de bacterias (Secciones 2.6, 7.2 y 7.3). El DNA mitocondrial puede verse en las células mediante métodos de tinción especiales (**Figura 18.7**). Las características de los genomas de estos orgánulos se discuten en la Sección 13.4.
2. **El núcleo eucariota contiene genes procedentes de bacterias.** La secuenciación genómica y otros estudios genéticos han proporcionado evidencias de que varios genes nucleares codifican propiedades características y únicas de la mitocondria y el cloroplasto. Dado que las secuencias de estos genes se parecen más a las de las bacterias que a las de arqueas o eucariotas, se ha concluido que estos genes han sido transferidos al núcleo a partir de los endosimbiontes, que fueron originalmente bacterias consumidoras de oxígeno (Sección 14.4), durante la transición evolutiva producida desde que éstos fueron incorporados hasta que se convirtieron en orgánulos.
3. **Las mitocondrias y los cloroplastos contienen sus propios ribosomas.** Los ribosomas, estructuras celulares que actúan durante la síntesis de proteínas (Sección 7.15), pueden ser grandes (80S), típicas del citoplasma de células eucariotas o más pequeñas (70S), típicas de bacterias y arqueas. Mitocondrias y cloroplastos también contienen ribosomas y éstos son como los 70S de procariotas.
4. **Especificidad antibiótica.** Varios antibióticos que pueden matar o inhibir el crecimiento de bacterias, como por ejemplo la estreptomicina, pueden interferir específicamente con el funcionamiento del ribosoma 70S. Estos antibióticos también inhiben la síntesis de proteínas en mitocondrias y cloroplastos.
5. **Filogenia molecular.** Estudios filogenéticos que utilizan métodos para comparar secuencias de RNA ribosómicos (Secciones 14.5 y 14.9) y estudios de genomas de orgánulos (Sección 13.4) apoyan seriamente un modelo por el cual el cloroplasto y la mitocondria se originaron en el dominio bacterias. De acuerdo con este modelo, la célula eucariota moderna provendría de la asociación de al menos dos organismos claramente diferentes mediante un proceso de endosimbiosis (Sección 14.4 y Figura 14.10).

Las pruebas de que los hidrogenosomas también son endosimbiontes también son considerables. Por ejemplo, en el protista ciliado anaerobio estricto, *Nyctotherus ovalis*, que vive en el intestino de termitas (Sección 24.2) no hay mitocondrias y se ha identificado un hidrogenosoma que contiene DNA y ribosomas. Además, el núcleo de los eucariotas que contienen hidrogenosomas contiene genes que codifican proteínas con homólogos cercanos en bacterias. Por tanto parece que los hidrogenosomas se originaron por endosimbiosis tal y como lo hicieron las mitocondrias. De hecho, se cree que los hidrogenosomas son mitocondrias metabólicamente de-

generadas que perdieron la respiración a favor de la fermentación pirúvica como método de conservación energética en un hospedador de estilo de vida anaerobio. Aunque no es equiparable a la obtención de energía por respiración de la mitocondria, la producción de acetato por el hidrogenosoma suministra a la célula más energía de la que se obtendría fermentando productos como lactato o etanol (Figuras 8.4; Sección 5.10). La mitocondria y el hidrogenosoma pueden así ser vistos como orgánulos funcionalmente relacionados que se han especializado en estrategias metabólicas diferentes para la generación de ATP. Otras estructuras denominadas mitosomas, que pueden encontrarse en algunas células eucariotas son probablemente mitocondrias aún más degeneradas, habiendo perdido prácticamente por completo todas las funciones relacionadas con la producción de energía. Las implicaciones evolutivas de esta aparente ausencia de mitocondrias y de la presencia de hidrogenosomas o mitosomas serán discutidas en la Sección 18.6.

Estas pruebas sugieren el siguiente modelo (Figura 18.12). Mitocondrias e hidrogenosomas provienen de la endosimbiosis de una alfaproteobacteria con otra célula para dar lugar a la célula eucariota temprana. Este evento estaría seguido de una segunda endosimbiosis con una cianobacteria, que sería el ancestro del cloroplasto en eucariotas que así se habrían convertido en fotosintéticos. A través de estas asociaciones, las células hospedadoras habrían adquirido parejas permanentes especializadas en la generación de energía y los simbiontes habrían ganado un medio de crecimiento estable y protegido.

Endosimbiosis secundaria

Los eucariotas adquirieron la capacidad de realizar fotosíntesis hace aproximadamente 1.500 millones de años, mediante la captura por parte de un eucariota heterótrofo de una cianobacteria que dio lugar al cloroplasto. Este ejemplo de endosimbiosis primaria que acabamos de discutir dio lugar al cloroplasto en los ancestros comunes a algas verdes, algas rojas y plantas (Figura 18.12). No obstante, tras esta endosimbiosis primaria, varios grupos de eucariotas no heterótrofos adquirieron cloroplastos por **endosimbiosis secundaria**, el proceso de incorporar una célula de alga verde o roja, que al retener su cloroplasto, convertiría a la célula hospedadora en fotótrofa. Los cloroplastos de euglenidos y cloraracniofitos parecen haberse formado por eventos distintos de endosimbiosis con algas verdes (Secciones 18.8 y 18.11; Figura 18.12). Alveolados (ciliados, apicomplejos y dinoflagelados; Sección 18.9) y Estramenópilos (Sección 18.10) obtuvieron sus cloroplastos mediante endosimbiosis secundaria con algas rojas. Los cloroplastos ancestrales de las algas rojas se perdieron en algunos linajes, como los ciliados o se redujeron, como en los apicomplejos o fueron reemplazados en distintos momentos, como en los dinoflagelados, por cloroplastos de un alga diferente, incluyendo algas verdes.

Además de estos eventos de endosimbiosis secundaria, las pruebas moleculares indican varios ejemplos de endosimbiosis terciaria, en los cuales los cloroplastos ancestrales de varios organismos habrían sido reemplazados por cloroplastos de organismos que habrían adquirido estos mediante endosimbiosis primaria. Todos estos ejemplos sirven para ilustrar la importancia que la endosimbiosis tiene en la evolución y diversificación de los eucariotas.

18.4 Minirrevisión

El cloroplasto, que realiza la fotosíntesis y la mitocondria, que lleva a cabo la respiración o fermentación, son orgánulos metabólicos clave en eucariotas. Estos orgánulos eran originalmente bacterias que establecieron residencia fija dentro de otras células (endosimbiosis).

- Resuman las pruebas moleculares que apoyan la relación entre estos orgánulos y las bacterias.
- ¿Por qué puede salir beneficiado *Nyctotherus* teniendo hidrogenosomas en lugar de mitocondrias?
- Explique las diferencias entre endosimbiosis primaria y secundaria.

www.elibros.com

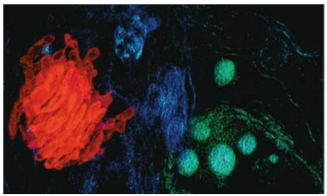
18.5 Otros orgánulos y estructuras celulares de eucariotas

Otras estructuras citoplasmáticas que están típicamente presentes en células eucariotas incluyen el retículo endoplasmático, lisosomas, peroxisomas y los orgánulos de motilidad, flagelo y cilios, También se puede encontrar una matriz extracelular alrededor de células animales. Pero a diferencia de mitocondrias y cloroplastos estas estructuras no tienen origen endosimbiótico.

Retículo endoplasmático, ribosomas y aparato de Golgi

El retículo endoplasmático (ER) es una red de membranas comunicadas con la membrana nuclear. Existen dos tipos de retículo endoplasmático: el rugoso, que tiene ribosomas unidos y el liso, que carece de ellos (Figura 18.1). El retículo endoplasmático liso partícipa en la síntesis de lípidos y en algunos aspectos del metabolismo de los carbohidratos. El retículo endoplasmático rugoso, mediante la actividad de los ribosomas, es el principal productor de glicoproteínas y también produce nuevo material para membranas. Este material es transportado a través de la célula para permitir el crecimiento de varios sistemas membranosos antes de la división celular (Figura 18.1).

El aparato de Golgi está formado por una serie de membranas apiladas diferentes del ER (**Figuras** 18.1 y **18.8**), pero que funciona de manera coordinada con el ER. En el aparato de Golgi, los productos del ER son mo-



Laurence Fieldes, David Shetty, Graham Warren

Figure 18.8 **El aparato de Golgi.** Fotografía al microscopio electrónico de transmisión de una porción de una célula del protista apicomplejo *Toxoplasma gondii*. El aparato de Golgi está coloreado en rojo. Obsérvense las múltiples membranas plegadas que lo componen (las membranas apiladas tienen 0,5-1 μm de diámetro). Otras estructuras tales como los gránulos citoplasmáticos se muestran en otros colores. *T. gondii* es un sistema modelo para el estudio del aparato de Golgi porque cada célula contiene sólo una estructura.

dificados químicamente y separados de los que serán secretados (por ejemplo hormonas o enzimas digestivas) y los que llevarán a cabo su función en otras estructuras membranosas de la célula. El aparato de Golgi se genera por división del preexistente y contiene varias enzimas que modifican proteínas de secreción y de membrana de manera diferente, dependiendo de cual sea su destino final en la célula. Muchas de las modificaciones consisten en glicosilaciones (adición de un residuo de azúcar) que convierte la proteína en glicoproteínas específicas.

Lisosomas y peroxisomas

Los **lisosomas** (Figura 18.1) son compartimentos rodeados de membranas compuestos de proteínas y lípidos transportados dedes el aparato de Golgi. También reciben proteínas y lípidos de la membrana citoplasmática mediante el proceso de endocitosis. Los lisosomas contienen diversas enzimas digestivas que la célula utiliza para hidrolizar macromoléculas como proteínas, grasas y polisacáridos para llevar a cabo su digestión intracelular. Los lisosomas se funden con las vacuolas nutritivas liberando las enzimas digestivas que romperán estas macromoléculas para que puedan ser usadas para la biosíntesis y la generación de energía. Los lisosomas también actúan en la hidrólisis de material celular dañado para el reciclaje de estos materiales y su reutilización en nueva biosíntesis. El pH interno de los lisosomas es cercano a 5, dos unidades más bajo que el del citoplasma; las enzimas digestivas que actúan en los lisosomas funcionan a un pH óptimo de 5. Estas enzimas hidrolíticas tienen actividades inespecíficas y potencialmente podrían destruir cualquier molécula esencial si esto no se evitara. Por tanto el lisosoma permite la realización de actividades de lisis separando éstas del citoplasma. Tras la hidrólisis de macromoléculas en el lisosoma, los monómeros resultantes pasan de estos al citoplasma donde actuarán como nutrientes celulares.

El **peroxisoma** es un compartimento metabólico especializado rodeado de membranas (Figura 18.1). Los peroxisomas se originan en la célula por incorporación de proteínas y lípidos del citoplasma, que finalmente llegan a dar lugar a entidades provistas de membranas que crecen y se dividen de manera sincronizada con la célula. La función de los peroxisomas es oxidar compuestos celulares variados, como alcoholes y ácidos grasos de cadena larga, rompiéndolos en moléculas más pequeñas que son entonces utilizadas por las mitocondrias para obtener energía. Los peroxisomas también oxidan compuestos tóxicos para la célula. Las enzimas del peroxisoma transfieren hidrógeno desde estos compuestos al O_2, produciendo peróxido de hidrógeno (H_2O_2) como subproducto. El H_2O_2 producido en el peroxisoma es tóxico por sí mismo, por lo que debe ser degradado a H_2O y O_2 por la acción de una enzima llamada catalasa (Sección 6.18). Los peroxisomas pueden jugar otros papeles además de estos, como sintetizar sales biliares y ayudar en la absorción y digestión de grasas.

Microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios.

Al igual que los edificios están sustentados por refuerzos estructurales, el gran tamaño de las células eucariotas y su capacidad de moverse hace que estas requieran de refuerzos estructurales. Esta red de estructuras internas proviene de proteínas capaces de formar estructuras filamentosas llamadas microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios. Juntas, estas estructuras forman el **citoesqueleto** (**Figuras** 18.1 y **18.9**).

Los **microtúbulos** son tubos de unos 25 nm de diámetro con un hueco de unos 15 nm de ancho formados por las proteínas α y β-tubulina. Los microtúbulos mantienen la forma celular, proporcionan motilidad celular a través de cilios y flagelos (**Figura 18.10**), actúan en el movimiento de los cromosomas durante la división celular y permiten el movimiento de los orgánulos. Los **microfilamentos** son filamentos más pequeños, de unos 7 nm de diámetro, que están compuestos por polímeros de dos hebras entrelazadas de una proteína denominada actina. Los microfilamentos mantienen y alteran la forma de la célula, en la motilidad celular y en la formación de pseudópodos y durante la división celular. Los **filamentos intermedios** son fibras de queratina superenrolladas en fibras más gruesas de unos 8 a 12 nm de diámetro que actúan en el mantenimiento de la forma celular y el posicionamiento de los orgánulos dentro de la célula.

Ya vimos en el Capítulo 6 que las células procariotas producen homólogos de la actina y la tubulina en las proteínas MreB y FtsZ, respectivamente (Secciones 6.2 y 6.3). Esto indica que, aunque los procariotas son típica-

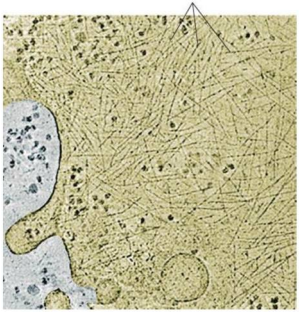


Figure 18.9 Microfilamentos y arquitectura de la célula eucariota. Imagen tomográfica del microscopio electrónico del hongo mucoso *Dictyostelium discoideum*, un protista, mostrando la red de microfilamentos de actina que junto a los microtúbulos que compone el citoesqueleto celular. Los microfilamentos tienen aproximadamente 7 nm de diámetro. La tomografía en el microscopio electrónico es un método que permite la reconstrucción en tres dimensiones de la célula a partir de una serie de imágenes tomadas con un microscopio electrónico de transmisión.

Figure 18.10 Tubulina de *Tetrahymena thermophila*. Fotografía tomada bajo el microscopio de florescencia de una célula de este protista marcada con dos tipos de anticuerpos antitubulina (rojo/verde) y con DAPI, que tiñe el DNA (núcleo azul). Una célula mide aproximadamente 10 μm de ancho.

mente más pequeños que los eucariotas, aún requieren un nivel mínimo de andamiaje interno.

Cilios y flagelos

Los cilios y flagelos están presentes en muchos microorganismos eucariotas. Son orgánulos de motilidad, que permiten a las células nadar. Los cilios son básicamente flagelos cortos que se mueven de manera sincronizada para desplazar a la célula, habitualmente en bastante rapidez, a través del medio. Los flagelos son apéndices largos que pueden aparecer aislados o en grupo y que propulsan a la célula, aunque típicamente más despacio que los cilios, mediante un movimiento de tipo látigo (**Figura 18.11*a***). El flagelo de las células eucariotas es estructuralmente muy distinto del flagelo procariota (Sección 4.13) y no gira.

En una sección transversal, cilios y flagelos son muy similares. Cada uno de ellos posee un manojo de nueve pares de microtúbulos compuestos de tubulinas, rodeando a un par central de microtúbulos denominados el *axonema* (Figura 18.11*b*). Una segunda proteína, llamada *dineína*, aparece unida a la tubulina y actúa como una ATPasa, hidrolizando ATP para proporcionar la energía suficiente para permitir el movimiento.

El movimiento de flagelos y cilios es muy parecido. En ambos casos, el movimiento implica el deslizamiento coordinado de los microtúbulos del *axonema* unos (Figura 18.11*b*) contra los otros, en dirección hacia o en dirección contraria a la base de la célula. Este movimiento proporciona la acción de látigo típica del flagelo o del cilio que propulsa la célula.

Entre los flagelos eucariotas y los procariotas existe una importante diferencia. El filamento de los flagelos bacterianos está hecho de una única proteína, la flagelina, dispuesta helicoidalmente y esta estructura está firmemente unida a un motor de rotación complejo que se haya embebido en la pared celular y la membrana citoplasmática (Figura 4.47). Además, el flagelo bacteriano funciona como una hélice, con su rotación mantenida gracias a energía procedente de fuerza protón motriz (Secciones 4.13 y 5.12). El flagelo eucariota, por el contrario, propulsa a la célula por un movimiento tipo látigo de los microtúbulos que se desplazan entre sí, lo que es posible gracias al consumo de ATP. No obstante, en toda célula móvil, la motilidad es probablemente un elemento importante para su supervivencia; la capacidad de mo-

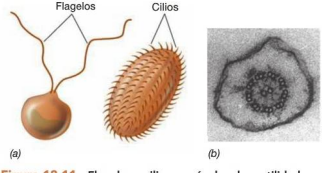


Figure 18.11 Flagelos y cilios, orgánulos de motilidad en células eucarioticas. *(a)* Una célula puede tener un único flagelo o muchos. Los cilios son estructuralmente similares a los flagelos pero mucho más cortos. El flagelo de la célula eucariota se mueve de manera similar al movimiento de un látigo. *(b)* Sección transversal de un flagelo del quitridio *Blastocladiella emersonii* que muestra la cubierta externa, los nueve pares de microtúbulos exteriores y el par central.

verse proporciona a los organismos que la poseen la posibilidad de explotar nuevas fuentes de recursos y de alejarse de sustancias tóxicas o ambientes peligrosos.

Componentes extracelulares: la pared celular y la matriz extracelular

Las paredes celulares están presentes en hongos, algas y células vegetales. Las células animales y la mayoría de los protistas carecen de ellas. La pared celular proporciona forma a la célula, la protege del medio y limita la entrada de agua. En organismos multicelulares, como las plantas, el soporte estructural que proporciona la pared celular ayuda a la planta a resistir la fuerza de la gravedad. La composición de la pared celular varía dependiendo del organismo, pero normalmente se utiliza el polisacárido celulosa así como otros polisacáridos y proteínas. Estas forman entre sí una fuerte matriz que puede tener entre 0,1 y varios milímetros de ancho y que es mucho más gruesa que la membrana citoplasmática a la que rodea.

En células animales, algunos hongos y algunos protistas, rodeando la membrana citoplasmática, se encuentra una **matriz extracelular (ECM, de Extra Cellular Matrix)** en la cual se haya embebida la célula. En animales, que es donde mejor se conoce la ECM, esta está compuesta de glicoproteínas. Una de estas, la *fibronectina*, conecta las células a la ECM uniéndose simultáneamente a otras glicoproteínas de la ECM, como proteoglicanos y colágeno y a *integrinas*, proteínas embebidas en la membrana citoplasmática. La ECM, mediante su conexión con las *integrinas*, proporciona a la célula una manera de integrar los cambios que ocurren dentro y fuera de ella y de coordinar las actividades de células adyacentes. Podemos encontrar ECM en los cuerpos fructíficantes de algunos hongos (setas), hongos mucosos (*Dictyostelium discoideum*) y en las biopelículas (Secciones 23.4 y 23.5) formadas por algunas levaduras (*Candida albicans*).

18.5 Minirrevisión

Los eucariotas contienen diferentes orgánulos y otras estructuras importantes en su citoplasma. Estas incluyen el retículo endoplasmático, el aparato de Golgi, los lisosomas y los peroxisomas. Además de estos, las células eucariotas también contienen un citoesqueleto formado por microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios. Los cilios y flagelos son orgánulos de motilidad y tienen una extensa estructura de microtúbulos. La pared celular y la matriz extracelular conectan las células con el ambiente o con otras células.

- ¿En qué se diferencia el retículo endoplasmático liso del rugoso?
- ¿Por qué deben estar separadas las actividades del lisosoma del resto del lisosoma?
- ¿Qué funciones tiene la matriz extracelular de las células animales?

II DIVERSIDAD MICROBIANA EN EUCARIOTAS

Ahora examinaremos la diversidad de los microorganismos ***eucariotas***. Esto incluye a los *protistas*, los *hongos* y las *algas unicelulares rojas y verdes*. Comenzaremos nuestra revisión con una visión general de la filogenia de estos organismos y luego procederemos a analizar cada grupo individual. Aprenderemos que los microorganismos eucariotas tienen una historia evolutiva compleja e intrigante y que son excepcionalmente diversos en numerosos aspectos de su biología.

18.6 Filogenia del dominio *Eukarya*

Del árbol filogenético universal de la vida (Figura 14.16) hemos aprendido que *Eukarya* conforma su propio dominio filogenético y que *Eukarya* está más relacionada con arqueas que con bacterias. La filogenia de *Eukarya* ha sido inferida a partir de las secuencias del gen del RNA 18S ribosomal, que codifica el RNA de la subunidad pequeña (SSU) de los ribosomas citoplasmáticos (Sección 14.6).

Problemas con el árbol basado en la SSU de las eukarya

Los árboles filogenéticos basados en comparación de secuencias —particularmente aquellos basados en los genes del SSU rRNA— generalmente se consideran los mejores árboles posibles y se cree que proporcionan una imagen realista de las relaciones evolutivas entre microorganismos. Sin embargo, a este respecto, la concordancia es mucho menos fuerte para la filogenia de las eucariotas que para las *procariotas* (bacterias y arqueas). En efecto, parece ser que la filogenia de los eucariotas basada en los genes del SSU rRNA podría no estar proporcionando una imagen precisa.

La visión de la filogenia de los eucariotas basada en los genes del SSU rRNA considera que ciertos organismos, como por ejemplo diplomónadas como *Giardia*, el microsporidio *Encephalitozoon* y el parabasálido *Trichomonas*, se separaron hace mucho tiempo, bastante antes que otros eucariotas, como los animales o las plantas (Figura 14.16). En apoyo de este punto de vista, los representantes de estos grupos eucarióticos «de ramificación temprana» parecían inicialmente carecer de mitocondrias y por tanto parecían haber surgido antes del evento (o eventos) endosimbiótico originario que dio lugar a las células eucariotas con mitocondrias que conocemos actualmente. Sin embargo, eucariotas que se consideraban carentes de mitocondrias como *Trichomonas* (Sección 18.7) han demostrado poseer hidrogenosomas, que son mitocondrias degeneradas metabólicamente (Sección 18.2 y Figura 18.4). Lo que es más, métodos sensibles de identificación de ácidos nucleicos y datos de

secuencias genómicas han demostrado que muchos eucariotas carentes de mitocondrias tienen genes nucleares originales de bacterias. Estos genes son análogos a los genes mitocondriales que se mantienen en el núcleo de los eucariotas aerobios de hoy en dia (Sección 18.4 y 13.4). Además, algunos de estos organismos como por ejemplo *Giardia* (Sección 18.7), tienen mitocondrias vestigiales —proteínas parecidas a las proteínas mitocondriales que se agrupan dentro de la célula y están rodeadas por minúsculos sacos de doble membrana. Estas mitocondrias vestigiales, denominadas mitosomas, también se han encontrado en otros eucariotas, incluyendo al protista *Entamoeba* (Sección 18.12), un organismo sin mitocondrias, pero filogenéticamente más alejado de la raíz del árbol. La presencia de hidrogenosomas, de genes nucleares de tipo mitocondrial y de mitosomas, sugiere que ninguno de los microorganismos eucariotas existentes de los que en cierto momento se pensó que no tenían mitocondrias realmente carecía de ellas.

La nueva imagen de la filogenia eucariota

Desde el desarrollo del árbol filogenético de los eucariotas basado en los SSU se ha empleado la secuenciación de varios genes y proteínas eucariotas para construir árboles alternativos. Estos otros marcadores filogenéticos incluyen, entre otros, las secuencias de aminoácidos de las tubulinas, la polimerasa de RNA y subunidades de la ATPasa. Las secuencias de las proteínas de choque térmico y otras chaperonas relacionadas (Secciones 7.17 y 9.11), que se consideran excelentes marcadores filogenéticos, han proporcionado parte de la información más reveladora.

Las filogenias basadas en estos marcadores muestran varias diferencias con el árbol *Eukarya* basado en los genes del SSU rRNA. En primer lugar, parece ser que muy al principio de la evolución de los eucariotas se produjo una notable radiación filogenética. Esta radiación incluye la evolución de los ancestros de todos o prácticamente todos, los organismos eucariotas actuales. Un árbol que representa esta visión (**Figura 18.12**) muestra a las diplomónadas y a los parabasálidos, organismos sin mitocondrias que se consideraron en cierto momento organismos de evolución temprana (**basales**), como organismos que surgieron más tarde en la evolución eucariota. En segundo lugar, los animales y los hongos parecen estar muy relacionados (Figura 18.12). En tercer lugar, los microsporidios, que se separan muy pronto en el árbol basado en el gen del SSU rRNA (Figura 14.16), se muestran como un grupo muy alejado de la raíz del árbol filogenético y muy relacionado con los hongos, que también son un grupo muy alejado de la raíz del árbol filogenético (Figura 18.12). En este sentido resulta interesante el que los microsporidios se transmitan por estructuras tipo esporas, pequeñas e infecciosas y parecidas en algunos aspectos a las esporas fúngicas. El análisis de los genes implicados en choque térmico respalda esta conexión entre hongos-microsporidios, ya que en *Encephalitozoon* se han detectado genes de choque térmico bacterianos (que son parecidos a los de la mitocondria). Esto implica que *Encephalitozoon* tuvo mi-

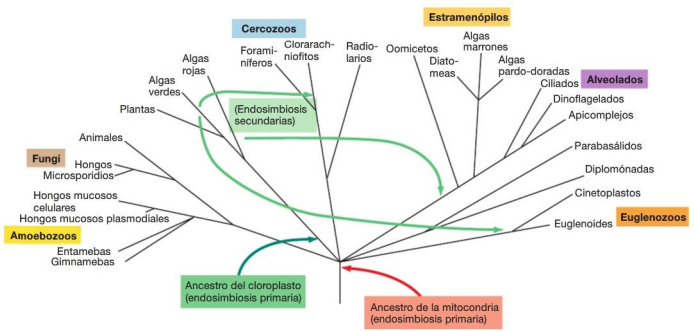


Figure 18.12 **Árbol filogenético del dominio *Eukarya*.** Este árbol filogenético, basado en la secuencia de varios genes y proteínas, muestra las relaciones entre los grandes grupos de organismos eucariotas. Las flechas gruesas indican endosimbiosis primaria para la adquisición de la mitocondria (rojo) y del cloroplasto (verde). Las flechas finas indican eventos de endosimbiosis secundaria en la adquisición por varios protistas de cloroplastos a partir de algas rojas y verdes.

tocondrias en algún momento, pero que las perdió por algún motivo y ahora sólo le quedan restos de dichas estructuras.

La Figura 18.12 también muestra cómo eventos secundarios de endosimbiosis explicarían el origen de los cloroplastos en algunos eucariotas unicelulares fotótrofos. Después de una endosimbiosis primaria de la cianobacteria que constituyó el ancestro de los cloroplastos, por parte de un eucariota poseedor de mitocondrias (Figura 18.12), dicho linaje acabó divergiendo en las algas rojas y las algas verdes (y posteriormente en las plantas). Posteriormente, en eventos secundarios independientes de endosimbiosis, los ancestros de ciertos euglenozoos (Sección 18.8) y cercozoos (Sección 18.11) adquirieron algas verdes, mientras que ciertos alveolados (Sección 18.9) y estramenópilos (Sección 18.10) adquirieron algas rojas (Figura 18.9). Estos eventos secundarios de endosimbiosis, que ayudan a comprender la diversidad filogenética de los eucariotas fotótrofos, es probable que hayan ocurrido recientemente en la escala evolutiva de tiempo.

Evolución eucariota: visión general

¿Qué podríamos concluir de esta visión emergente de la filogenia de los eucariotas? Aunque la filogenia basada en los genes del SSU rRNA y en otros genes y proteínas confirman la existencia de los tres dominios de la vida, bacterias, arqueas y *Eukarya*, nuestra visión general de la evolución eucariota se ha alterado dramáticamente con la nueva información de nuevos genes y proteínas. Además, nuevos aspectos de la biología de los eucariotas, incluyendo el descubrimiento de los hidrogenosomas o de los restos génicos o proteicos de mitocondrias en organismos de los que se pensaba previamente que nunca las habían tenido, asociados con las recientes pruebas morfológicas y de secuencia de eventos secundarios de endosimbiosis, han desplazado nuestra línea de pensamiento. En conjunto, todos estos datos nos revelan que ciertos grupos de eucariotas, que una vez se pensó que habían surgido pronto en el proceso evolutivo, es más probable que hayan surgido más recientemente, durante una importante radiación evolutiva. Esto lleva a considerar que el origen de la mitocondria podría estar vinculado a esta importante radiación evolutiva, ya que todos los *Eukarya* que todavía existen o bien tienen este orgánulo (o hidrogenosomas) o bien presentan restos macromoleculares de orgánulos similares a la mitocondria.

Una hipótesis fascinante propone que la adquisición endosimbiótica del ancestro mitocondrial, que probablemente proporcionó a las células eucariotas primitivas nuevas capacidades metabólicas extremadamente importantes (Sección 14.4), fue lo que disparó la radiación de los *Eukarya*. En un momento evolutivo posterior, el ancestro de todos los eucariotas fotótrofos adquirió el ancestro del cloroplasto en un evento primario de endosimbiosis. La diversidad de los fotótrofos eucariotas surgió más tarde, por medio de eventos endosimbióticos secundarios de adquisición de algas verdes y rojas que contenían cloroplastos

A pesar de nuestros avances en la comprensión de la evolución eucariota, todavía nos quedan por descubrir muchos aspectos de la filogenia de estos organismos. De modo que el árbol que se muestra en la Figura 18.12 no debe tomarse como definitivo. Conforme se obtengan más resultados de comparación de secuencias y se produzcan nuevos descubrimientos (como el de los mitosomas) que revelen aspectos inesperados de la biología de los eucariotas, acabará emergiendo la auténtica filogenia de los eucariotas.

18.6 Minirrevisión

Las células eucariotas forman su propia línea de descendencia evolutiva (Eukarya), conforme se deduce de los árboles filogenéticos construidos en base a la comparación de secuencias de los genes del SSU rRNA y de los árboles basados en la comparación de las secuencia de otros genes y proteínas. Algunos microorganismos eucariotas como *Giardia* y *Trichomonas*, que en cierto momento fueron considerados organismos cercanos a la raíz del árbol filogenético, ahora se consideran organismos alejados de la raíz, que se originaron durante una importante radiación evolutiva de los eucariotas.

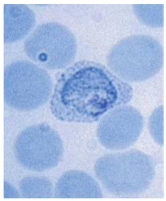
- ¿En qué se diferencian los mitosomas de las mitocondrias?
- Explique porqué la ausencia de mitocondrias podría constituir una prueba falsa para considerar a un determinado organismo eucariota como organismo de evolución temprana.
- ¿Cómo podría un evento secundario de endosimbiosis ayudar a explicar la diversidad de los eucariotas fotótrofos?

III PROTISTAS

Ahora que tenemos en mente una visión general de la filogenia de los eucariotas, procederemos a examinar los principales grupos. Comenzaremos con los organismos conocidos tradicionalmente como protistas, seguidos de los hongos y de las algas unicelulares rojas y verdes.

Los protistas (**Figura 18.13**), también llamados protozoos, una palabra que significa animales «originales» o «primeros», fueron vistos por primera vez hace más de 325 años por van Leeuwenhoek (Sección 1.6). Tradicionalmente los **protistas** han sido agrupados según un parecido general. Por ejemplo podríamos describirlos como eucariotas unicelulares, sin pared celular, móviles y no pigmentados, pese a que hay muchas excepciones a esta

(a)



(b)

(c)

Figure 18.13 **Protistas típicos.** *(a)* Ciliado típico: *Paramecium*. Una célula tiene aproximadamente 60 μm de ancho. *(b) Plasmodium vivax*, un apicomplejo, creciendo en el interior de un glóbulo rojo humano. Una célula tiene aproximadamente 1,5 μm de ancho. *(c) Amoeba*, un amoebozoo. La célula mide aproximadamente 60 μm de ancho.

descripción. Por ejemplo muchos son fotótrofos y por tanto pigmentados y algunos sí que tienen pared celular. Exhiben un amplio rango de morfologías y viven en muchos tipos de hábitats diferentes. Muchos de ellos juegan un papel importante en la sociedad y la salud humanas. Recientes estudios sobre estos organismos han demostrado que representan una tremenda diversidad filogenética. En efecto, los protistas son responsables de gran parte de la diversidad del dominio *Eukarya* (Figura 18.12). Nuestro análisis de estos organismos se ceñirá a los grupos filogenéticos principales.

18.7 Diplomónadas y parabasálidos

Géneros clave: *Giardia, Trichomonas*

Diplomónadas y parabasálidos son protistas unicelulares y flagelados que carecen de cloroplastos. Viven en ambientes carentes de oxígeno como los intestinos de animales, bien de forma simbiótica o bien como parásitos y emplean la fermentación para la generación de energía.

Diplomónadas

Las diplomónadas, que tienen dos núcleos del mismo tamaño, contienen mitosomas, que son mitocondrias mermadas que carecen de proteínas de transporte de electrones y de enzimas del ciclo del ácido cítrico (Sección 18.6). La diplomónada *Giardia intestinalis*, también conocida como *Giardia lamblia*, causa la giardiasis (lambliasis), una de las enfermedades diarreicas transmitidas por el agua más comunes en los Estados Unidos (Sección 36.6 y Figura 36.13).

Parabasálidos

Los parabasálidos contienen un cuerpo parabasal que, entre otras funciones, proporciona soporte estructural al aparato de Golgi. Carecen de mitocondrias, pero disponen de hidrogenosomas para su metabolismo anaeróbico (Sección 18.2). Los parabasálidos viven en los tractos intestinal y genital de vertebrados e invertebrados, actuando como parásitos o comensales (Sección 23.1). El parabasálido *Trichomonas vaginalis* (Sección 34.14) causa una enfermedad de transmisión sexual en humanos.

Los genomas de los parabasálidos son únicos entre los eucariotas, ya que la mayoría de ellos carecen de intrones, las secuencias no codificantes características de los genes eucariotas (Sección 8.5 y 13.5). Además, el genoma de *T. vaginalis* es enorme para un organismo parásito, con unos 160 megapares de bases y muestra indicios de haber adquirido genes de bacterias por transferencia horizontal. Gran parte del genoma de *T. vaginalis* contiene secuencias repetidas, pero aún así este organismo tiene casi 60.000 genes, aproximadamente el doble que el genoma humano y cerca del límite superior conocido para genomas eucariotas.

18.7 Minirrevisión

Las diplomónadas son protistas unicelulares, flagelados y no fotótrofos. Los parabasálidos como *Trichomonas* tienen genomas enormes que carecen de intrones.

- ¿Cómo consiguen energía las diplomónadas?
- ¿En qué tipo de ambientes viven los parabasálidos?

18.8 Euglenozoos

Géneros clave: *Trypanosoma, Euglena*

Los euglenozoos forman un variado agrupamiento de eucariotas unicelulares y flagelados, que se distinguen de los demás protistas en parte por la presencia de una vari-

lla cristalina en sus flagelos. No se conoce la función de esta característica morfológica. Algunos euglenozoos son parásitos, mientras que otros son fotótrofos o quimiorganótrofos de vida libre. El grupo de los euglenozoos incluye a los cinetoplastos y a los euglenoides.

Cinetoplastidos

Los cinetoplastos son un grupo muy estudiado de los euglenozoos, que reciben su nombre de la presencia de un cinetoplasto, que es una masa de DNA localizada en su única mitocondria de gran tamaño. Los cinetoplastos viven principalmente en ambientes acuáticos, donde se alimentan de bacterias. Sin embargo algunas especies son parásitas de animales y causan una serie de graves enfermedades en humanos y otros vertebrados. En *Trypanosoma*, un género que infecta al hombre, las células son pequeñas, de aproximadamente 20 μm de longitud, delgadas y con forma de media luna. Los tripanosomas tienen un único flagelo que se origina en el cuerpo basal y se dobla lateralmente a lo largo de la célula, donde queda envuelto por un reborde de membrana citoplasmática (**Figura 18.14**). Tanto el flagelo como la membrana participan en la propulsión del organismo, permitiendo un movimiento eficiente incluso en líquidos viscosos, como la sangre.

Trypanosoma brucei (Figura 18.14) es la especie que causa la enfermedad del sueño africana, una enfermedad crónica y a menudo mortal. En el hombre este parásito vive y crece principalmente en el torrente sanguíneo, aunque en los últimos estados de la enfermedad invade el sistema nervioso central, provocando una inflamación del cerebro y de la médula espinal, que es la responsable de los síntomas neurológicos característicos de la enfermedad. Este parásito se transmite entre hospedadores utilizando como vector a la mosca tsé tsé, *Glossina sp.*, una mosca chupadora de sangre que sólo se encuentra en ciertas regiones de África. Después de transmitirse del ser humano a la mosca a través de la sangre, el parásito prolifera en el tracto intestinal de la mosca e invade las glándulas salivares y las mandíbulas del insecto, por las que se transmite por una picadura a un nuevo hospedador humano.

Euglenoides

Otro grupo de euglenozoos bien estudiado son los euglenoides. A diferencia de los tripanosomas, estos organismos son fotótrofos no patógenos. Viven exclusivamente en ambientes acuáticos y contienen cloroplastos, que les permiten crecer fototróficamente (**Figura 18.15**). Sin embargo, en la oscuridad las células de *Euglena*, un euglenoide típico, pueden perder sus cloroplastos y funcionar como organismos completamente heterótrofos. Muchos euglenoides pueden también alimentarse de bacterias por **fagocitosis**, un proceso en el que una partícula de alimento es rodeada por una parte de la membrana citoplasmática flexible, para englobar dicha partícula e introducirla en la célula, donde es digerida.

18.8 Minirrevisión

Los euglenozoos son protistas unicelulares flagelados. Algunos son fotótrofos. Este grupo incluye algunos importantes patógenos humanos, como por ejemplo *Trypanosoma* y algunos no patógenos muy bien estudiados, como por ejemplo *Euglena*.

- ¿En qué se distinguen los euglenozoos de otros protistas?
- ¿Cómo se transmiten las células de *Trypanosoma brucei* de un humano a otro?
- ¿De qué diferentes maneras pueden nutrirse los euglenoides?

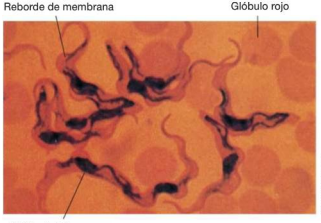


Figure 18.14 **Tripanosomas.** Fotografía al microscopio óptico del euglenozoo flagelado *Trypanosoma brucei*, el agente causante de la enfermedad africana del sueño, en una muestra de sangre. Una célula tiene aproximadamente 3 μm de ancho.

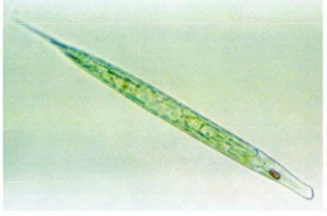


Figure 18.15 ***Euglena*, un euglenozoo.** Este protista fototrópico, como otros euglenozoos, no es patógeno. Una célula tiene unos 15 μm de ancho.

18.9 Alveolados

Géneros clave: *Gonyaulax, Plasmodium, Paramecium*

Los alveolados se caracterizan como grupo por la presencia de alveolos, unos sacos localizados bajo su membrana citoplasmática. Aunque la función de los alveolos se desconoce, podrían ayudar a la célula a mantener el equilibrio osmótico. Tres tipos de organismos, filogenéticamente diferenciados pero de alguna manera bastante relacionados entre sí, se incluyen en el grupo de los alveolados (Figura 18.12): los ciliados, que emplean cilios para desplazarse; los dinoflagelados, que se mueven por medio de flagelos; los apicomplejos, que son parásitos de animales.

Ciliados

Los **ciliados** tienen cilios en algún momento de su ciclo de vida (**Figura 18.16**; *véase* también Figura 18.13*a*), que son estructuras que se emplean para desplazarse (Sección 18.5). Los cilios pueden recubrir toda la célula o agruparse en mechones o en filas, dependiendo de las especies. Los ciliados más conocidos y más ampliamente distribuidos son probablemente los del género *Paramecium* (Figura 18.16). Como muchos otros ciliados, *Paramecium* emplea sus cilios no sólo para moverse, sino también para conseguir alimento, al las ingerir partículas de alimento, como por ejemplo células bacterianas, a través de un distintivo surco oral en forma de embudo. Los cilios que recubren el surco oral mueven el alimento a lo largo de dicho surco hacia la boca de la célula (Figura 18.16*b*). Una vez allí es englobada en una vacuola alimenticia por fagocitosis. Diversas enzimas digestivas se secretan dentro de la vacuola alimenticia para digerir el alimento.

Los ciliados son únicos entre los protistas porque tienen dos tipos de núcleos, los micronúcleos y los macronúcleos. Los genes en el macronúcleo regulan las funciones celulares básicas, como el crecimiento y la alimentación, mientras que los genes de los micronúcleos están implicados en la reproducción sexual, que se lleva a cabo mediante conjugación, que es la fusión parcial de dos células de *Paramecium* con el intercambio de micronúcleos.

Muchas especies de *Paramecium* (así como otras de protistas) son hospedadoras de procariotas endosimbióticos, que residen en su citoplasma o a veces en el macronúcleo. Estos organismos podrían cumplir una función nutritiva, al sintetizar vitaminas u otros factores de crecimiento utilizados por la célula hospedadora. Los protistas ciliados que actúan como comensales en el aparato digestivo de las termitas son portadores de metanógenos (arqueas) endosimbiontes. Estos organismos metabolizan el H_2 producido mediante la oxidación del piruvato en el hidrogenosoma (Figura 18.4) para generar metano, que se libera a la atmósfera (Sección 24.2 y Figura 24.4). Lo que es más, los propios ciliados pueden ser simbiontes, como sucede con los ciliados anaerobios estrictos presentes en el rumen, el estómago anterior de animales rumiantes. Los protistas del rumen tienen funciones beneficiosas para los procesos fermentativos y digestivos del animal (Sección 24.10).

En contraposición a estos ejemplos de simbiosis, algunos ciliados son parásitos de animales, aunque este estilo de vida sea menos frecuente en ciliados que en otros grupos de protistas. Por ejemplo, la especie *Balantidium coli* (**Figura 18.17**) es principalmente un pa-

www.medi

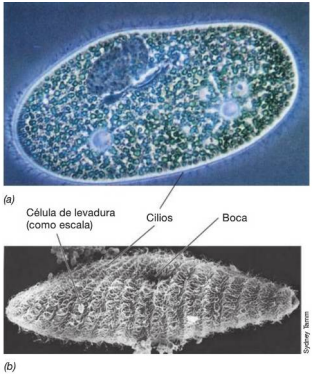


Figure 18.16 ***Paramecium*, un protista ciliado.** *(a)* Fotografía de microscopía de contraste de fase *(b)* Fotografía del microscopio electrónico de barrido. Obsérvense los cilios en ambas fotografías. Una célula de *Paramecium* tiene unos 60 μm de diámetro.

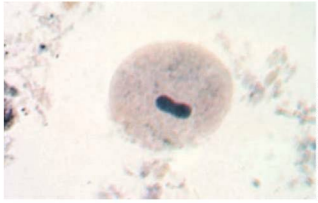


Figure 18.17 ***Balantidium* coli, un protista ciliado que causa una enfermedad en humanos parecida a la disentería.** La estructura teñida en azul es el macronúcleo. La célula tiene unos 55 μm de ancho.

rásito intestinal de animales domésticos, pero de modo ocasional infecta el tracto intestinal humano, causando síntomas parecidos a la disentería producida por *Entamoeba histolytica*.

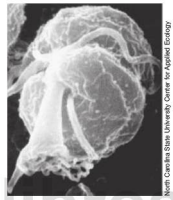
Dinoflagelados

Un segundo grupo de alveolados lo forman los dinoflagelados, organismos fotótrofos muy variados y habituales en agua marina y agua dulce (**Figuras 18.18** y **18.19**). Los flagelos que circundan la célula generan un movimiento de giro que da su nombre a los dinoflagelados (en griego *dinos* significa «girar»). Los dinoflagelados tienen dos flagelos de diferente longitud y con distintos puntos de inserción en la célula, transversales y longitudinales. El flagelo transversal está unido lateralmente, mientras que el flagelo longitudinal se origina en el surco lateral de la célula y se extiende a lo largo de ésta (Figura 18.19*b*). Algunos dinoflagelados son de vida libre (Figura 18.18), mientras que otros viven en simbiosis con los animales que forman los arrecifes de coral, de los que obtienen un hábitat protegido a cambio de proporcionarles carbono fijado fototróficamente como alimento para el arrecife.

En aguas marinas costeras ricas en nutrientes, los dinoflagelados pueden alcanzar un número muy elevado. Varias especies de *Gonyaulax* son bioluminiscentes (producen luz visible por medio de reacciones bioquímicas) y pueden producir despliegues espectaculares de luminiscencia cuando son estimuladas por fuerzas externas, como las olas rompiendo sobre la costa o un barco o un nadador moviéndose sobre el agua. *Gonyaulax* también puede ser muy tóxica. En aguas costeras templadas y preferentemente contaminadas, pueden formarse densas suspensiones de estas células, denominadas «mareas rojas» (Figura 18.19*a*) debido a los pigmentos xantofilas de color rojo brillante que poseen estos organismos. Estas explosiones poblacionales (blooms o flores de agua) están a menudo asociadas con la muerte de peces y el envenenamiento de personas que han consumido mejillones contaminados, que acumulan *Gonyaulax* al alimentarse por filtración. La toxicidad de *Gonyaulax* se debe a una sustancia denominada saxitoxina, una potente neurotoxina que puede producir envenenamiento paralizante por marisco (en inglés *paralytic shellfish poisoning* o PSP). Los síntomas de PSP incluyen insensibilización de los labios, mareos y dificultad al respirar. Puede provocar la muerte por fallo respiratorio.

Otro género de dinoflagelados tóxicos es *Pfiesteria*. Las esporas tóxicas de *Pfiesteria piscicida* (Figura 18.19*b*) infectan peces y acaban por matarlos debido a la producción de neurotoxinas que afectan al movimiento y destruyen la piel. Las lesiones se forman en las zonas donde el pez ha perdido la piel, lo que permite el crecimiento de bacterias patógenas oportunistas (Figura 18.19*c*). *P. piscicida* puede provocar la muerte de enormes cantidades de peces. Por ejemplo, más de 1.000 millones de peces mu-

(a)



(b)

(c)

Figure 18.19 **Dinoflagelados tóxicos (miembros de los alveolados).** *(a)* Fotografía de una marea roja causada por el crecimiento masivo de dinoflagelados productores de toxinas, tales como *Gonyaulax*. La toxina es excretada al agua y se acumula en moluscos que se alimentan de dinoflagelados. La toxina es inocua para el molusco pero puede causar el envenenamiento de peces y humanos que ingieran moluscos infectados. (b-c) *Pfiesteria tóxica*. *(b)* Fotografía del microscopio electrónico de una espora tóxica de *P. piscicida*; la célula tiene unos 12 μm de ancho. (c) Peces muertos por *P. piscicida*. Obsérvense las lesiones.

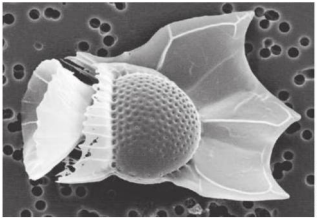


Figure 18.18 **El dinoflagelado marino, *Ornithocercus magnificus* (un alveolado).** La célula en sí es la estructura globular central; las ornamentadas estructuras unidas a ella se denominan listas. Una célula tiene unos 30 μm de ancho.

rieron en 1991 como consecuencia de una epidemia de *Pfiesteria* en el estuario de Neuse, Carolina del Norte (EE.UU.) y se sospecha que se han producido otras epidemias a lo largo de la costa Este de los Estados Unidos. La intoxicación por *Pfiesteria* en humanos produce síntomas como erupciones cutáneas, pérdida de la memoria a corto plazo y problemas respiratorios.

Apicomplejos

El tercer grupo de alveolados lo forman los apicomplejos, que son parásitos obligados de animales (Figura 18.13*b*). Los apicomplejos causan graves enfermedades como la malaria (especies de *Plasmodium*), la toxoplasmosis (*Toxoplasma*) y la coccidiosis (*Eimeria*). Estos organismos se caracterizan por sus formas adultas carentes de movilidad, que toman su alimento en forma soluble a través de la membrana citoplasmática, como los procariotas y los hongos. Pese al nombre esporozoos que también se usa para referirse a ellos, estos organismos no forman auténticas esporas de resistencia como las de bacterias, algas y hongos, sino que producen estructuras análogas denominadas esporozoitos, que sirven para la transmisión del parásito a un nuevo hospedador. El nombre de apicomplejos proviene de la presencia de un complejo de orgánulos localizado en uno de los extremos del esporozoito y que penetra en las células del hospedador.

Numerosos vertebrados e invertebrados pueden ser hospedadores de apicomplejos. En algunos casos, se produce una alternancia de hospedadores, con ciertos estadios del ciclo de vida ligados a un hospedador y otros estadios a un hospedador diferente. Algunos apicomplejos relevantes son los coccidios, habitualmente parásitos de aves y los miembros del género *Plasmodium* (parásitos de la malaria) (Figura 18.13*b*), que infectan aves y mamíferos, incluido el hombre. Como la malaria es una importante enfermedad en humanos, especialmente en países en vías de desarrollo, en la Sección 35.5 dedicaremos un espacio considerable al análisis de esta enfermedad y a las características de los parásitos de la malaria, incluyendo la alternancia entre hospedadores inherente a su ciclo de vida.

Los parásitos apicomplejos contienen apicoplastos. Se trata de cloroplastos degenerados que carecen de pigmentos y son incapaces de fototrofia. Sin embargo, al igual que los cloroplastos, los apicoplastos contienen su propio genoma y expresan unos cuantos genes. La mayoría de las funciones de los apicoplastos están codificadas en el núcleo, de modo parecido a lo que sucede con las mitocondrias. Los apicoplastos llevan a cabo la biosíntesis de ácidos grasos, isoprenoides y hemos y exportan estos productos al citoplasma. Se ha propuesto la hipótesis de que los apicoplastos tienen su origen en células de algas rojas englobadas por los apicomplejos en un evento secundario de endosimbiosis (Figura 18.12). Con el tiempo los cloroplastos de las algas rojas acabaron degenerando y cumpliendo una función no fototrófica en las células de los apicomplejos.

18.9 Minirrevisión

Los alveolados están formados por tres grupos: ciliados, dinoflagelados y apicomplejos. Los ciliados y los dinoflagelados son organismos de vida libre, mientras que los apicomplejos son parásitos obligados de animales.

- ¿Qué función podrían tener los alveolos?
- Describa cómo se alimenta el ciliado *Paramecium*.
- ¿Qué es un apicoplasto?

18.10 Estramenópilos

Géneros clave: *Phytophthora, Nitzschia, Dinobryon*

Los estramenópilos incluyen tanto organismos quimiorganótrofos como organismos fotótrofos. Los miembros de este grupo tienen flagelos con muchas extensiones cortas parecidas a pelos, lo que le da su nombre al grupo (de los términos latinos *stramen* y *pilos*, que significan «paja» y «pelo», respectivamente). Los oomicetos, las diatomeas y las algas pardo-doradas (Figura 18.12) componen los estramenópilos unicelulares y filamentosos. El cuarto miembro del grupo lo constituyen las algas marrones o feofitas, lo que incluye muchas algas marinas multicelulares, que no trataremos aquí.

Oomicetos

Los oomicetos («hongos huevo»), también denominados hongos acuáticos, estaban agrupados previamente con los hongos, debido a su crecimiento filamentoso y a la presencia de hifas **cenocíticas** (es decir, multinucleadas), rasgos morfológicos característicos de los hongos. Su ciclo de vida, a diferencia del de muchos hongos, incluye una fase diploide de reproducción asexual y una fase también diploide de reproducción sexual. Sin embargo, filogenéticamente los oomicetos están más cercanos a los estramenópilos y más bien distantes de los hongos (Figura 18.12).

Además de lo expuesto, los oomicetos se diferencian de los hongos por otras razones importantes. Por ejemplo, la pared celular de los oomicetos están compuestas típicamente por celulosa y no por quitina como en los hongos y además sus células tienen flagelos, de los que carecen la mayoría de los hongos. Lo que es más, la fase diploide que en la mayoría de los hongos es secundaria, es la fase dominante en los oomicetos. En cualquier caso los oomicetos son parecidos en su ecología a los hongos, en tanto que crecen como una masa de hifas, descomponiendo animales y plantas muertos en ambientes acuáticos. Los oomicetos han tenido un notable impacto en la sociedad humana. El oomiceto *Phytophthora infestans*, que causa el mildiu de la patata, contribuyó a enormes hambrunas en Irlanda en el siglo XVII. Dichas hambrunas provocaron la muerte de un millón de irlandeses y la emigración de al menos un millón más hacia Estados Unidos, Australia, Canadá y otros países.

www.libros.com

Diatomeas

Las diatomeas incluyen más de 100.000 especies de organismos unicelulares y fotótrofos, marinos y de agua dulce. Producen una pared celular especializada extremadamente resistente al aplastamiento, compuesta de sílice a la que se añaden proteínas y polisacáridos. Esta pared, que les protege de la predación, muestra formas extremadamente diversas en las distintas especies (**Figura 18.20**). La estructura externa formada por la pared, denominada frústula, a menudo se mantiene después de que la célula haya muerto y el material orgánico haya desaparecido. Las frústulas de diatomeas normalmente muestran una morfología simétrica, incluyendo simetría plumulada (con elementos similares dispuestos en lados opuestos de un mismo eje) (Figura 18.20*a*), como ocurre en la diatomea común *Nitzschia* y simetría radial (Figura 18.20*b*,*c*). Como las frústulas de diatomeas son resistentes a la descomposición, se mantienen intactas durante largos períodos de tiempo y son algunos de los mejores fósiles conocidos de eucariotas unicelulares. Gracias a este excelente registro fósil, se sabe que las diatomeas aparecieron en la Tierra hace unos 200 millones de años.

Algas pardo-doradas

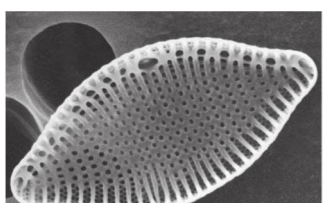
Las algas pardo-doradas, también llamadas crisofitas, son fotótrofos marinos y de agua dulce, en su mayoría unicelulares. Algunas especies son quimiorganótrofos que se alimentan bien por fagocitosis, bien transportando compuestos orgánicos solubles a través de la membrana citoplasmática. Algunas algas pardo-doradas, como por ejemplo *Dinobryon*, que viven en agua dulce, son coloniales. Sin embargo, la mayoría de las algas pardo-doradas son unicelulares y se mueven por medio de dos flagelos de distinta longitud.

Las algas pardo-doradas deben su nombre a su color marrón dorado. Este se debe a sus pigmentos cloroplásticos, entre los que predomina la fucoxantina, un carotenoide de color marrón. Además, el principal pigmento clorofílico de las algas pardo-doradas es la clorofila I en vez de la clorofila *a* y carecen de las ficobilinas habituales en los cloroplastos de las algas rojas (Sección 18.20). Las células del alga dorada unicelular *Ochromonas*, el género más estudiado de este grupo, sólo tienen 1-2 cloroplastos.

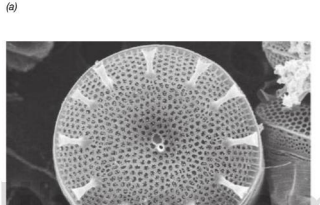
18.10 Minirrevisión

Los estramenópilos son protistas que tienen un flagelo con finas extensiones parecidas a pelos. Incluyen a los oomicetos, diatomeas, algas pardo-doradas y algas pardas.

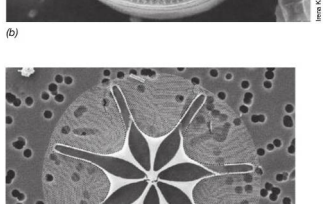
- ¿En qué se parecen los oomicetos a los hongos?
- ¿En qué se diferencian los oomicetos de los hongos?
- ¿Qué estructura de las diatomeas explica su excelente registro fósil?



(a)



(b)



(c)

Figure 18.20 Frústulas de diatomeas. Fotografía del microscopio electrónico de barrido. Una frústula es la pared silícea que rodea a la célula de la diatomea. *(a)* Frústula de la diatomea marina *Nitzschia*, que muestra simetría plumulada. Una célula tiene unos 10 μm de ancho. *(b)* Frústula de la diatomea marina *Thalassiosira*, que muestra simetría radial. Una célula tiene unos 5 μm de diámetro. *(c)* Frústula de la diatomea marina *Asteriolampra*, que muestra simetría radial. Una célula tiene unos 10 μm de ancho.

18.11 Cercozoos y radiolarios

Cercozoos y radiolarios se diferencian de otros protistas por sus pseudópodos filiformes, con los que se desplazan y se alimentan. Los cercozoos se denominaban previamente amebas debido a sus pseudópodos, pero ahora se sabe que muchos organismos filogenéticamente distintos utilizan pseudópodos.

Cercozoos

Los cercozoos incluyen entre otros grupos a los clorarachniofitos y a los foraminíferos entre otros grupos, y están muy relacionados con los radiolarios, que también tienen pseudópodos filiformes. Los clorarachniófitos son organismos fotótrofos ameboides que desarrollan un flagelo para dispersarse; su adquisición de cloroplastos es un ejemplo de simbiosis secundaria (Figura 18.12).

Los foraminíferos son organismos exclusivamente marinos, que viven fundamentalmente en aguas costeras. Forman estructuras similares a conchas, denominadas testas, con características distintivas y a menudo muy ornamentadas (**Figura 18.21**). Las testas están normalmente compuestas por material orgánico reforzado con minerales como por ejemplo el carbonato cálcico. La célula ameboide no está unida firmemente a la testa y puede extenderse parcialmente fuera de su caparazón durante la alimentación. Sin embargo, debido al peso de la testa, la célula suele acabar hundiéndose hasta el fondo y se cree que estos organismos se alimentan de las partículas depositadas en los sedimentos, principalmente bacterias y restos de organismos muertos. Las testas de los foraminíferos son relativamente resistentes a la descomposición y por tanto es fácil que acaben fosilizados (por ejemplo los acantilados blancos de Dover, Inglaterra, están compuestos por caparazones de foraminíferos que acabaron acumulándose en el fondo de un océano primitivo). Como estos organismos han dejado un excelente registro fósil, tenemos una mejor idea de su distribución a lo largo de la escala geológica de tiempo que para ningún otro protista.

Figure 18.21 Un foraminífero (un cercozoo). Obsérvese la testa ornada y multilobulada. La testa tiene aproximadamente 1 mm de ancho.

Radiolarios

Los radiolarios son organismos heterótrofos, en su mayoría marinos, que tienen pseudópodos filiformes como los cercozoos. El nombre de radiolarios les viene de la simetría radial de sus testas, que generalmente están compuestas de sílice y formadas por una pieza única. Cuando la célula muere, las testas de los radiolarios marinos sedimentan en el fondo oceánico y pueden acumularse hasta formar con el tiempo gruesas capas de material celular en descomposición.

18.11 Minirrevisión

Los cercozoos y radiolarios son dos grupos de protistas muy relacionados. Los cercozoos, que antes se agrupaban con las amebas, incluyen a los clorarachniófitos y los foraminíferos. Las testas de los radiolarios exhiben simetría radial.

- ¿Qué estructura distingue a los cercozoos y a los radiolarios de otras protistas?
- ¿Cómo se cree que adquirieron su capacidad de fotosíntesis las clorarachniófitos?
- ¿Dónde viven los foraminíferos?

18.12 Amoebozoos

Géneros clave: *Amoeba, Entamoeba, Physarum, Dictyostelium*

Los amebozoos son un grupo muy diverso de protistas acuáticos y terrestres, que utilizan unos pseudópodos lobulados para desplazarse y alimentarse, diferentes de los pseudópodos filiformes de cercozoos y radiolarios. Los grupos principales de amebozoos son las gymnamebas, las entamebas y los hongos mucosos celulares y plasmodiales.

Gymnamoebas

Las gymnamebas son protistas de vida libre que habitan ambientes acuáticos y terrestres. Utilizan pseudópodos para desplazarse con movimiento ameboide (**Figura 18.22**) y para alimentarse por fagocitosis de bacterias, otros protistas y materia orgánica. El **movimiento ameboide** se genera mediante la formación de corrientes de citoplasma, conforme este fluye hacia el extremo de la célula menos contraído y viscoso, siguiendo el camino de menor resistencia. A la formación de corrientes citoplasmáticas contribuyen los microfilamentos, que están dispuestos formando una fina capa situada justo debajo de la membrana citoplasmática en las células eucariotas (Sección 18.5 y Figuras 18.1 y 18.9). *Amoeba* (Figura

www.elibros.com

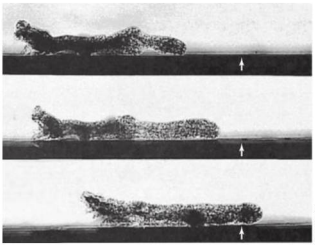


Figure 18.22 Vista lateral de un amebozoo, *Amoeba proteus*, tomada de una película. El intervalo de tiempo entre la parte superior y la inferior es de unos 6 segundos. Las flechas señalan un punto fijo de la superficie. Una célula tiene unos 80 μm de ancho.

18.13*c*) es un género común de agua dulce, a menudo presente en agua de estanques, con especies que varían de tamaño entre 15 μm de diámetro —claramente microscópicas— hasta más de 750 μm —casi visibles a simple vista.

Entamoebas

A diferencia de las gymnamebas, las entamebas son parásitos de vertebrados e invertebrados. Su hábitat más frecuente es la cavidad oral o el tracto intestinal de animales. Por ejemplo, varias especies de *Entamoeba* infectan al hombre, aunque sin causar enfermedad. Sin embargo hay una especie, *Entamoeba histolytica* (Figura 36.17), que es patógena de humanos y puede causar disentería amébiana, una ulceración del tracto intestinal que produce diarrea sanguinolenta. Este parásito se transmite de persona a persona en fase quística por contaminación fecal de agua, alimentos o utensilios de cocina. En la Sección 36.8 analizaremos la etiología y patogénesis de la amebiosis, una causa importante de muerte por parásitos en humanos.

Hongos mucosos

Los **hongos mucosos** estaban agrupados previamente con los hongos porque tienen ciclos de vida parecidos (Sección 18.13) y porque producen cuerpos fructificantes con esporas para su dispersión. Como protistas, los hongos mucosos son móviles y pueden desplazarse bastante rápido sobre superfícies sólidas (Figuras 18.23-18.25). El análisis filogenético sitúa a los hongos mucosos entre los amoebozoos (Figura 18.12); parecen descender de las gymnamebas.

Los hongos mucosos se dividen en dos grupos, los hongos mucosos plasmodiales, también llamados hongos mucosos acelulares, cuyas formas vegetativas son masas protoplásmicas de tamaño y forma indefinidos denominadas plasmodios (**Figura 18.23**) y los hongos mucosos celulares, cuyas formas vegetativas son amebas individuales. Los hongos mucosos viven principalmente sobre materia vegetal en descomposición, como restos de hojas, troncos y sobre el suelo. Su alimento consiste principalmente en otros microorganismos, especialmente bacterias, que ingieren por fagocitosis. Los hongos mucosos pueden mantenerse en estado vegetativo por largos períodos de tiempo, pero finalmente forman estructuras diferenciadas tipo espora que pueden permanecer latentes y posteriormente germinar, para dar lugar a nuevas formas ameboides activas.

Los hongos mucosos plasmodiales, como por ejemplo *Physarum*, presentan una fase vegetativa en forma de una masa individual de protoplasma en expansión denominada plasmodio, que contiene muchos núcleos diploides (Figura 18.23). El plasmodio se desplaza mediante movimiento ameboide, fluyendo sobre la superficie del sustrato y englobando partículas de alimento según se mueve. Las corrientes de citoplasma dentro de la masa plasmodial durante el movimiento ameboide sirven para distribuir los nutrientes. El plasmodio es genéticamente diploide. A partir del plasmodio puede formarse un esporangio con esporas haploides. En condiciones favorables las esporas germinan, para producir células nadadoras haploides flageladas. La fusión de dos células nadadoras da lugar a un plasmodio diploide.

Hongos mucosos celulares

Los hongos mucosos celulares se diferencian de diversas maneras de los hongos mucosos plasmodiales. Por ejemplo, los hongos mucosos celulares son haploides y sólo forman macrocistos diploides (que describiremos más tarde) en ciertas condiciones. Además, la forma activa de los hongos mucosos celulares, que se desplaza y se alimenta, presenta el aspecto de células ameboides indepen-

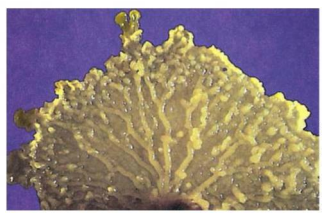


Figure 18.23 Hongo mucoso. Plasmodio del hongo mucoso plasmodial *Physarum* crecido en una superficie de agar. La mucosidad tiene aproximadamente 5 cm de largo y unos 3,5 cm de ancho.

www.medicos.com

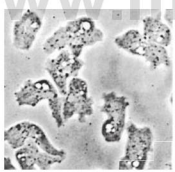
dientes, en lugar de la masa plasmodial con muchos núcleos que caracteriza a los hongos mucosos plasmodiales. Cuando han consumido todo el alimento disponible, las células se agregan para formar un pseudoplasmodio (una masa celular) del que surge un cuerpo fructificante, aunque las células individuales se mantienen separadas por sus membranas citoplasmáticas.

El hongo mucoso celular *Dictyostelium discoideum* hace tiempo que se utiliza como modelo para el estudio de la comunicación intercelular durante el desarrollo celular eucariota. Este organismo comunitario desarrolla un fascinante ciclo de vida durante el cual las células vegetativas se agregan, migran conjuntamente en forma de masa celular y finalmente producen cuerpos fructificantes en los cuales las células se diferencian para formar esporas (**Figuras 18.24** y **18.25**). Cuando las células de *Dictyostelium* no pueden obtener suficientes nutrientes se agregan para formar el pseudoplasmodio; en este estadio las células pierden su individualidad, pero no se fusionan. Esta agregación es inducida por la producción de monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), que actúa como agente quimiotáctico (en la Sección 9.9 analizamos la implicación del cAMP en varios sistemas reguladores de bacterias). Las primeras células de *Dictyostelium* en producir dicho compuesto se convierten en centros de atracción de las células ameboides de su entorno, e inducen su agregación para formar masas celulares.

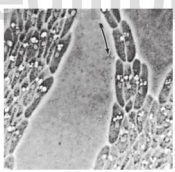
La formación del cuerpo fructificante comienza cuando la masa celular interrumpe su migración y se dispone en posición vertical (Figuras 18.24 y 18.25). El cuerpo fructificante se diferencia en un tallo y una cabeza; las células en el extremo anterior de la masa celular se diferencian en células del tallo y aquellas en el extremo posterior de la masa celular se diferencian en esporas en la cabeza. Las células que forman el tallo comienzan a secretar celulosa, que confiere rigidez al tallo. Las células de la parte posterior de la masa celular se desplazan por el tallo hasta alcanzar su extremo y forman la cabeza. Muchas de estas células de la parte posterior se diferencian en esporas. Al madurar la cabeza, las esporas se liberan y se dispersan. Cada espora germinará para liberar una ameba independiente.

El ciclo de formación de cuerpos fructificantes y de esporas en *Dictyostelium* es un proceso asexual. Sin embargo, también pueden producirse esporas sexuales llamadas macrocistos. Los macrocistos se forman a partir de agregados de amebas que se envuelven con una pared de celulosa. Mediante la conjugación de dos amebas se genera una ameba única de gran tamaño, que fagocita todas las amebas restantes. Alrededor de la ameba gigante resultante se forma una gruesa pared de celulosa, dando lugar al macrocisto maduro; este macrocisto puede permane-

www.medilibros.com

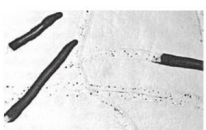


(a)

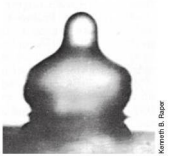


(b)

(c)

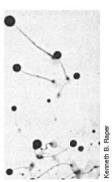


(d)



(e)

(f)



(g)

Figure 18.24 **Fotografía al microscopio óptico de varios estadios del ciclo de vida del hongo mucoso *Dictyostelium discoideum*.** *(a)* Amebas en estadio preagregacional. Obsérvense la forma y ausencia de orientación. *(b)* Amebas agregándose. Las amebas son de unos 300 μm de diámetro. Obsérvense la forma regular y la orientación. *(c)* Amebas agregándose a pocos aumentos *(d)* Pseudoplasmodios migrando (masas celulares), moviéndose en una superficie de agar y dejando un rastro de secreción mucosa. *(e, f)* Estadios tempranos de los cuerpos fructificantes. *(g)* Cuerpos fructificantes maduros. La Figura 18.25 muestra los tamaños de estas estructuras.

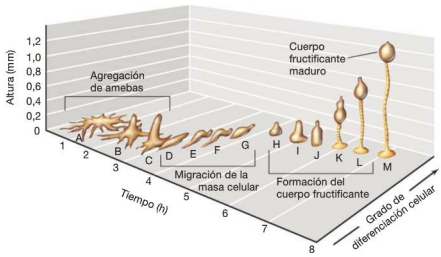


Figure 18.25 **Estadios en la formación del cuerpo fructificante del hongo mucoso *Dictyostelium discoideum*.** *(a-c)* Agregación de las amebas. *(d-g)* Migración de las masas celulares formadas a partir de los agregados de amebas. *(h-l)* Culminación de la migración y formación del cuerpo fructificante. *(m)* Cuerpo fructificante maduro compuesto de tallo y cabeza. Las células de la parte trasera de las masas celulares forman la cabeza y dan lugar a las esporas. El cuerpo fructificante contiene esporas que darán lugar a amebas reiniciando así el ciclo de vida.

cer latente durante largos períodos de tiempo. Finalmente, el núcleo diploide sufre meiosis, generando núcleos haploides que se integran en nuevas amebas que pueden iniciar de nuevo el ciclo asexual (Figuras 18.24 y 18.25).

18.12 Minirrevisión

Las amebozoos son protistas que emplean pseudópodos para desplazarse y alimentarse. Entre las amebozoos se incluyen las gymnamebas, las entamebas y los hongos mucosos. Existen dos tipos de hongos mucosos; los hongos mucosos plasmodiales forman masas móviles de protoplasma, mientras que los hongos mucosos celulares son masas de células independientes que se agregan para formar cuerpos fructificantes de los que se liberarán esporas.

- ¿Cómo se distinguen los amebozoos de los cercozoos y los radiolarios?
- Compare los estilos de vida de las gymnamebas y las entamebas.
- Describa los principales estadios del ciclo de vida de *Dictyostelium discoideum*.

IV HONGOS

Los **hongos** constituyen un gran grupo de organismos, diverso y muy extendido, que incluye a los mohos, las setas y las levaduras. Se han descrito aproximadamente 100.000 especies de hongos y se estima que podrían existir hasta 1,5 millones de especies. Los hongos se agrupan filogenéticamente separados de otros organismos, estando más íntimamente relacionados con los animales (Figura 18.12).

Los hongos tienen hábitats muy diversos. Algunos hongos son acuáticos, fundamentalmente de agua dulce, aunque se conocen algunas especies marinas de hongos. Sin embargo, la mayoría de los hongos son terrestres. Habitan en el suelo o en materia vegetal muerta y cumplen una importante función en la mineralización del carbono orgánico. Un gran número de hongos son parásitos de plantas. De hecho, los hongos pueden causar muchas de las enfermedades con relevancia económica en plantas cultivadas. Algunos hongos causan enfermedades en animales, incluido el hombre, aunque en general los hongos son menos relevantes como patógenos de animales que otros organismos. Los hongos también pueden establecer asociaciones simbióticas con muchas plantas, facilitándole a la planta la adquisición de minerales del suelo (Sección 24.13) y muchos hongos colaboran de forma beneficiosa con el hombre, mediante la síntesis de antibióticos y mediante ciertos procesos fermentativos. Las siguientes secciones describen algunas de las características generales de los hongos, desde una perspectiva filogenética.

18.13 Fisiología y estructura de los hongos; asociaciones con otros organismos

En esta sección describiremos algunos rasgos generales de los hongos, incluyendo su fisiología y ecología, su estructura celular y las asociaciones que desarrollan con plantas y animales. En la siguiente sección examinaremos su reproducción y su filogenia.

Nutrición y fisiología

Los hongos son quimiorganótrofos, habitualmente tienen necesidades nutricionales sencillas y la mayoría son aerobios. Se alimentan mediante la secreción de enzimas extracelulares que digieren compuestos orgánicos complejos, como polisacáridos o proteínas, en sus monómeros constituyentes, como azúcares, péptidos, aminoácidos y demás. Estos componentes son absorbidos por la célula fúngica como fuentes de energía, carbono y otros

nutrientes. Como organismos descomponedores los hongos digieren y por tanto reciclan, material orgánico muerto como restos de hojas, troncos caídos, cadáveres de animales y plantas muertas. Como parásitos de plantas y animales, los hongos emplean el mismo modo de alimentación, pero toman sus nutrientes de las células vivas de aquellas plantas y animales que han infectado e invadido.

Una importante función ecológica de los hongos, especialmente los basidiomicetos, es la descomposición de madera, papel, tejidos y otros productos derivados de dichas fuentes naturales. Los hongos que degradan estos materiales pueden utilizar la celulosa o la lignina como fuente de carbono y energía. La lignina es un polímero complejo cuyos componentes individuales son compuestos fenólicos. La lignina es un constituyente importante de las plantas leñosas, a las que confiere rigidez en asociación con la celulosa. La lignina es descompuesta en la naturaleza casi exclusivamente mediante la actividad de ciertos basidiomicetos, denominados *hongos de la podredumbre de la madera*. Se conocen dos tipos de podredumbre en la madera: la *podredumbre marrón*, en la que la celulosa es el componente descompuesto con preferencia, mientras que la lignina no es metabolizada y la *podredumbre blanca*, en la que se descompone tanto la celulosa como la lignina. Los hongos de la podredumbre blanca tienen una enorme importancia ecológica, porque cumplen una función esencial en la descomposición del material leñoso de los bosques.

Muchos hongos pueden crecer en condiciones extremas de pH bajo o alta temperatura (hasta 62 °C; Tabla 6.1), lo que combinado con la facilidad de dispersión de las esporas fúngicas, hace que estos organismos sean contaminantes habituales de alimentos, medios de cultivo microbiológico y todo tipo de superficies.

Morfología y esporas fúngicas

La mayoría de los hongos son multicelulares y forman un entramado de filamentos denominados *hifas*. Las hifas están formadas por paredes celulares tubulares que rodean la membrana citoplasmática. Las hifas fúngicas a menudo están septadas, con paredes que dividen cada hifa en células separadas. Sin embargo en algunos casos la célula vegetativa de una hifa fúngica contiene más de un núcleo (es cenocítica); a menudo pueden encontrarse cientos de núcleos, como consecuencia de repetidas divisiones sin formación de septos. Cada filamento de una hifa crece fundamentalmente por su extremo, por extensión de la célula terminal (**Figura 18.26**).

Las hifas habitualmente crecen juntas sobre una superficie y forman ovillos compactos, denominados colectivamente *micelio* o moho, que son visibles fácilmente sin necesidad de microscopio (**Figura 18.27**). El micelio se forma porque cada hifa individual se va ramificando conforme crece, tanto sobre el material orgánico del que el hongo se está alimentando como dentro de éste y estas ramas se entrelazan, formando un tapiz compacto. A partir del tapiz micelial, algunas hifas pueden formar ramas que se extienden hacia arriba más allá de la superficie y es sobre estas hifas aéreas donde se forman las esporas denominadas **conidios** (Figura 18.26). Los conidios son esporas asexuales (su formación no implica ni fusión de gametos ni meiosis), que a menudo están pigmentadas (Figura 18.27; Figura 11.4) y son resistentes a la desecación. Los conidios sirven para dispersar al hongo hacia nuevos hábitats. Cuando

www.insal

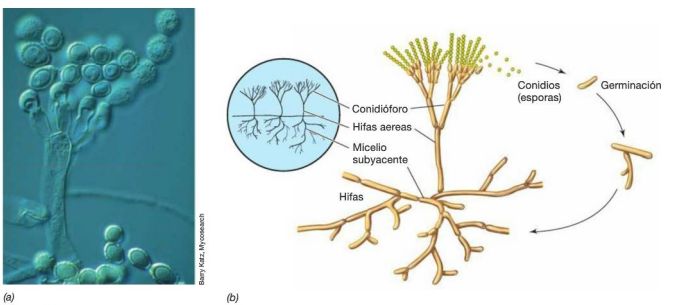


Figure 18.26 **Estructura fúngica y crecimiento.** *(a)* Fotografía al microscopio óptico de un hongo típico. Las estructuras esféricas en los extremos de las hifas aéreas son esporas. *(b)* Diagrama del ciclo de vida de un moho. Los conidios pueden ser dispersados por el viento o por animales y tienen unos 2 μm de ancho.

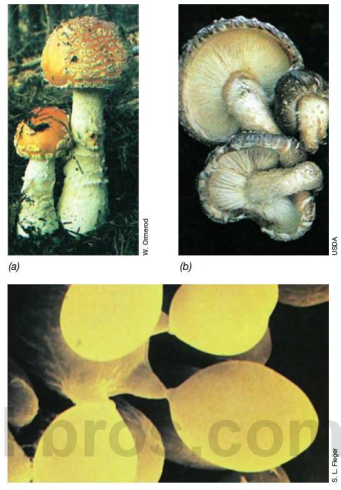


Figure 18.27 **Hongos.** *(a)* Colonias de la especie *Aspergillus*, un ascomiceto, crecidas en una placa de agar. Obsérvese la apariencia de la masa de células filamentosas (el micelio) y las esporas asexuales que le dan a la colonia ese aspecto polvoriento y mate. *(b)* Conidióforo y conidios de *Aspergillus fumigatus*. El conidióforo tiene unos 300 μm de largo y los conidios unos 3 μm de ancho.

se forman los conidios, el color blanco del micelio cambia y toma el color de los conidios, que puede ser negro, verde azulado, rojo, amarillo o marrón. La presencia de esporas confiere al micelio un aspecto polvoriento (Figura 18.27*a*). Algunos hongos forman estructuras reproductivas macroscópicas denominadas *cuerpos fructificantes* (por ejemplo las **setas**), en las que se producen esporas y desde las cuales pueden dispersarse (**Figura 18.28**). Los cuerpos fructificantes pueden liberar millones de esporas que se dispersan por el viento, el agua o animales, para alcanzar nuevos hábitats donde germinar. Algunos hongos crecen como organismos unicelulares; estos se denominan **levaduras**.

Paredes celulares fúngicas

Las paredes celulares de los hongos se parecen a las paredes celulares de las plantas en su estructura básica, pero no en su composición química. Aunque en la pared celular de ciertos hongos puede encontrarse celulosa, el polisacárido de pared propio de plantas, la mayoría de las paredes celulares de hongos contienen **quitina**, un polímero de *N*-acetilglucosamina, que es un derivado de la glucosa (Figura 3.3). La quitina se distribuye en las pare-

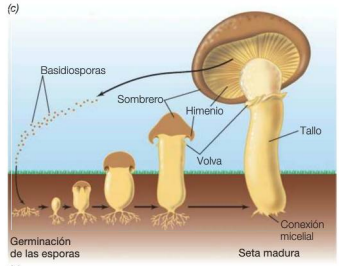


Figure 18.28 **Setas**. *(a)* El basidiomiceto *Amanita*, una seta muy venenosa. *(b)* Laminillas en la cara inferior del cuerpo fructificante de la seta que contienen los basidios portadores de esporas. *(c)* Fotografía al microscopio electrónico de barrido de basidioesporas liberadas de los basidios de la seta *(d)* Ciclo de vida de una seta típica. Las setas se desarrollan típicamente dentro del suelo, emergiendo a la superficie rápidamente (normalmente en una noche), como respuesta a un incremento de la humedad.

des celulares como haces microfibrilares, como sucede con la celulosa en las paredes celulares de plantas. En algunas paredes celulares de hongos la quitina puede estar sustituida por otros polisacáridos, como por ejemplo mananos, galactosanos o quitosanos. Las paredes celulares fúngicas están habitualmente compuestas de un 80-90% de polisacáridos, además de una matriz compuesta de proteínas, lípidos, polifosfatos e iones inorgánicos, que cementan la pared. El conocimiento de la composición química de la pared celular de los hongos es importante, debido a las numerosas aplicaciones biotecnológicas de estos organismos. Además, la composición química de la pared celular de los hongos se ha empleado para clasificar a los hongos para su investigación y por motivos industriales.

Simbiosis fúngicas

La mayoría de las plantas dependen de los hongos para que les faciliten la adquisición de los minerales del suelo. Los hongos forman asociaciones simbióticas con las raíces de las plantas, que se denominan *micorrizas* (palabra que significa literalmente «raíces hongo»). Los hongos micorrizas establecen un contacto íntimo con las raíces y ayudan a la planta a obtener del suelo fosfato y otros minerales y también agua. A cambio, los hongos obtienen nutrientes de la raíz, como por ejemplo azúcares.

Existen distintos tipos de asociaciones tipo micorrizas. Uno de ellos son las *ectomicorrizas*, que se forman típicamente entre hongos basidiomicetos y las raíces de plantas leñosas. En las ectomicorrizas, las hifas del hongo forman una vaina alrededor de la raíz de la planta, pero no penetran profundamente en la raíz. Otro tipo de asociación son las *endomicorrizas*, que se forman entre los hongos glomeromicetos y muchas plantas herbáceas (no leñosas). En las endomicorrizas, la hifa del hongo penetra profundamente en el tejido radicular de la planta formando vesículas hinchadas o invaginaciones ramificadas denominadas arbúsculos.

Los hongos también forman asociaciones simbióticas con cianobacterias y con algas verdes. Estas asociaciones se denominan *líquenes* y parecen costras coloreadas crecidas sobre las superficies de árboles y rocas (Figura 24.35). En la Sección 24.13 se presentan datos adicionales sobre la simbiosis en micorrizas y líquenes.

Patogénesis

Los hongos pueden invadir y causar enfermedades en plantas y animales. Los hongos patógenos de plantas causan daños considerables a plantas y cosechas en todo el mundo. Por ejemplo, el ascomiceto *Ophiostoma ulmi* ha devastado los olmos en los Estados Unidos. Las cosechas de frutas y cereales sufren pérdidas anuales significativas como consecuencia de las infecciones por hongos. Muchos hongos patógenos de plantas forman hifas especializadas, denominadas *haustorios*, que penetran la pared celular de la célula vegetal y dejan accesible el citoplasma de la célula para la nutrición del hongo. En humanos las enfermedades causadas por hongos se denominan *micosis* y varían desde molestias menores que se curan con facilidad, como el pie de atleta, hasta micosis sistémicas potencialmente mortales, como la histoplasmosis. La Sección 35.8 describe algunas enfermedades causadas por hongos en el ser humano.

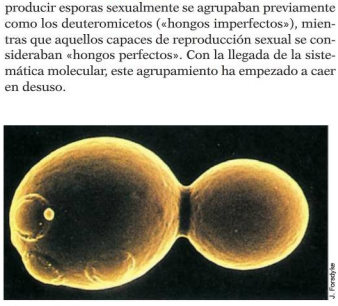
18.13 Minirrevisión

Los hongos incluyen a los mohos, las setas y las levaduras. Además de en su filogenia, los hongos se diferencian de los protistas principalmente por su pared celular rígida, la producción de esporas y su incapacidad para moverse.

- ¿Qué es la quitina y cuál es su función en los hongos?
- ¿Qué son los conidios? ¿En qué se diferencia un conidio de una hifa? ¿Y de un micelio?
- ¿En qué se diferencian las endomicorrizas de las ectomicorrizas?

18.14 Reproducción y filogenia de los hongos

La mayoría de los hongos se reproducen principalmente de modo asexual. Los hongos pueden reproducirse asexualmente de tres maneras distintas: mediante el crecimiento y diseminación de las hifas filamentosas, mediante la producción asexual de esporas (Figuras 18.26 y 18.27) o por simple división celular como en las levaduras gemantes (**Figura 18.29**). Los hongos incapaces de producir esporas sexualmente se agrupaban previamente como los deuteromicetos («hongos imperfectos»), mientras que aquellos capaces de reproducción sexual se consideraban «hongos perfectos». Con la llegada de la sistemática molecular, este agrupamiento ha empezado a caer en desuso.



J. Forsdyke

Figura 18.29 Fotografía al microscopio electrónico de la levadura panadera y cervecera común *Saccharomyces cerevisiae* (un ascomiceto). Obsérvense la división por gemación y las señales de gemaciones previas. Una célula sencilla tiene unos 6 μm de diámetro.

Esporas sexuales de los hongos

Algunos hongos producen esporas como resultado de la reproducción sexual. Las esporas se desarrollan por la fusión de gametos unicelulares o bien por la fusión de hifas especializadas denominadas *gametangios*. Alternativamente, las esporas sexuales pueden originarse por la fusión de dos células haploides para dar lugar a una célula diploide; esta célula diploide sufre meiosis y mitosis (Sección 8.6) para producir las esporas haploides individuales. Dependiendo del grupo, se pueden producir distintos tipos de esporas sexuales. Las esporas formadas dentro de un saco cerrado (asca) se denominan ascosporas. Muchas levaduras producen ascosporas y analizaremos esta situación en la Sección 18.18 cuando esbocemos el ciclo de vida de la levadura panadera común, *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 18.33). Las esporas sexuales producidas en los extremos de estructuras en forma de garrote (basidios) se denominan *basidiosporas* (Figura 18.28*c*). Las *zigosporas*, producidas por zigomicetos como el moho común del pan, *Rhizopus*, son estructuras visibles macroscópicamente que se forman mediante la fusión de hifas e intercambio genético. Finalmente, la zigospora madura y produce esporas asexuales que se dispersan por el aire y germinan para formar nuevo micelio fúngico.

Las esporas sexuales de los hongos son típicamente resistentes a la desecación, al calentamiento, la congelación y algunos productos químicos. Sin embargo, las esporas sexuales de los hongos no son tan resistentes al calor como las endosporas bacterianas (Sección 4.12). Tanto las esporas sexuales como las asexuales de un hongo pueden germinar y desarrollar nuevas hifas y micelios.

La filogenia de los hongos

Los hongos comparten un ancestro común más reciente con los animales que con cualquier otro grupo de organismos eucariotas (Figura 18.12); por tanto, filogenéticamente las células de hongos y animales son *grupos hermanos*. Se cree que los hongos y los animales se separaron hace aproximadamente 1.500 millones de años. Se considera que el linaje fúngico más antiguo lo constituyen los quitridiomicetos, un grupo inusual en el que las células producen esporas flageladas (zoosporas, Sección 18.15). Por tanto, la falta de flagelo en la mayoría de los hongos nos indica que la movilidad es una característica que se ha perdido en distintos momentos en los diferentes linajes fúngicos.

En el árbol evolutivo de la **Figura 18.30** podemos ver una imagen más detallada de la filogenia de los hongos que la que se ilustra en la Figura 18.12. La filogenia de la Figura 18.30, que se basa en la comparación de secuencias del SSU rRNA (que proporcionan una buena resolución para relaciones bastante cercanas entre eucariotas, pero no para relaciones más distantes, *véase* Sección 18.6), define varios grupos fúngicos diferenciados: los quitridiomicetos, zigomicetos, glomeromicetos, ascomicetos y basidiomicetos. La Figura 18.30 también apoya la idea de que los quitridiomicetos están más cercanos a la raíz del árbol filogenético respecto a los demás grupos de hongos y que los grupos de hongos más alejados de la raíz son los basidiomicetos y los ascomicetos.

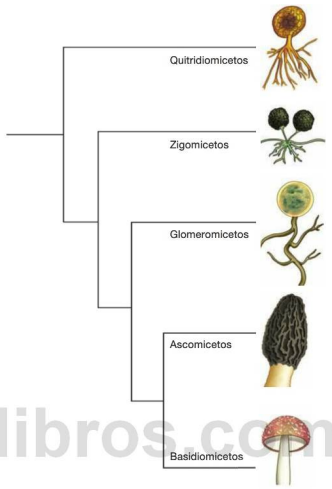


Figure 18.30 Filogenia de los hongos. Este árbol filogenético basado en la secuencia del gen que codifica el RNA ribosómico 18S, muestra las relaciones entre los grandes grupos (filums) de hongos.

milibros.com

18.14 Minirrevisión

Los hongos producen una variedad de esporas sexuales, incluyendo a las ascosporas, las basidiosporas y las zigosporas. Desde un punto de vista filogenético los hongos están más relacionados con las células animales y los quitridiomicetos se consideran el linaje de hongos más antiguo.

- Los ascomicetos pueden producir tanto ascosporas como conidios. Describa las diferencias básicas entre estos dos tipos de esporas.
- ¿Cuánto tiempo se cree que hace desde que se separaron los hongos y los animales?

18.15 Quitridiomicetos

Géneros clave: *Allomyces, Batrachochytrium*

Los quitridiomicetos o quitridios, son el primer linaje de hongos en divergir (Figura 18.30). Su nombre hace referencia a la estructura de sus cuerpos fructificantes («pequeño tiesto»), que contiene *zoosporas*. Su pared celular, como la de otros hongos, contiene quitina. Sin embargo, los quitridios se diferencian de muchos otros hongos en que producen esporas flageladas móviles, denominadas *zoosporas*, que podrían ser un vestigio de su adaptación a los ambientes acuáticos donde se encuentran habitualmente, en general agua dulce o suelos húmedos.

Se conocen muchas especies de quitridios, algunos de los cuales son unicelulares, mientras que otros forman colonias con hifas. Incluyen formas de vida libre que degradan material orgánico, como *Allomyces* y también parásitos de animales, plantas y protistas. *Batrachochytrium dendrobatidis* es un quitridio que causa la quitidriomicosis en ranas (**Figura 18.31**), una enfermedad en la que el hongo infecta la epidermis de la rana e interfiere con su capacidad de respirar a través de la piel. Los hongos quitridios se han relacionado con la muerte generalizada de anfibios por todo el mundo, posiblemente como consecuencia del incremento en la temperatura ambiental asociada al calentamiento global. Se cree que las temperaturas más cálidas han mejorado las condiciones ambientales para los quitridios y en consecuencia es más frecuente que estos entren en contacto con las ranas. Otros factores podrían estar contribuyendo a la mortalidad de ranas, lo que incluye una mayor susceptibilidad de estos anfibios a la infección por quitridios, debida a la pérdida de sus hábitats y a la contaminación del agua.

Algunos aspectos sin resolver de la filogenia de los quitridios sugieren que este grupo no es monofilético. Algunos de los organismos actualmente aceptados como quitridios podrían estar más relacionados con especies pertenecientes a otros grupos de hongos, como por ejemplo los zigomicetos. Como sucede con los protistas, hay muchos aspectos de la evolución de los hongos que todavía desconocemos.

18.15 Minirrevisión

Se cree que los quitridios son el primer linaje de hongos en divergir; algunas de sus especies son patógenos de anfibios.

- Nombre una característica de los quitridios que los asemeje a otros hongos.
- Nombre una característica de los quitridios que los diferencie de otros hongos.
- ¿Cómo causan los quitridios una enfermedad en ranas?

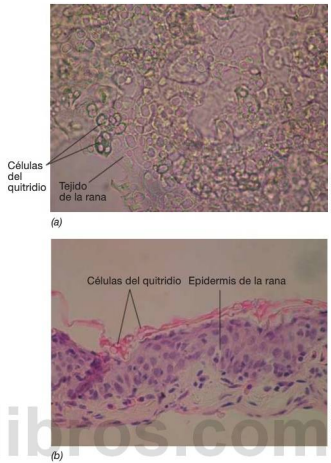


Figure 18.31 Fotografía al microscopio óptico de un quitridiomicetos. *(a)* Vista cenital de células del quitridio *Batrachochytrium dendrobatidis* creciendo en la superficie de la piel de una rana. Las células varían entre 20 y 75 µm de diámetro. *(b)* En esta sección lateral teñida se puede ver como las células del quitridio cubren la epidermis de la rana.

18.16 Zigomicetos

Géneros clave: *Rhizopus, Encephalitozoon*

Los zigomicetos u hongos cigóticos, son conocidos principalmente por su papel en la putrefacción de alimentos. Se encuentran habitualmente en el suelo y sobre material vegetal en descomposición. Todos ellos son cenocíticos (multinucleados) y su característica común es la formación de zigosporas (Sección 18.14).

El moho negro del pan, *Rhizopus stolonifer*, es un buen representante de los zigomicetos. Este organismo desarrolla un ciclo de vida complejo que incluye reproducción tanto sexual como asexual. Durante la fase asexual el micelio forma esporangios, dentro de los cuales se producen esporas haploides. Cuando se liberan, estas esporas genéticamente idénticas se dispersan y acaban germinando, dando lugar a un micelio que crece vegetativamente. Durante la fase sexual, existen micelios de diferente tipo sexual, con distintos marcadores químicos. Cuando hifas

www.elibros.com

de tipos sexuales diferentes se encuentran a corta distancia entre sí, forman extensiones (gametangios, Sección 18.14) que contienen varios núcleos. La fusión de dos gametangios mezcla los núcleos haploides e inicia la formación de un zigoesporangio heterocariótico (con más de un tipo de núcleo), que puede mantenerse latente y resistir la sequedad y otras condiciones desfavorables. Cuando las condiciones son favorables, los diferentes núcleos haploides se fusionan para formar núcleos diploides, que sufren meiosis produciendo esporas haploides conforme el zigoesporangio germina en un esporangio. Como en la fase asexual, la liberación de las esporas, que en este caso no son genéticamente idénticas, desde el esporangio permite la dispersión del organismo para su crecimiento vegetativo en forma de hifas.

Microsporidios

Los microsporidios, que están filogenéticamente muy relacionados con los zigomicetos o incluso podrían considerarse parte de este grupo, son minúsculos (2-5 µm) organismos unicelulares, parásitos obligados de animales y protistas. Por ejemplo, los microsporidios son uno de los patógenos oportunistas que infectan a individuos inmunocomprometidos, como personas enfermas de SIDA. Basándose en la secuencia de su SSU rRNA y en su falta de mitocondrias, se llegó a considerar que los microsporidios formaban un antiguo linaje independiente dentro de los eucariotas (Sección 18.6). Sin embargo, datos recientes muestran la presencia en estos organismos de genes típicos de bacterias y de vestigios mitocondriales tipo mitosoma, lo que los sitúa como parientes cercanos de los zigomicetos.

Los microsporidios se han adaptado a un estilo de vida parasítico mediante la eliminación o pérdida de varios rasgos clave de la biología eucariota; están incluso más simplificados estructuralmente que otros eucariotas carentes de mitocondrias. Por ejemplo, el microsporidio *Encephalitozoon* carece de todo orgánulo, incluyendo el aparato de Golgi y los hidrogenosomas (no se sabe si tiene mitosomas) y tiene un genoma muy pequeño. El genoma de *Encephalitozoon* sólo tiene 2,9 Mpb y unos 2.000 genes. ¡Esto significa que tiene 1,5 Mpb y 2.600 genes menos que el de la bacteria *Escherichia coli*! El genoma de *Encephalitozoon* no tiene genes para rutas metabólicas básicas, como la del ciclo del ácido cítrico, lo que implica que este patógeno debe depender en gran medida de su hospedador, incluso para los procesos metabólicos más básicos.

18.16 Minirrevisión

Los zigomicetos forman hifas cenocíticas y son capaces de reproducción sexual y asexual. Los análisis filogenéticos moleculares sitúan a los microsporidios, que se consideraban un antiguo linaje dentro de los eucariotas, como parientes cercanos de los zigomicetos o incluso parte de este grupo.

- ¿Qué característica de los zigomicetos le da su nombre al grupo?
- ¿Cómo se han adaptado los microsporidios a un estilo de vida parasítico?

18.17 Glomeromicetos

Los glomeromicetos son un grupo relativamente pequeño de hongos, que sin embargo tienen una gran importancia ecológica. A diferencia de los quitridios y los zigomicetos, de los que se han descrito entre varios cientos y un millar de especies y de los ascomicetos y los basidiomicetos, cada grupo con más de 30.000 especies, sólo se conocen actualmente unas 160 especies de glomeromicetos. Todas las especies conocidas de glomeromicetos forman endomicorrizas, también llamadas micorrizas arbusculares (Secciones 18.13 y 24.13), normalmente con las raíces de plantas herbáceas, pero en algunos casos también con plantas leñosas. Hasta el 70% o más de las angiospermas forman asociaciones tipo endomicorriza, en las cuales las hifas fúngicas penetran las paredes celulares de la planta y producen vesículas hinchadas o arbúsculos. El incremento en la superficie de contacto entre las hifas y el citoplasma de la célula vegetal que se consigue mediante la estructura arbuscular ayuda a la planta a obtener los minerales del suelo.

Como simbiontes de plantas, se cree que los glomeromicetos cumplieron un importante papel en la capacidad de las plantas vasculares primitivas para colonizar nuevas tierras. Hasta el momento, ninguno de ellos ha podido cultivarse independientemente de la planta. Sólo se reproducen asexualmente y son en su mayoría cenocíticos.

18.17 Minirrevisión

Los glomeromicetos son hongos que forman asociaciones con las plantas denominadas micorrizas arbusculares.

- ¿Cómo ayudan las micorrizas arbusculares a la adquisición de nutrientes para las plantas?

18.18 Ascomicetos

Géneros clave: *Saccharomyces, Candida, Neurospora*

Los ascomicetos son un grupo grande y variado de hongos. Los ascomicetos varían desde especies unicelulares, como la levadura *Saccharomyces* que se utiliza en panadería y en la industria cervecera, hasta especies de crecimiento filamentoso, como el moho del pan *Neurospora crassa*.

El grupo de los ascomicetos, cuyos representantes se encuentran en ambientes acuáticos y terrestres, reciben su nombre de la producción de ascas, células en las que dos núcleos haploides de diferente tipo sexual se fusionan, formando un núcleo diploide que sufre meiosis para formar ascosporas haploides. En algunos ascomicetos las ascas se forman dentro de un cuerpo fructificante, denominado ascocarpo. Los ascomicetos se reproducen asexualmente mediante la producción de conidios que se forman por mitosis en la punta de hifas especializadas denominadas *conidióforos*. El papel ecológico de los ascomicetos es principalmente la descomposición de material vegetal muerto, aunque muchas especies de ascomicetos forman ectomicorrizas con árboles del bosque y un gran número forman parejas simbióticas con cianobacterias o algas verdes en los líquenes. Aquí nos centraremos en las levaduras y especialmente en *Saccharomyces* como ascomiceto representativo.

Saccharomyces cerevisiae

Las células de *Saccharomyces* y de otros ascomicetos unicelulares son normalmente esféricas, ovales o cilíndricas y su división celular normalmente se produce por gemación. En el proceso de gemación, la nueva célula se forma como una pequeña excrecencia de la célula progenitora; esta yema va engrosándose gradualmente y se acaba separando de la célula progenitora (**Figuras** 18.29 y **18.32**). Aunque la mayoría de las levaduras aparentemente sólo se reproducen como células individuales, algunas de ellas, incluso *Saccharomyces cerevisiae*, pueden formar filamentos en respuesta a ciertas condiciones ambientales. En estas especies, ciertas características celulares específicas sólo pueden expresarse en la forma filamentosa. Por ejemplo, la fase filamentosa es esencial para la patogenicidad en *Candida albicans*, una levadura normalmente unicelular que causa infecciones vaginales, orales, pulmonares o sistémicas en enfermos de SIDA y otros enfermos inmunocomprometidos (Sección 34.15).

Las células de levadura son normalmente mucho más grandes que las células bacterianas y pueden distinguirse microscópicamente de los procariotas gracias a su mayor tamaño y a la presencia obvia de estructuras intracelulares como el núcleo o vacuolas citoplasmáticas (Figura 18.32). Las levaduras prosperan en hábitats donde hay azúcares disponibles, como en frutas, flores o la corteza de los árboles. La mayoría de las levaduras son anaerobios facultativos, capaces tanto de un metabolismo totalmente aeróbico como de un metabolismo fermentativo. Una serie de especies de levaduras viven en simbiosis con animales, especialmente insectos y unas cuantas especies son patógenas de animales y de humanos (Sección 35.8). Las levaduras de mayor relevancia comercial son las levaduras panaderas y cerveceras, que son miembros del género *Saccharomyces*. Los hábitats originales de estas levaduras eran sin duda las frutas y los jugos de fruta. Sin embargo, las levaduras comerciales de hoy en día son probablemente bastante diferentes de las cepas silvestres, porque han sido muy mejoradas a lo largo de los años mediante una cuidadosa selección y manipulación genética por parte de los microbiólogos industriales. La levadura *S. cerevisiae* ha sido estudiada como modelo de eucariota durante muchos años (Sección 18.1) y fue el primer eucariota en tener su genoma completamente secuenciado (Sección 13.5). **www.microbiologyplace.com Tutorial online 18.1: Ciclo de vida y tipos sexuales en una levadura típica.**

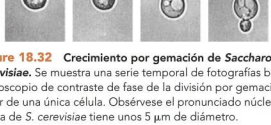


Figure 18.32 Crecimiento por gemación de *Saccharomyces cerevisiae*. Se muestra una serie temporal de fotografías bajo el microscopio de contraste de fase de la división por gemación, a partir de una única célula. Obsérvese el pronunciado núcleo. Una célula de *S. cerevisiae* tiene unos 5 μm de diámetro.

Reproducción sexual en levaduras

Algunas levaduras presentan reproducción sexual mediante un proceso en el cual se fusionan dos células de levadura. Dentro de la célula producto de dicha fusión, denominada zigoto, acaban formándose ascosporas. Describiremos el ciclo sexual de la levadura modelo *S. cerevisiae*, incluyendo la importante propiedad de los *tipos de apareamiento* (**Figura 18.33**).

Las células de *S. cerevisiae* pueden existir en forma haploide (vegetativa, con 16 cromosomas), pero en la naturaleza dos células haploides de levadura pueden fusionarse para dar lugar a una célula diploide (con 32 cromosomas). *Saccharomyces* crece vegetativamente como un diploide. *S. cerevisiae* presenta dos formas diferentes de células haploides denominadas tipos de apareamiento; estas formas pueden considerarse análogas a los gametos masculino y femenino. El emparejamiento de tipos de apareamiento opuestos forma una célula diploide. A partir de una sola célula diploide creciendo en condiciones de baja disponibilidad de nutrientes, se forma un asca que contiene cuatro ascosporas, dos de cada tipo de apareamiento (Figura 18.31).

Los dos tipos de apareamiento de *S. cerevisiae* se denominan *a* y α Las células del tipo *a* sólo aparean con células del tipo α, estando el tipo sexual determinado genéticamente. Algunas cepas haploides de *S. cerevisiae* se mantienen como *a* o α, pero otras cepas son capaces de cambiar de un tipo de apareamiento a otro. Este cambio de tipo de apareamiento se produce cuando el gen activo determinante de tipo de apareamiento es sustituido por uno de los dos genes normalmente inactivos (**Figura 18.34**).

Existe un único sitio en uno de los cromosomas de *S. cerevisiae* denominado locus MAT (del inglés *mating type* o tipo de apareamiento), en el cual puede insertarse alter-

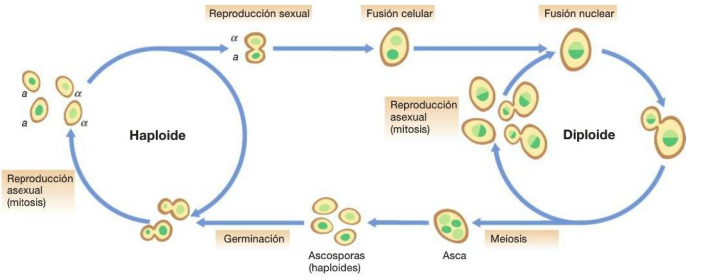


Figure 18.33 **Ciclo celular del ascomiceto típico *Saccharomyces cerevisiae*.**

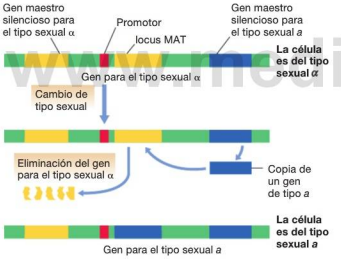


Figure 18.34 **El mecanismo de casete permite la conversión del tipo sexual de una levadura ascomiceto de *α* a *a*.** El casete insertado en el locus activo (cabeza lectora) determina el *tipo sexual*. El proceso es reversible de modo que una levadura a también puede convertirse a α.

nativamente bien el gen *a* o bien el gen α. En este locus, el promotor MAT controla la transcripción del gen allí insertado. Si el gen *a* está ocupando el locus, entonces la célula presenta el tipo sexual *a*, mientras que si el locus está ocupado por el gen α, la célula presenta el tipo sexual α. En otro sitio del genoma de la levadura hay copias sin expresar de los genes *a* y α. De aquí proceden los genes que acaban insertados en el locus MAT. Para que se produzca el cambio de tipo sexual (Figura 18.34) el gen correspondiente, *a* o α, se copia a partir del sitio silencioso y se inserta en el locus MAT, sustituyendo al gen que estuviera presente. El gen determinante de tipo de apareamiento a sustituir se escinde y se elimina y el nuevo gen se inserta en su lugar. Sólo se transcribe el gen insertado en el locus MAT, independientemente de cuál de los dos genes posibles sea.

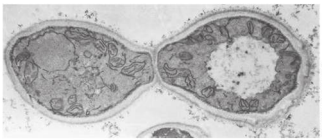
Los genes *a* y α de *S. cerevisiae* son genes reguladores. Entre otras cosas, regulan la produción de las hormonas peptídicas denominadas factor *a* y factor α que son secretadas por las células de levadura que van a fusionarse. Estas hormonas se unen a las células del tipo de apareamiento opuesto, e inducen cambios en su superficie celular que permiten que las células se fusionen (**Figura 18.35**). Una vez que el apareamiento se ha completado, los núcleos se fusionan y forman un zigoto diploide (Figura 18.35). El zigoto crece vegetativamente por gemación (Figura 18.35*b*). En condiciones de limitación de nutrientes, S. *cerevisiae* sufrirá meiosis y de nuevo producirá ascosporas.

18.18 Minirrevisión

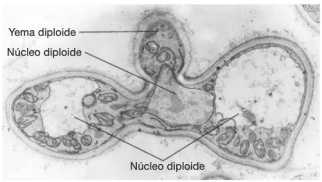
Los ascomicetos forman un grupo grande y diverso de hongos saprófitos. Algunos, como *Candida albicans*, pueden ser patógenos de humanos. Hay dos tipos sexuales en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y las células de levadura pueden alternar entre ambos tipos mediante un mecanismo de conversión génica.

- ¿Cuáles son las diferencias entre la reproducción por gemación y el crecimiento vegetativo de las hifas?
- Explique cómo, a partir de células haploides de *Saccharomyces*, puede acabar generándose una célula diploide.

www.medilibros.com



(a)



(b)

Figure 18.35 Fotografía al microscopio electrónico del proceso de apareamiento de la levadura ascomiceto *Hansenula wingei*. *(a)* Dos células se han fusionado en el punto de contacto y cada una ha emitido protuberancias en dirección a la otra. *(b)* Estadio tardío del apareamiento. El núcleo de las dos células se ha fusionado y se ha formado una yema diploide en ángulo recto a las células fusionadas. Esta yema se acaba separando y convirtiéndose en el progenitor de una línea celular diploide. Una célula de *Hansenula* tiene unos 10 μm de diámetro.

18.19 Basidiomicetos

Géneros clave: *Agaricus, Amanita*

Los basidiomicetos son un gran grupo de hongos, con más de 30.000 especies descritas. Muchas de ellas son conocidas comúnmente como setas, algunas de las cuales son comestibles como *Agaricus*, que se produce comercialmente y otras como *Amanita* son extremadamente venenosas (Figura 18.28*a*). En la Sección 25.15 hablaremos sobre la producción comercial de estos y otros hongos para alimentación. Además de estas formas tan familiares, el grupo también incluye levaduras y patógenos de animales y plantas. La característica que agrupa a los basidiomicetos es el basidio, una estructura normalmente unicelular, en la que se forman las basidiosporas mediante meiosis. El basidio («pequeño pedestal») da su nombre a este grupo.

El ciclo de vida de las setas

Durante la mayor parte de su existencia, un hongo tipo seta vive como un sencillo micelio haploide, que crece vegetativamente en el suelo, restos de hojas o troncos en descomposición. Es la fase sexual reproductiva de los basidiomicetos lo que produce la tan familar seta (Figura 18.28*a*, *b*). En este proceso micelios haploides de tipos sexuales distintos, denominados *más* y *menos*, se fusionan para formar un micelio dicariótico (con dos núcleos por célula) cuyo rápido crecimiento sobrepasa a los micelios haploides parentales. Cuando las condiciones resultan favorables, normalmente después de un período de tiempo con clima húmedo y frío, el micelio dicariótico se transforma en el basidiocarpo o cuerpo fructificante, empezando como una masa micelial que se diferencia en una pequeña estructura subterránea en forma de botón y que acaba expandiéndose hasta convertirse en el basidiocarpo aéreo maduro que podemos ver y denominamos seta (Figure 18.28*a*). Los basidios dicarióticos, localizados en la superficie inferior del basidiocarpo sobre placas planas denominadas himenios unidas al sombrero de la seta (Figura 18.28*b*, *d*), experimentan la fusión de ambos núcleos, formando basidios con núcleos diploides. Las dos rondas de división meiótica generan cuatro núcleos haploides en el basidio, cada uno de los cuales da lugar a una basidiospora (Figura 18.28*c*). Las basidiosporas, genéticamente distintas, se dispersan por el viento hacia nuevos hábitats para recomenzar el ciclo, germinando en condiciones favorables y creciendo como micelios haploides (Figura 18.28*d*).

wilibree.com

18.19 Minirrevisión

Los basidiomicetos incluyen a las típicas setas, algunas de las cuales son muy venenosas, mientras que otras son comestibles. Los miembros de este grupo de hongos son capaces de reproducción vegetativa como micelios haploides y también de reproducción sexual mediante la fusión de tipos sexuales distintos y la formación de basidiosporas haploides.

- ¿Cuál es el término técnico para la estructura aérea de los basidiomicetos denominada comúnmente seta?
- ¿En qué estructura se forman las basidiosporas?

V ALGAS UNICELULARES VERDES Y ROJAS

Finalizamos nuestra revisión de la diversidad microbiana eucariota con las **algas**. Los eucariotas fotótrofos se originaron por un evento primario de endosimbiosis, la adquisición y mantenimiento de una cianobacteria por parte de una célula eucariota heterótrofa (Figura 18.12). Como las cianobacterias llevan a cabo fotosíntesis oxigénica (que produce oxígeno), los eucariotas fotótrofos también llevan a cabo fotosíntesis oxigénica, utilizando el agua como donador fotosintético de electrones (Sección 20.5). Posteriormente, este protista fotótrofo primitivo evolucionó para dar lugar a los ancestros de

las algas verdes y las algas rojas y la misma línea evolutiva que dio lugar a las algas verdes también dio lugar posteriormente a los ancestros de las plantas (Figura 18.12).

Como se vio en la Sección 18.4, varios eventos secundarios de endosimbiosis, en los cuales células de algas verdes y algas rojas fueron englobadas por otros protistas eucariotas que acabaron manteniendo sus cloroplastos, llevaron a una mayor diversificación de los eucariotas fotótrofos. Aquí nos centraremos en las algas verdes y las algas rojas, un grupo grande y variado de organismos eucariotas que contienen clorofila y llevan a cabo fotosíntesis oxigénica.

18.20 Algas rojas unicelulares

Género clave: *Cyanidioschyzon*

Las algas rojas, también llamadas *rodofitas*, se encuentran principalmente en hábitats marinos, aunque unas pocas especies viven en hábitats terrestres o de agua dulce. Son fotótrofas y contienen clorofila *a*; son notables entre las algas porque sus cloroplastos carecen de clorofila *b* y contienen ficobiliproteínas, los principales pigmentos captadores de luz de las cianobacterias (Sección 20.3). El color rojizo (**Figura 18.36**) de muchas algas rojas se debe a la ficoeritrina, un pigmento accesorio que enmascara el color verde de la clorofila. A gran profundidad en los ambientes acuáticos donde penetra poca luz, las células producen más ficoeritrina y son de un rojo más oscuro, mientras que aquellas especies que viven en aguas someras frecuentemente tienen menos ficoeritrina y pueden llegar a ser verdes.

La mayoría de las especies de algas rojas son multicelulares y carecen de flagelos. Algunas están incluidas en las algas marinas y sirven de fuente de agar, el polisacárido que actúa como agente solidificante en el medio de crecimiento para bacteriología. Las distintas especies de algas rojas pueden ser filamentosas, con forma de hoja o incluso coralinas (parecidas al coral) si depositan carbonato cálcico y frecuentemente presentan una alternancia de formas multicelulares diploides y haploides.

Cyanidium y organismos relacionados

También se conocen especies unicelulares de algas rojas. Un grupo de ellas, miembros de las cianidiales, que incluyen los géneros *Cyanidium*, *Cyanidioschyzon* y *Galdieria* (**Figura 18.37**), viven en manantiales termales ácidos a temperaturas que rondan entre los 35 °C y los 56 °C y valores de pH que varían entre 0,5 y 4,0; en estas condiciones extremas no puede vivir ningún otro microorganismo fotótrofo. Las algas rojas unicelulares son inusuales por varios otros motivos. Por ejemplo, las células de *Cyanidioschyzon merolae* son inusualmente pequeñas (1-2 μm de diámetro) para ser eucariotas y además el genoma de esta especie, de aproximadamente 16,5 Mpb, es uno de los más pequeños conocidos entre los eucariotas fotótrofos.

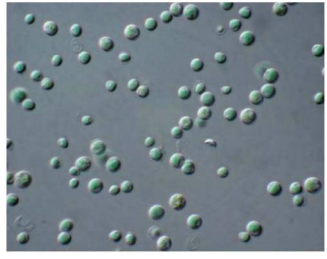
18.20 Minirrevisión

Las algas rojas son principalmente marinas y pueden ser unicelulares o multicelulares. Su color rojizo se debe a la síntesis del pigmento ficoeritrina.

- ¿Qué rasgos tienen en común las cianobacterias y las algas rojas?
- ¿En qué se diferencia el sistema fotosintético de las algas rojas del de las plantas?

Carolina Biological Supply Co.

Figura 18.36 *Polysiphonia*, un alga roja marina. Fotografía al microscopio óptico. *Polysiphonia* crece unida a la superficie de plantas marinas. Las células son de unos 150 μm de ancho.



Richard W. Castenholz

Figura 18.37 *Galdieria*, un alga roja. Estos pequeños protistas unicelulares y fototrópicos viven a pH bajo y elevadas temperaturas en manantiales termales. Las células tienen unos 25 μm de diámetro y son de color verde porque, como otras especies que viven en bajíos, *Galderia* tiene menos ficoeritrina, un pigmento accesorio rojizo que enmascara el verde de la clorofila en especies que viven a mayor profundidad.

18.21 Algas verdes unicelulares

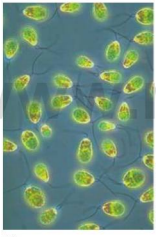
Géneros clave: *Chlamydomonas, Volvox*

Las algas verdes, también llamadas clorofitas, tienen cloroplastos con clorofila *a* y *b*, lo que les confiere su color verde característico, pero carecen de ficobilinas. Su composición de pigmentos fotosintéticos es similar a la de plantas, con las que se encuentran muy relacionadas filogenéticamente. Existen dos grupos principales de algas verdes: las clorofitas, entre las que se cuentan las algas unicelulares *Chlamydomonas* (Figura 6.21) y *Dunaliella* (**Figura 18.38a**) y las carofíceas, el grupo más relacionado con las plantas terrestres.

La mayoría de las algas unicelulares viven en agua dulce, aunque también las hay marinas, mientras que otras pueden vivir en suelos húmedos o en la nieve, a la que confieren un color rosado o como simbiontes en los líquenes. La clorofitas presentan variadas morfologías y pueden ser unicelulares (Figura 18.38*a*, *c*); filamentosas, con células individuales dispuestas una tras otra (Figura 18.36*d*); coloniales, en forma de agregados celulares (Figura 18.36*e*) y multicelulares, como en el alga marina Ulva. La mayoría tiene un ciclo de vida complejo, con estadios reproductivos sexuales y asexuales.

Uno de los eucariotas más pequeños conocidos es el alga verde *Ostreococcus tauri*, un miembro unicelular habitual del fitoplancton marino (Sección 23.9 y Figura

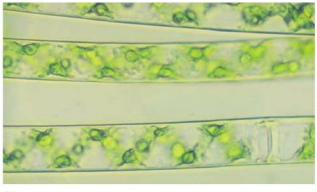
www.medilibros.com



(a)

(b)

(c)



(d)

(e)

Figure 18.38 Fotografía al microscopio óptico de algas verdes típicas. *(a)* El alga verde unicelular y flagelada *Dunaliella*. Una célula tiene aproximadamente 5 μm de ancho. *(b) Micrasterias*. Una célula tiene unos 100 μm de ancho. *(c) Scenedesmus*, muestra paquetes de cuatro células. *(d) Spirogyra*, un alga filamentosa de células de unos 20 μm de ancho. Obsérvense los cloroplastos verdes en espiral. *(e)* Una colonia de *Volvox carteri* con ocho colonias hija. Cada colonia hija tiene unos 50 μm de ancho. La colonia está formada por varios cientos de células somáticas flageladas (los puntos pequeños que se observan en la superficie de la colonia y en las de las colonias hija). Las colonias hija contienen células reproductivas llamadas gonidios (los puntos verde oscuro que se aprecian en las colonias hija).

23.16*b*), con un diámetro celular de aproximadamente 2 μm. *O. tauri* también es notable por poseer el genoma más pequeño de cualquier eucariota fotótrofo conocido, con aproximadamente 12,6 Mpb. Por tanto *Ostreococcus* sirve como organismo modelo para la investigación sobre la evolución por reducción genómica y la especialización en eucariotas. *Volvox* (Figura 18.38*d*) es un alga verde con organización **colonial**. Esta alga forma colonias compuestas por varios cientos de células flageladas, implicadas en movilidad y en fotosíntesis y otras células especializadas en la reproducción. *Volvox* es un organismo modelo para la investigación de los mecanismos genéticos que controlan la multicelularidad y el reparto de funciones entre las células de organismos multicelulares.

Fotótrofos endolíticos

Algunas algas verdes crecen dentro de las rocas. Estos fotótrofos endolíticos (*endo* significa «dentro de») viven en rocas porosas, por ejemplo en aquellas que contienen cuarzo y normalmente se encuentran en las capas más superficiales de las rocas. Las comunidades de fotótrofos endolíticos son más frecuentes en ambientes secos como los desiertos o en ambientes fríos y secos como la Antártida. Por ejemplo, en los valles secos antárticos, donde la temperatura y la humedad son muy bajas, vivir dentro de las rocas presenta sus ventajas. Las rocas se calientan por el sol y el agua de la nieve fundida puede ser absorbida y retenida dentro de la roca por períodos de tiempo más o menos largos, proporcionando la humedad necesaria para crecer. Lo que es más, el agua absorbida por las rocas porosas hace a la roca más transparente, proporcionando más luz a las capas de algas.

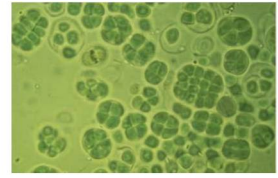
Una gran variedad de fotótrofos pueden formar comunidades endolíticas, incluyendo a las cianobacterias (**Figura 18.39**) y a varias algas verdes. Además de ser fotótrofos de vida libre, las algas verdes y las cianobacterias coexisten con los hongos en comunidades endolíticas de líquenes (Sección 24.13 para información sobre la simbiosis tipo liquen). El metabolismo y el crecimiento de estas comunidades en el interior de las rocas va erosionando lentamente a la roca, favoreciendo la formación de grietas donde puede entrar el agua, que mediante varios ciclos de congelación y descongelación acaba partiendo la roca, creando nuevos hábitats para la colonización microbiana.

18.21 Minirrevisión

Las algas verdes son habituales en ambientes acuáticos, pero también pueden encontrarse creciendo en suelos húmedos e incluso en la nieve. Existen especies unicelulares, filamentosas, coloniales y multicelulares. *Ostreococcus* es un alga verde unicelular con el genoma más pequeño conocido entre los eucariotas fotótrofos. El alga verde *Volvox* es un fotótrofo multicelular modelo.

- ¿Qué capacidades fototróficas relacionan a las algas verdes con las plantas?
- ¿En qué tipo de hábitats sería más probable encontrar algas verdes endolíticas?

(*a*)



(*b*)

Figure 18.39 **Fotótrofos endolíticos.** *(a)* Fotografía de una roca caliza Makhtesh Gadol, en el desierto del Negev en Israel, que muestra una capa de células de la cianobacteria *Chroococcidiopsis*. Las células miden unos 10 μm de ancho. *(b)* Fotografía al microscopio electrónico de células de *Chroococcidiopsis* aisladas de una roca arenisca del desierto del Negev.

Glosario de términos

Algas: eucariotas fotótrofos, tanto microorganismos como macroorgansimos.

Basal: organismo o grupo de organismos de evolución temprana que dan lugar a otros grupos.

Cenocítico: la presencia de núcleos múltiples en hifas fúngicas sin septos.

Ciclo de Calvin: una serie de reacciones biosintéticas mediante las cuales la mayoría de los organismos fotosintéticos convierten el CO_2 en compuestos orgánicos.

Ciliados: protistas caracterizados en parte por una rápida movilidad, impulsada por numerosos apéndices cortos denominados cilios

Citoesqueleto: entramado celular típico de células eucariotas, en el que microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios determinan la forma de la célula.

Cloroplasto: el orgánulo fotosintético de los fotótrofos eucariotas.

Colonial: forma de crecimiento de ciertas protistas y algas verdes según el cual varias células viven juntas y cooperan para su alimentación, desplazamiento o reproducción; una forma primitiva de multicelularidad.

Conidios: esporas sexuales de hongos.

Crestas: las membranas internas de la mitocondria.

Derivado: oganismo o grupo de organismo que evolucionan tardíamente, a partir de un grupo más basal.

Endosimbiosis: el englobamiento de un tipo celular por otro y la subsecuente asociación estable de las dos células.

Endosimbiosis primaria: adquisición de la alfaproteobacteria antecesora de la mitocondria o de la cianobacteria antecesora del cloroplasto, por otro tipo de célula.

Endosimbiosis secundaria: adquisición de una célula de alga verde o roja por parte de una célula eucariota ya portadora de mitocondrias.

Estroma: membrana interna que rodea el lumen del cloroplasto.

Eucariota: miembro del *Eukarya.*

Eukarya: organismos eucariotas.

Fagocitosis: mecanismo para ingerir alimento sólido en el cual una porción de la membrana citoplasmática rodea la partícula de alimento y la introduce en el interior de la célula.

Filamentos intermedios: polímero filamentoso de proteínas de la proteína fibrosa queratina, superenrollado en gruesas fibras, que sirve para mantener la forma celular y la posición de ciertos orgánulos en la célula eucariota.

Hidrogenosoma: orgánulo de origen endosimbiótico presente en ciertos microorganismos eucariotas anaerobios que funciona oxidando piruvato hasta H_2, CO_2 y acetato, de forma simultánea a la producción de una molécula de ATP.

Histonas: proteínas cargadas positivamente que empaquetan el DNA eucariota en nucleosomas.

Hongo mucoso: protista no fotótrofo que carece de pared celular y se agrega para formar estructuras fructíferas (hongos mucosos celulares) o masas de protoplasma (hongos mucosos acelulares).

Hongos: microorganismos eucariotas no fotótrofos con paredes celulares rígidas.

Levadura: forma unicelular de varios hongos.

Lisosoma: orgánulo que contiene enzimas digestivas para la hidrólisis de proteínas, grasas y polisacáridos.

Matriz extracelular: (*Extracellular matrix* o ECM) proteínas y polisacáridos que rodean una célula animal y en los que dicha célula está alojada.

Microfilamentos: polímeros filamentosos de la proteína actina, que ayudan a mantener la forma de una célula eucariota.

Microtúbulos: polímeros filamentosos de las proteínas α-tubulina y β-tubulina que participan en el mantenimiento de la forma de la célula y en su movilidad.

Mitocondria: el orgánulo respiratorio de los organismos eucariotas.

Movimiento ameboide: un tipo de movilidad en el que corrientes citoplasmáticas dirigidas por medio de pseudópodos desplazan al organismo hacia delante.

Núcleo: el orgánulo que contiene los cromosomas de la célula eucariota.

Peroxisomas: orgánulos que sirven para eliminar de la célula substancias tóxicas como por ejemplo peróxidos, alcoholes y ácidos grasos.

Protistas: microorganismos eucariotas unicelulares; pueden ser flagelados o carecer de flagelos, fotótrofos o no fotótrofos y la mayoría de ellos carecen de pared celular; también denominados protozoos.

Quitina: un polímero de N-acetilglucosamina que se encuentra habitualmente en la pared celular de los hongos.

Seta: el cuerpo fructificante aéreo o basidiocarpo, de los hongos basidiomicetos.

Tilacoide: capa de membranas que contienen los pigmentos fotosintéticos en los cloroplastos.

Preguntas de repaso

1. Nombre al menos tres características de las células eucariotas que las diferencien claramente de las células procariotas (Sección 18.1).

2. ¿En qué se parecen estructuralmente la mitocondria y el hidrogenosoma? ¿En qué se diferencian estructuralmente? ¿En qué se diferencian metabólicamente (Sección 18.2)?

www.mcgraw-hill.com.mx

3. ¿Qué procesos fundamentales que estén relacionados con la energía y el carbono se producen en el cloroplasto (Sección 18.3)?
4. ¿Qué nos dice respecto a la relación entre los orgánulos y las bacterias el hecho de que antibióticos como la estreptomicina bloqueen la síntesis de proteínas en los orgánulos (Sección 18.4)?
5. ¿Qué función tienen las siguientes estructuras de las células eucariotas: retículo endoplasmático, aparato de Golgi, lisosomas y peroxisomas (Sección 18.5)?
6. Explique cómo puede tomarse erróneamente a un eucariota evolutivamente muy derivado por uno más basal evolutivamente (Sección 18.6).
7. ¿De qué manera se diferencian las diplomónadas de los parabasálidos (Sección 18.7)?
8. ¿Qué característica morfológica une a los cinetoplastos con los euglenoides (Sección 18.8)?
9. ¿Qué organismo causa las «mareas rojas» y por qué se le considera tóxico (Sección 18.9)?
10. ¿En qué son los oomicetos parecidos a los hongos y en qué son diferentes (Sección 18.10)?
11. ¿Qué rasgo morfológico une a los cercozoos y los radiolarios y los distingue de otras protistas (Sección 18.11)?
12. ¿Por qué estuvieron los hongos mucosos agrupados en cierto momento con los hongos (Sección 18.12)?
13. ¿Cuál es la diferencia entre las asociaciones fúngicas tipo endomicorrizas y tipo ectomicorrizas (Sección 18.13)?
14. ¿Cómo es probable que haya sido el ancestro común entre los hongos y los animales (Sección 18.14)?
15. ¿En qué se diferencian los quitridios de los demás hongos (Sección 18.15)?
16. La formación de las zigosporas en los zigomicetos, ¿es un proceso sexual o asexual (Sección 18.16)?
17. ¿Qué beneficios reportan las endomicorrizas a las plantas con las que se asocian (Sección 18.17)?
18. ¿Cómo se determina el tipo de apareamiento de una célula de levadura (Sección 18.18)?
19. ¿Qué rasgo morfológico unifica a los basidiomicetos y dónde se encuentra dicho rasgo (Sección 18.19)?
20. ¿En qué tipo de hábitats es probable encontrar algas rojas (Sección 18.20)?
21. ¿Qué características asocian a las algas verdes con las plantas (Sección 18.21)?

Ejercicios prácticos

www.medilibros.com

1. Si los orgánulos como la mitocondria y el cloroplasto hubieran sido originalmente células eucariotas de vida libre ¿en qué variarían las propiedades moleculares de estos orgánulos enumeradas en la Sección 18.4?
2. Explique por qué el proceso de la endosimbiosis puede considerarse tanto un evento reciente como un evento muy antiguo.
3. ¿Qué revela la presencia del apicoplasto sobre la historia evolutiva de los apicomplejos?

19

Diversidad viral

I VIRUS DE BACTERIAS 608

19.1 Bacteriófagos de RNA **608**

19.2 Bacteriófagos de DNA de cadena sencilla **610**

19.3 Bacteriófagos de DNA de doble cadena **613**

19.4 Mu: un bacteriófago de DNA de doble cadena transponible **615**

II VIRUS DE ARQUEAS 617

19.5 Virus de arqueas **617**

III VIRUS RNA DE EUCARIOTAS 619

19.6 Virus de RNA de plantas **619**

19.7 Virus animales de RNA de cadena positiva: poliovirus y coronavirus **620**

19.8 Virus animales de RNA de cadena negativa: rabia, gripe y virus relacionados **623**

19.9 Virus de RNA de doble cadena: reovirus **626**

IV VIRUS DE DNA DE EUCARIOTAS 627

19.10 Virus vegetales de DNA **627**

19.11 Replicación de virus animales de DNA de doble cadena **629**

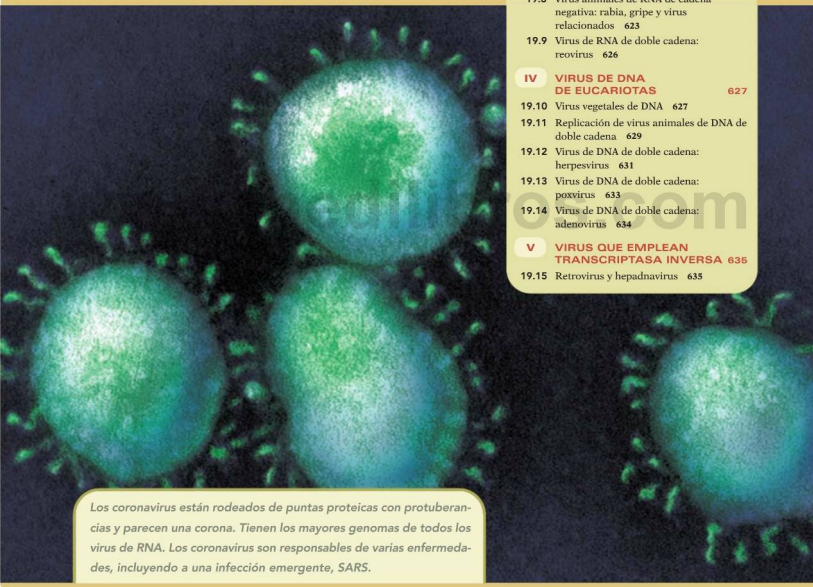
19.12 Virus de DNA de doble cadena: herpesvirus **631**

19.13 Virus de DNA de doble cadena: poxvirus **633**

19.14 Virus de DNA de doble cadena: adenovirus **634**

V VIRUS QUE EMPLEAN TRANSCRIPTASA INVERSA 635

19.15 Retrovirus y hepadnavirus **635**



Los coronavirus están rodeados de puntas proteicas con protuberancias y parecen una corona. Tienen los mayores genomas de todos los virus de RNA. Los coronavirus son responsables de varias enfermedades, incluyendo a una infección emergente, SARS.

Los capítulos anteriores de esta unidad han explorado la enorme diversidad que existe en las células microbianas: *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*. Aquí nos vamos a centrar en la diversidad de virus y de sus genomas. Este capítulo supone una extensión del Capítulo 10, donde se introdujeron los principios de la virología.

Aunque todas las células contienen DNA de doble cadena como material genético, se sabe que los virus pueden tener como material genético RNA de cadena sencilla, RNA de doble cadena, DNA de cadena sencilla o DNA de cadena doble (Sección 10.1). Como consecuencia de ello, los virus presentan esquemas de replicación y expresión génica muy interesantes. En este capítulo, ilustraremos la diversidad viral explorando los diferentes procesos de replicación que presentan los virus de cada uno de estos tipos. Además, separaremos la discusión según el tipo de célula hospedadora que infecten, ya que las diferentes estructuras celulares de los tres dominios de la vida determinan importantes constricciones en los ciclos de vida de los virus que las infectan.

I VIRUS DE BACTERIAS

Son muchos los virus que se conocen que infectan bacterias. Como ya se mencionó en el Capítulo 10, la mayoría de estos virus o **bacteriófagos**, como también se les conoce, tienen genomas de DNA de doble cadena (Sección 10.8). No obstante, aún son numerosos los bacteriófagos que presentan otros tipos de genomas. La **Tabla 19.1** incluye una lista de varios bacteriófagos bien caracterizados que infectan a *Escherichia coli*. Empezaremos por los más sencillos, que son aquellos cuyos genomas están compuestos por RNA.

19.1 Bacteriófagos de RNA

Muchos bacteriófagos contienen genomas de RNA de configuración positiva (+). En dichos virus, el genoma viral, **RNA de cadena positiva** y el RNA mensajero tienen la misma complementariedad (Sección 10.7). Curiosamente, los virus de RNA de bacterias entéricas, únicamente infectan bacterias que contengan un tipo de plásmido que se conoce como plásmido conjugativo y que permite a dichas bacterias actuar como donadoras en procesos de conjugación (Sección 11.12). Esta restricción se debe a que estos virus se unen a los pili de dichas bacterias para llevar a cabo la infección (**Figura 19.1**) y este pili está codificado por el plásmido conjugativo y por tanto presente únicamente en células donadoras.

Fago MS2

Los bacteriófagos de RNA son bastante pequeños, de aproximadamente 25 nm de diametro, e icosaédricos (Sección 10.2), con 180 copias de la proteína de la cápsida por virión. Se conocen las secuencias nucleotídicas completas de los genomas de varios bacteriófagos de RNA. Por ejemplo, el genoma del fago MS2, que infecta a *Escherichia coli* tiene 3.569 nucleótidos.

La **Figura 19.2** muestra el mapa genético del fago MS2 (19.2*a*) y la cadena de eventos que constituyen su proceso de replicación (19.2*b*). El genoma de MS2 codifica sólo cuatro proteínas: la proteína de maduración (presente en copia única en la particular vírica madura), la proteína de la cápsida, la proteína de lisis (necesaria para la lisis de la bacteria, que libera las partículas víricas maduras) y una subunidad de la **replicasa de RNA**, la enzima que replica el RNA vírico. La replicasa de RNA es una proteína compuesta por un polipéptido codifica-

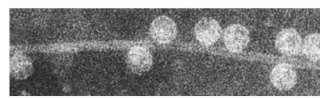


Figura 19.1 Pequeños bacteriófagos de RNA. Fotografía al microscopio electrónico del pilus de una célula donadora de *Escherichia coli* mostrando viriones de un pequeño fago de RNA unidos al mismo.

Table 19.1 Algunos bacteriófagos de *Escherichia coli*

Bacteriófago	*Estructura del virión*	*DNA o RNA*	*Cadena sencilla o doble*	*Estructura del genoma*	*Tamaño del genoma*[a]
MS2	Icosaédrico	RNA	Cadena sencilla	Lineal	3.569
φX174	Icosaédrico	DNA	Cadena doble	Circular	5.386
M13, f1 y fd	Filamentoso	DNA	Cadena sencilla	Circular	6.408
Lambda	Cabeza y cola	DNA	Cadena doble	Lineal	48.514[b]
T7 y T3	Cabeza y cola	DNA	Cadena doble	Lineal	39.936
T4	Cabeza y cola	DNA	Cadena doble	Lineal	168.903
Mu	Cabeza y cola	DNA	Cadena doble	Lineal	39.000[c]

[a] Los tamaños de algunos genomas virales se conocen con gran precisión ya que han sido secuenciados. No obstante, la secuencia y número exacto de bases entre aislamientos cercanos pueden ser ligeramente diferentes. El tamaño representado corresponde a bases o pares de bases según sea el virus de cadena sencilla o doble, respectivamente.
[b] Esto incluye extensiones de cadena sencilla de unos 12 nucleótidos a cada lado del DNA lineal.
[c] Esto incluye 1.800 pb de DNA del hospedador que queda unido a los extremos del DNA de Mu en el virión.

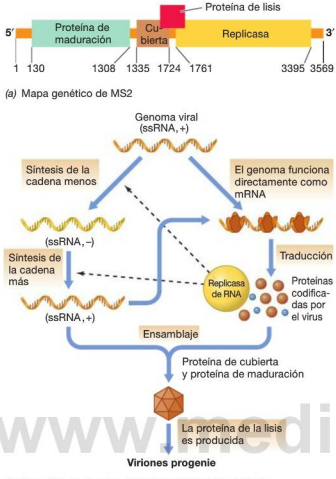


Figura 19.2 **Bacteriófago MS2** *(a)* Obsérvese en el mapa genético cómo el gen que codifica la proteína de lisis se solapa tanto con el gen que codifica la proteína de la cápsida como con el que codifica la replicasa. Los números en *(a)* se refieren a las posiciones de los nucleótidos en el RNA. *(b)* Cadena de eventos durante la multiplicación.

do por el virus y por polipéptidos del hospedador. La proteína de maduración actúa como proteasa sobre algunas proteínas víricas necesarias para la producción de viriones infectivos.

Dado que el genoma del fago MS2 es de RNA de cadena positiva, puede ser traducido directamente tras ser introducido en la célula. Después de que la replicasa de RNA sea sintetizada, se puede polimerizar el RNA de cadena negativa, usando el RNA genómico como molde (Figura 10.11). Una vez que se ha producido el RNA de cadena negativa, este puede a su vez ser usado como molde para la producción de más RNA de cadena positiva. Las nuevas cadenas positivas son entonces traducidas para continuar sintetizando proteínas víricas.

El RNA del fago MS2 se pliega de manera compleja con abundantes estructuras secundarias. El AUG donde se inicia la traducción de la proteína de la cápsida es el más accesible de los cuatro inicios de la traducción de MS2 y por tanto la traducción de la misma tiene lugar muy temprano en el proceso de infección. La replicasa de RNA también se traduce temprano en el proceso de infección, pero conforme el número de moléculas de la proteína de la cápsida aumenta, éstas se unen al RNA que rodea al AUG donde se inicia la traducción de la replicasa, determinando así el fin de su síntesis.

Aunque el gen que codifica la proteína de maduración se encuentra localizado en el extremo 5′ de la molécula de RNA, el extenso plegamiento del mismo limita el acceso de la maquinaria de traducción al inicio de éste. En consecuencia, tan sólo se llegan a producir unas pocas copias de proteína de maduración. Así, gracias a la estructura secundaria del RNA, las proteínas víricas son producidas en las diferentes cantidades en las que son necesarias para el ensamblaje del virus. En concreto la principal proteína viral sintetizada es la de la cápsida que se requiere en mayores cantidades.

Solapamiento génico y ensamblaje de MS2

Una característica interesante del bacteriófago MS2 es que su proteína de lisis está codificada por un gen que se solapa tanto con el gen que codifica la proteína de la cápsida como con el que codifica la replicasa (Figura 19.2*a*). Este fenómeno de **solapamiento génico** es muy común en genomas virales pequeños (Sección 19.2) y determina una mayor eficiencia en genomas pequeños. El codón de iniciación del gen de lisis de MS2 no resulta de fácil acceso para el ribosoma debido a la estructura secundaria de la molécula de RNA. No obstante, cuando el ribosoma está terminando la traducción del gen que determina la proteína de la cápsida, la estructura secundaria de esa zona se ve alterada, permitiendo a veces que el ribosoma comience a traducir el gen de lisis. Esta restricción del proceso de traducción impide que se pueda producir la lisis prematura de la célula hospedadora. Así, sólo cuando se han sintetizado suficientes copias de la proteína de la cápsida como para permitir el ensamblaje de viriones maduros, puede comenzar la lisis celular.

El último estadio del proceso incluye el autoensamblaje de los viriones y su liberación gracias a la lisis celular. La replicación de los virus de RNA pequeños es considerablemente simple. El RNA viral actúa como RNA mensajero y la regulación de su expresión génica se basa en el control del acceso del ribosoma a los diferentes inicios de traducción del virus.

Aunque se conocen varios bacteriófagos de RNA con una biología parecida a la de MS2, aún no se ha descubierto ninguno cuyo genoma corresponda a un RNA de cadena negativa, un tipo de genoma considerablemente común entre virus de eucariotas (Sección 19.8). Los que sí se conocen, no obstante, son algunos bacteriófagos que poseen un genoma de RNA de doble cadena fragmentado. El mejor estudiado de ellos es φ6, que infecta *Pseudomonas syringae*. Este virus, es un virus **con envoltura** (está rodeado de una membrana lipídica; Figura 10.12),

parece estar estrechamente relacionado con los reovirus (Sección 19.9) que infectan eucariotas.

19.1 Minirrevisión

Se han descrito muchos virus de RNA que infectan a bacterias. Sus pequeños genomas codifican sólo unas pocas proteínas.

- ¿Cuál es la diferencia entre los genomas de virus de RNA de cadena positiva y los de cadena negativa?
- Describa qué quiere decir el termino «genes solapantes».

19.2 Bacteriófagos de DNA de cadena sencilla

Algunos bacteriófagos contienen genomas de DNA de cadena sencilla de complementariedad positiva, pero no se conoce ninguno de cadena negativa. Antes de que dichos genomas puedan ser transcritos, se debe sintetizar una cadena complementaria para dar lugar a una molecular de doble cadena, que se conoce como la **forma replicativa (FR)** (Sección 10.7 y Figura 10.11). Estos bacteriófagos replican este DNA de doble cadena pero únicamente empaquetan en sus viriones la cadena positiva de DNA. En esta sección discutiremos dos conocidos fagos de DNA de cadena sencilla que infectan *Escherichia coli*, el fago icosaédrico ϕX174 y el fago filamentoso M13

El genoma del fago ϕX174

El bacteriófago ϕX174 presenta un virión icosaédrico que contiene un genoma circular de DNA de cadena sencilla. Este virus es muy pequeños, aproximadamente 25 nm de diámetro y el principal componente de su envoltura es una proteína sencilla presente en 60 copias, el número mínimo de subunidades protéicas posibles en un virus icosaédrico. Unidas a los vértices del icosaedro se encuentran otras proteínas que forman una estructura de aguja (Figura 10.12). Estos pequeños virus de DNA contienen sólo unos pocos genes y llevan a cabo la replicación viral usando exclusivamente la maquinaria de replicación de la célula hospedadora.

El genoma de ϕX174 consiste en una molecula de DNA circular y de cadena sencilla de 5386 nucleótidos. El DNA de ϕX174 fue la primera molécula de DNA que fue completamente secuenciada, un logro notable en 1977, cuando fue llevado a cabo por Frederick Sanger y colaboradores. El fago ϕX174 también presenta un interés especial al ser el primer elemento genético en el que se demostró la existencia de genes solapantes, una característica que ya hemos descrito para el caso del fago MS2 (Sección 19.1). Por ejemplo, en ϕX174, el gen B está incluido dentro del gen A y el gen K dentro de los genes A y C (**Figura 19.3**). En virus muy pequeños, como ϕX174, no hay DNA suficiente para codificar todas las proteínas específicas del virus, a no ser que haya partes del genoma que sean leídas más de una vez, en diferentes marcos de lectura (Figura 19.3).

Como se puede ver en el mapa genético de ϕX174, los genes D y E también se solapan, de tal manera que el gen

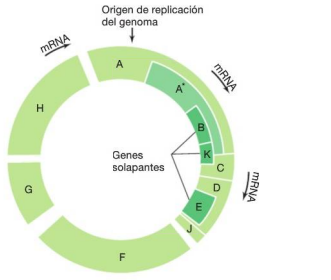


Figura 19.3 Bacteriófago ϕX174, un fago de DNA de cadena sencilla *(a)* Obsérvense en el mapa las regiones de solapamiento génico. Las regiones intergénicas no están coloreadas. La proteína A* se forma utilizando sólo parte de la secuencia codificante del gen A por reiniciación de la traducción. *(b)* Cadena de eventos en la replicación de ϕX174. Los DNA de cadena sencila de la progenie se producen a partir del DNA de doble cadena de la forma replicativa del fago, mediante replicación por círculo rodante, proceso que se muestra en mayor detalle en la Figura 19.4.

Libros.com

E está completamente incluido dentro del gen D. Además el codón de terminación del gen D solapa con el codón de iniciación del gen J (Figura 19.3*a*). Adicionalmente al solapamiento génico, una pequeña proteína de ϕX174, llamada A*, que actúa apagando la síntesis de DNA del hospedador, es sintetizada al reiniciarse la traducción (no transcripción) dentro del RNA mensajero correspondiente al gen A. Así, la proteína A* es leída y terminada a partir del mismo RNA mensajero que la proteína A, pero a partir de un codón de iniciación diferente en la misma fase y es por tanto una proteína de menor tamaño.

Replicación de DNA por el mecanismo del círculo rodante

Muchos plásmidos y virus se replican mediante un mecanismo diferente a la replicación semiconservativa del ADN celular (Sección 7.5). Este mecanismo alternativo, la **replicación por círculo rodante**, es utilizado por algunos virus con genomas de DNA de cadena sencilla, incluyendo a ϕX174. Tras la infección, la cadena positiva de DNA viral es separada de la proteína de la cápsida, mientras es convertida de cadena sencilla en la cadena doble que caracteriza a la forma replicativa (Figura 19.3*b*). Las enzimas codificadas por la célula que ayudan a transformar el DNA viral en la forma replicativa incluyen una primasa, una DNA polimerasa, una ligasa y una girasa (Sección 7.5).

En las células, la replicación de la cadena retrasada requiere la síntesis de cebadores de RNA cortos, lo que es llevado a cabo por la primasa (Sección 7.5). Estos cebadores de RNA se sintetizan a intervalos a lo largo de la cadena retrasada y son posteriormente eliminados y reemplazados por DNA mediante la acción de la DNA polimerasa I (Figura 7.15). La situación en el caso de ϕX174 es similar, excepto que el DNA en este caso es de un círculo cerrado de cadena sencilla. Para iniciar la replicación en este caso, la primasa sintetiza un cebador corto en uno o varios sitios de iniciación específicos. El DNA es entonces sintetizado por la DNA polimerasa III y el cebador el eliminado y reemplazado por DNA mediante la acción de la DNA polimerasa I, exactamente igual a lo que ocurre en el caso de la síntesis de la cadena retrasada en la replicación semiconservativa. Una vez que se ha completado la forma replicativa, se obtienen varias copias de esta por replicación semiconservativa convencional y intermediarios theta (Figura 7.16).

En la formación de genomas virales de cadena sencilla, el círculo rodante se produce porque la cadena positiva de la forma replicativa es cortada de manera que su extremo 3′ queda expuesto y puede ser usado como cebador para iniciar la síntesis de una nueva cadena (**Figura 19.4**). El corte de la cadena positiva es llevado a cabo por la proteína A. La rotación continuada del círculo conduce a la síntesis de una estructura lineal de cadena sencilla, el genoma de ϕX174. Hay que destacar que la síntesis de DNA es asimétrica ya que sólo una de las cadenas (la cadena negativa) sirve como molde. Cuando la creciente cadena

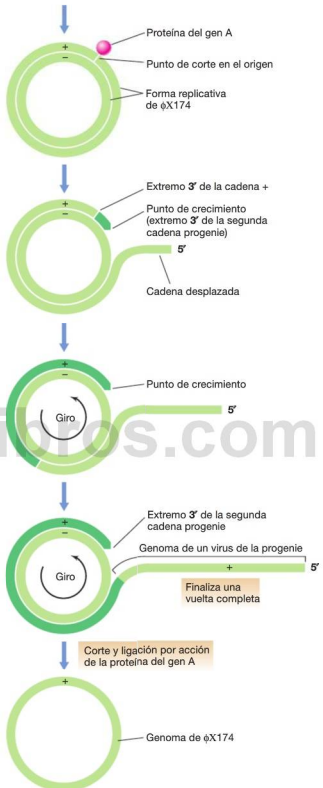


Figura 19.4 Replicación por círculo rodante del fago ϕX174. La replicación se inicia en el origen de la forma replicativa de doble cadena con el corte de la cadena positiva por la acción de la proteína A (ambas cadenas de DNA se muestran en verde claro para simplificar el esquema). Tras la síntesis de una cadena de la nueva progenie (una vuelta del círculo) la proteína A corta la nueva cadena y la circulariza uniendo sus extremos.

www.medilibros.com

viral alcanza la longitud correspondiente al genoma (5.386 residuos en el caso de ϕX174), la proteína A corta y liga los dos extremos de la cadena recién sintetizada generando una molécula de DNA circular de cadena sencilla, que corresponde a una nueva copia del genoma del virus.

Transcripción y traducción en ϕX174

La forma replicativa también se utiliza como molde para la transcripción del RNA mensajero de ϕX174. La transcripción del mensajero se inicia en varios promotores y finaliza en puntos diferentes. Las moléculas de RNA mensajero policistrónico así generadas son traducidas dando lugar a varias proteínas virales. Como ya hemos mencionado, a partir de una misma secuencia de DNA pueden transcribirse diferentes RNA mensajeros, usando diferentes marcos abiertos de lectura (genes solapantes; Figura 19.3*a*), que una vez traducidas dan lugar a proteínas distintas. La eficiencia con la cual un genoma tan pequeño como el de ϕX174 puede codificar tantas proteínas distintas es impresionante.

Para finalizar, se produce el ensamblaje de los viriones maduros de ϕX174, que son liberados al producirse la lisis celular, gracias a la acción de la proteína E. Curiosamente, la proteína E cataliza el proceso de lisis inhibiendo la actividad de una de las enzimas encargadas de la síntesis de peptidoglicano en la pared celular (Sección 6.4). De este modo, la pared celular recién sintetizada se debilita y finalmente se rompe, liberando las partículas víricas.

Bacteriófagos filamentosos de DNA de cadena sencilla

Los fagos de DNA filamentosos presentan simetría helicoidal en vez de icosaédrica. El miembro mejor estudiado de este grupo es el fago M13, que infecta a *E. Coli* y entre los fagos cercanos se incluyen fl y fd, Tal y como ocurre con los pequeños fagos de RNA, estos fagos filamentosos de DNA únicamente infectan células capaces de actuar como donadoras en una conjugación (Figura 19.1). Aunque estos fagos presentan formas lineales (filamentos), su genoma es una molécula circular de DNA de cadena sencilla.

Bacteriófago M13

M13 es el bacteriófago filamentoso modelo y ha sido utilizado extensamente como vector de clonación y secuenciación de DNA en ingeniería genética (Sección 12.15). El virión del fago M13 tiene un diámetro de tan sólo 6 nm, pero una longitud de 860 nm. Estos fagos filamentosos de DNA tiene una propiedad interesante adicional y es que son capaces de salir de la célula infectada sin causar su lisis. Así, una célula infectada por M13 puede continuar creciendo mientras se produce la liberación de los viriones de M13. La infección vírica en estos casos produce un retraso del crecimiento pero, por todo lo demás, es perfectamente capaz de coexistir con el virus. En consecuencia, en las infecciones por M13, no se producen las típicas placas de lisis y únicamente pueden observarse áreas de menor turbidez en el césped bacteriano.

En muchos aspectos, la replicación en fagos filamentosos es muy similar a la que tiene lugar en ϕX174 (Figura 19.4). La liberación de los viriones sin matar a la célula se produce mediante un proceso denominado gemación. En este mecanismo, el extremo del virión que contiene varias copias de la proteína A es liberado primero y es seguido por el resto del virión (**Figura 19.5**). Con el fago M13 no se produce la acumulación intracelular de viriones típica en bacteriófagos. En su lugar, los viriones maduros son ensamblados en la superficie interna de la membrana citoplasmática, de manera que su ensamblaje está acoplado a su liberación por gemación.

Utilización de M13 en ingeniería genética

Son varios los aspectos del ciclo de vida de M13 que lo hacen útil como vehículo de clonación y secuenciación de DNA. En primer lugar, tiene DNA de cadena sencilla, lo que significa que puede llevarse a cabo su secuenciación de manera sencilla mediante el método Sanger usando dideoxinucleótidos (Sección 12.5). En segundo lugar, adquiere forma de DNA de doble cadena en su forma replicativa, lo que resulta esencial para poder clonar en él. En tercer lugar, dado que las células infectadas siguen creciendo, pueden ser mantenidas de manera indefinida, por lo que tenemos una fuente continua del DNA clonado. Y finalmente, al igual que ocurre con el fago lambda, el genoma de M13 contiene una zona intergénica que no codifica proteínas y que puede ser reemplazada por frag-

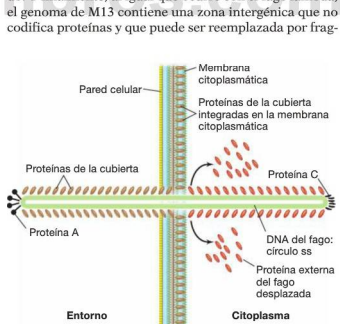


Figura 19.5 Liberación de fagos filamentosos. Los viriones de fagos filamentosos de cadena sencilla (como M13 o fd) salen de la célula infectada sin lisis. La proteína A pasa a través de la membrana citoplasmática primero en un punto donde ya se han embebido en la misma las proteínas de la cápsida. El DNA circular intracelular es cubierto por dímeros de la proteína externa del fago, que es desplazada por proteína de la cápsida conforme el DNA pasa a través de la membrana citoplasmática intacta.

mentos de DNA exógeno de tamaño variable (Sección 12.15). Por estas y otras razones, M13 es una herramienta importante en biotecnología.

19.2 Minirrevisión

El genoma de DNA de cadena sencilla del virus ϕX174 es tan pequeño que los genes deben solaparse para poder codificar las proteínas esenciales para su ciclo de vida. El DNA viral se replica mediante el mecanismo de círculo rodante. Algunos virus de DNA de cadena sencilla, como M13, tienen viriones filamentosos que pueden ser liberados sin que se produzca la lisis de la célula infectada. Estos virus tienen múltiples usos en secuenciación de DNA e ingeniería genética.

- ¿Cómo puede el genoma de ϕX174, que es de DNA de cadena sencilla y de configuración positiva, ser utilizado directamente como RNA mensajero tal y como ocurre con el fago MS2?
- ¿Cómo difiere la forma replicativa del ácido nucléico de ϕX174 de la encontrada en el virión?
- Describe el genoma de M13. ¿Cómo es dicho genoma en relación con el RNA mensajero producido por este fago?
- ¿Cómo pueden ser liberados los viriones de M13 sin que se produzca la muerte de la célula infectada?

19.3 Bacteriófagos de DNA de doble cadena

Los bacteriófagos de DNA de cadena doble están entre los mejor estudiados de todos los virus y ya hemos discutido en el Capítulo 10 dos de los más importantes, T4 y lambda (Secciones 10.9 y 10.10). Dada su importancia como modelos para entender la biología molecular y la regulación génica, consideraremos además dos virus más, T7, en esta sección y Mu en la siguiente.

Replicación del fago T7: eventos tempranos

El bacteriófago T7 y su pariente cercano T3 son virus de DNA relativamente pequeños que infectan *Escherichia coli* y algunas enterobacterias cercanas, como *Shigella*. El virión tiene una estructura con una cabeza icosaédrica y una cola corta. El genoma de T7 es una molécula de DNA lineal de doble cadena de 39.936 pb. El mapa genético de T7 se muestra en la **Figura 19.6**, e incluye varios genes solapados (Sección 19.2).

El orden de los genes en el cromosoma de T7 determina la regulación de la replicación del virus. Cuando el virión se une a la pared bacteriana, el DNA es inyectado dentro de la célula de tal manera que lo primero en ser introducido es el «extremo izquierdo» del mapa genético. Algunos de los genes en este extremo son rápidamente transcritos por la RNA polimerasa celular y traducidos. Una de estas proteínas tempranas inhibe el sistema de restricción de la célula hospedadora, un mecanismo por el cual la célula se protege de la entrada de DNA foráneo (Sección 12.1). Esto tiene lugar de inmediato, ya que la proteína anti-restricción es sintetizada antes de que el genoma entero haya entrado en la célula.

Otra proteína temprana es la RNA polimerasa viral, la RNA polimerasa de T7. Otras dos moléculas de RNA mensajero que se producen en la fase temprana, codifican proteínas capaces de inhibir la RNA polimerasa celular de tal manera que acaba con la transcripción de los genes tempranos así como con la transcripción de los genes de la célula hospedadora. Por tanto la RNA polimerasa celular sólo se utiliza para transcribir los genes tempranos. LA RNA polimerasa de T7, toma entonces el relevo y continúa con la transcripción del resto de los genes del fago.

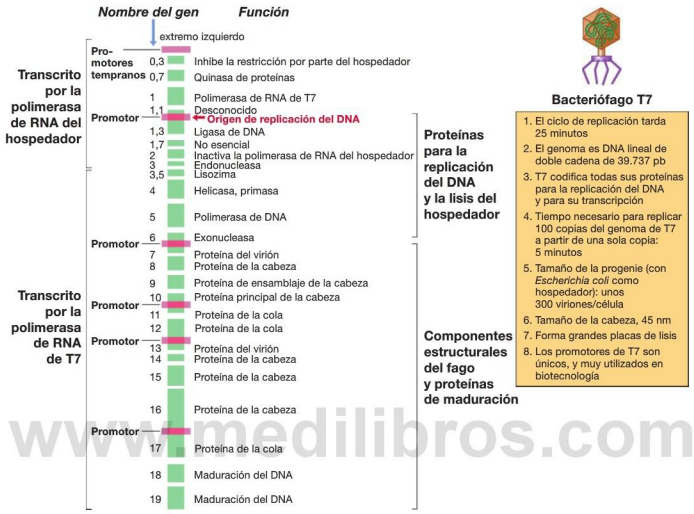
La RNA *polimerasa* de fago T7 reconoce únicamente promotores de T7 que se encuentran distribuidos a lo largo del genoma de T7. (Figura 19.6). Estos promotores T7 tienen una secuencia que no guarda ninguna relación con los típicos promotores de *E. coli*. La RNA polimerasa de T7 es tan extremadamente eficiente, que ha sido utilizada en ingeniería genética para expresar genes clonados a niveles muy elevados (Sección 12.13). Hay que destacar que esta estrategia es diferente a la del fago T4, ya que este último utiliza la RNA polimerasa de la célula dirigiéndola a la expresión exclusiva de genes víricos mediante un factor sigma específico de T4 (Sección 10.9).

Replicación del genoma de T7

La replicación del DNA de T7 se inicia en un origen de replicación único (se muestra en la Figura 19.6) y se desplaza bidireccionalmente a partir del mismo (**Figura 19.7**). Las moléculas de DNA de T7 en proceso de replicación pueden ser fácilmente identificadas mediante microscopía electrónica por su estructura característica. Al estar el origen de replicación cerca del extremo izquierdo, las moléculas de DNA de T7 en replicación presentan una estructura típica bajo el microscopio electrónico en forma de Y. Al principio de la replicación, pueden aparecer moléculas en forma de burbuja (Figura 19.7). Varias proteínas víricas, que incluyen una DNA polimerasa específica de T7, participan en la replicación de este fago. Esto supone de nuevo una diferencia con el uso de proteínas del hospedador que se produce en el caso de los fagos T4 (Sección 10.9) y ϕX174 (Sección 19.2).

La replicación de moléculas de DNA lineales debe solventar el problema que supone el acortamiento de la molécula tras cada ronda de replicación debido a la eliminación del cebador de RNA utilizado para iniciar la síntesis de DNA. Este problema puede tener varias soluciones (Sección 8.7). La solución empleada por T7 se parece a la que utiliza T4 y se basa en el uso de secuencias repetidas (Sección 10.9). El DNA de T7 tiene una repetición terminal de 160 pb en ambos extremos de la molécula. Para replicar el DNA cerca del extremo 5′, la molécula de RNA que actúa como cebador debe ser eliminada

www.medilibros.com



www.medilibros.com

Figura 19.6 **Mapa genético del bacteriófago T7.** Los genes están designados por números. El mapa muestra además sus tamaños aproximados y las funciones de sus productos génicos. La polimerasa de RNA celular transcribe los promotores tempranos. La polimerasa de RNA de T7 transcribe el resto de los promotores.

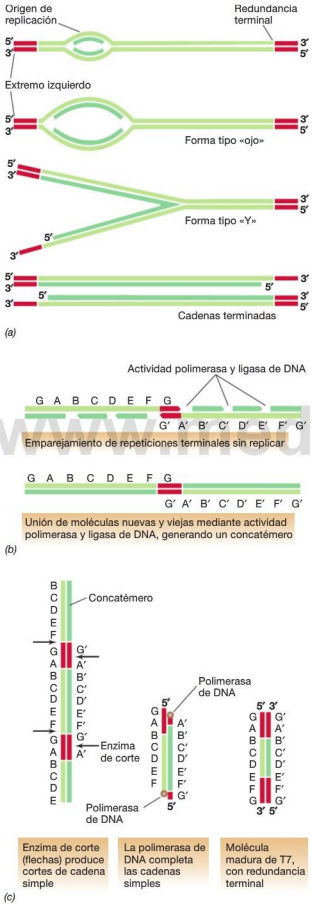
antes de que se complete la replicación. Esto deja un segmento sin replicar en el DNA de T7 en el extremo 5′ de cada cadena (parte inferior de la Figura 19.7*a*). Los extremos 3′ opuestos de dos moléculas de DNA diferentes, al ser complementarios, pueden aparear por estos extremos 5′, formando una molécula de DNA dos veces más larga que la original (Figura 19.7*b*). Las regiones sin replicar de esta estructura pueden ser rellenadas mediante la actividad de la DNA polimerasa de T7 y su ligasa, dando como resultado una molécula lineal doble que se denomina **concatémero**.

La replicación continuada y la recombinación pueden dar lugar a concatémeros considerablemente largos, pero al final una endonucleasa viral los corta en unos sitios específicos dando lugar a la formación de moléculas lineales de DNA del tamaño del virus, con repeticiones terminales (Figura 19.7*c*). Ya que T7 corta el concatémero en secuencias específicas, la secuencia de DNA de cada virión es idéntica. Debemos recordar que este no es el caso para el fago T4, que procesa el DNA mediante un mecanismo de «llenado de cabezas». En consecuencia, el DNA de T4 no sólo presenta redundancia terminal como T7, sino que además presenta permutación circular (Sección 10.9).

19.3 Minirrevisión

El bacteriófago T7 tiene un genoma de DNA de doble cadena y siempre entra en la célula hospedadora en la misma orientación. Los genes tardíos son transcritos por una RNA polimerasa codificada por el virus. La replicación del genoma de T7 emplea una DNA polimerasa del virus e implica repeticiones terminales y formación de concatémeros.

▮ ¿Qué consecuencias tiene el hecho de que el genoma de T7 sea siempre introducido en la célula en la misma orientación?



www.mundi

Figura 19.7 Replicación del genoma del bacteriófago T7. *(a)* El DNA lineal de doble cadena es replicado bidireccionalmente dando lugar a un intermediario en forma de ojo y a otro en forma de Y (por simplificar se muestran ambas hebras en verde claro y las dos hebras recién sintetizadas en verde oscuro). *(b)* Formación de concatémeros por la unión de moléculas de DNA en el extremo no replicado. La designación de los genes es arbitraria. *(c)* Producción de moléculas de DNA viral maduras a partir de concatémeros de T7 por la actividad de una enzima de corte, una endonucleasa.

- ¿Qué significa repeticiones terminales?
- ¿De qué manera son parecidos los procesos de replicación del DNA en los fagos T7 y T4 y en qué se diferencian?

19.4 Mu: un bacteriófago de DNA de doble cadena transponible

El bacteriófago Mu es un fago atemperado, al igual que lambda (Sección 10.10), pero tiene la poco frecuente propiedad de replicarse por transposición (Sección 11.16). Los elementos transponibles son secuencias de DNA que pueden moverse de un punto a otro dentro del genoma hospedador como una unidad genética discreta. Se encuentran tanto en procariotas como en eucariotas y tienen un papel muy importante en la variación genética. Además de un bacteriófago, Mu es al mismo tiempo un elemento transponible muy grande que replica su DNA mediante transposición.

Este fago se denominó Mu porque es un fago mutador, que induce mutaciones en el genoma hospedador en el que se integra. La capacidad mutagénica de Mu se debe a que el genoma del virus puede insertarse dentro de genes del hospedador, interrumpiendo así su secuencia codificante. Por tanto, una célula que está infectada por Mu, presenta frecuentemente un fenotipo mutante. Mu es un fago útil en genética bacteriana ya que puede usarse fácilmente para generar bacterias mutantes.

Propiedades básicas del fago Mu

El bacteriófago Mu es un virus de gran tamaño con una cabeza icosaédrica, una cola helicoidal y seis fibras de cola (**Figura 19.8**). El genoma de Mu está formado por una molécula de DNA lineal de doble cadena y su mapa genético se muestra en la **Figura 19.9a**. La mayoría de los genes de Mu están implicados en la síntesis de proteínas de la cabeza y la cola y existen genes localizados a cada extremo del genoma que son importantes para la replicación y para la determinación de su rango de hospedador.

El virión de Mu contiene aproximadamente 39 kpb de DNA, pero sólo 37,2 kpd de éste constituye su genoma real. El resto es DNA del hospedador que permanece uni-

Figura 19.8 **Viriones del bacteriófago MU.** Fotografía al microscopio electrónico de viriones del fago de DNA de doble cadena Mu, el fago mutador.

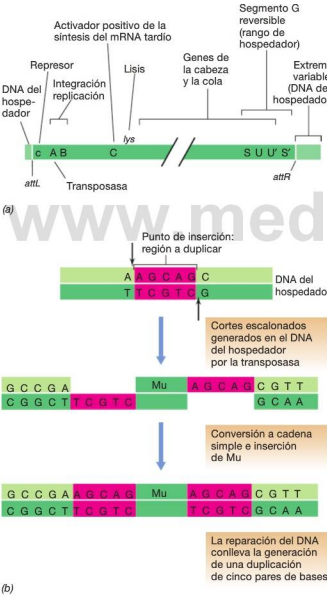


Figura 19.9 **Bacteriófago Mu** *(a)* Mapa genético del genoma de Mu. Obsérvese que hay un gen representado con c minúscula que es un represor y uno representado con c mayúscula que es un activador. La región que codifica las proteínas de la cabeza y la cola no está representada a escala. *(b)* Integración de Mu en el hospedador.

do a los extremos del genoma de Mu, 50 a 150 pb en el extremo izquierdo y 1 a 2 kpb en el extremo derecho. Estas secuencias de DNA del hospedador no son únicas, sino que representan el DNA adyacente a la localización en la que Mu estaba insertado en el genoma de su anterior hospedador. ¿Cómo se produce esto?

Cuando se forma un virión de Mu, se produce la escisión de un fragmento de DNA lo suficientemente largo como para llenar la cabeza del fago y que contiene el genoma de Mu. Este fragmento de DNA es entonces empaquetado hasta llenar la cabeza, pero el punto en el extremo derecho en el que se produce el corte varía de un virión a otro. Por esta razón, tal y como se muestra en el mapa genético, hay una zona de secuencia variable de DNA del hospedador en el extremo derecho del fago (a la derecha del sitio attR). Así, cada virión que se origina a partir de una célula infectada es genéticamente único, al estar flanqueado por distinto DNA del hospedador.

Mu y la región invertible G

Como se muestra en el mapa genético (Figura 19.9*a*), un segmento de Mu específico, llamado G, es invertible, pudiendo estar presente en el genoma en la orientación conocida como G^+ o en la orientación inversa G^-. La orientación de este fragmento determina el tipo de fibras de la cola que estarán presentes en el virión. Al estar la unión a la célula hospedadora determinada por la interacción molecular entre las fibras de la cola y la superficie celular, el rango de hospedador de Mu viene determinado por la orientación del fragmento G. Por ejemplo, si el fragmento G está en orientación G^+, el fago fabricará fibras de la cola que le permitirán infectar *Escherichia coli* K12. Si por el contrario el segmento G está en orientación G^-, el fago infectará *E. coli* C u otras especies de bacterias entéricas. Las dos proteínas alternativas para las fibras de la cola están codificadas por cadenas opuestas dentro del pequeño fragmento G.

A la izquierda del fragmento G hay un promotor que determina la transcripción del segmento G. En la orientación G^+, el promotor de los genes S y U está activo, mientras que en la orientación G^-, un promotor distinto determina la transcripción de los genes S′ y U′ en la cadena opuesta. La inversión del fragmento G es un suceso poco frecuente y está controlada por un gen adyacente al fragmento G. Este fenómeno es por tanto un mecanismo sencillo que el fago ha adquirido en su evolución y que le permite atacar a una mayor variedad de células hospedadoras.

Replicación en Mu

Recordemos que los bacteriófagos de DNA de doble cadena que hemos discutido hasta ahora, T4 (Sección 10.9), T7 (Sección 19.3), lambda (sección 10.10) y Mu, tienen todos genomas lineales. No obstante, estos virus utilizan tres mecanismos diferentes para replicar los extremos de sus genomas. Tanto T4 como T7 utilizan repeticiones que

forman concatéameros, mientras que lambda circulariza su genoma tras la infección. Mu se replica de una manera completamente diferente a las tras anteriores ya que su genoma se replica como parte de una molécula de DNA mucho mayor.

Cuando Mu infecta una célula, su DNA es introducido de manera que está protegido de los sistemas de restricción del hospedador por un mecanismo de modificación mediante el cual se produce la acetilación de varios residuos de adenina. A diferencia de lambda, la integración del DNA de Mu dentro del genoma hospedador es esencial tanto para la fase lítica como para la fase lisogénica. Su integración requiere la actividad del producto del gen A, que es una **transposasa**. En el lugar donde el DNA de Mu se integra, se origina una duplicación de 5 pb en el sitio diana del DNA del hospedador. Tal y como se muestra en la Figura 19.9*b*, esta duplicación está causada por los cortes **escalonados** que se producen en el punto de integración de Mu. El resultado de estos cortes son segmentos de cadena sencilla que son rellenados para dar lugar a doble cadena como parte del proceso de integración de Mu. Este tipo de duplicación de tramos cortos del DNA del hospedador es típico de los elementos transponibles (Sección 11.16).

Mu puede entrar en fase lítica tras la infección si su represor (el producto del gen C) no se ha llegado a producir o por inducción de un lisógeno. En cualquiera de los casos, el DNA es replicado mediante transposiciones repetidas de Mu a múltiples sitios en el genoma del hospedador. Inicialmente, sólo se transcriben los genes tempranos de Mu, pero tras la expresión de la proteína C (C es un activador positivo de la transcripción tardía), se produce la síntesis de las proteínas de la cabeza y de la cola. Finalmente, se produce la lisis celular y la liberación de las partículas de fago maduras. El estado lisogénico de Mu requiere la acumulación de suficiente cantidad de proteína represora para que se inhiba la transcripción del DNA de Mu integrado.

19.4 Minirrevisión

El bacteriofago Mu es un virus atemperado que actúa además como un elemento transponible. En cualquiera de sus fases, lítica o lisogénica, su genoma se integra en el cromosoma del hospedador mediante la acción de la transposasa. Incluso en la fase lítica, la replicación de su genoma se produce como parte de la replicación de una molécula de DNA mayor. El genoma es empaquetado en el virión junto con secuencias cortas de DNA del hospedador unidas a ambos extremos.

- ¿Qué mecanismo utiliza Mu para variar su rango de hospedador?
- ¿Qué mecanismo emplea Mu para asegurarse de que los extremos de su genoma lineal son completamente replicados?

II VIRUS DE ARQUEAS

19.5 Virus de arqueas

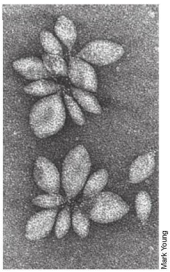
Recientemente se han descubierto varios virus de DNA cuyos hospedadores son especies de arqueas entre las que se incluyen representantes tanto de euriarqueotas y crenarqueotas (Capítulo 17). La mayoría de los virus que infectan especies de euriarqueotas, tanto metanogénicas como halófilas, corresponden al tipo «cabeza y cola» que recuerda a los virus de enterobacterias tales como el fago T4 (Sección 10.9). De hecho, ciertos fagos con cola de los que infectan arqueas halófilas y haloalcalófilas, tales como el fago ΦH de *Halobacterium salinarum* y el fago ΦCh1 de *Natrialba magadii* poseen genomas lineales de DNA de doble cadena con permutación circular y redundancia terminal, como ocurre en el fago T4. Estos virus probablemente empaquetan su DNA mediante el mecanismo de «llenado de cabeza» visto para T4 (Sección 10.9). A diferencia de este grupo de virus que tan familiar nos resulta, muchos otros virus capaces de infectar a miembros de crenarqueotas son extremadamente inusuales. Hasta el momento, no se ha encontrado ningún virus de RNA que infecte a ninguna arqueobacteria.

Virus de hipertermófilos

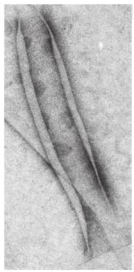
Los virus más variados y morfológicamente inusuales de entre los arqueovirus son aquellos que infectan a hipertermófilos miembros de crenarqueotas (Capítulo 17) y serán por tanto en los que nos centremos aquí. Por ejemplo, el quimiolitótrofo sulfuroso *Sulfolobus* es hospedador de varios virus estructuralmente inusuales. Teniendo en cuenta el hábitat de *Sulfolobus*, suelos calientes y ácidos y manantiales calientes (Sección 17.9), estos virus deben ser notablemente resistentes tanto a la desnaturalización por calor como por ácido.

Uno de estos virus que infectan especies de *Sulfolobus*, llamados SSV por *Sulfolobus spindle-shape* (con forma ahusada) *virus*, forma viriones ahusados que frecuentemente se agrupan formando rosetas (**Figura 19.10*a***). Este tipo de virus es aparentemente muy común en ambientes muy calientes y se han encontrado en manantiales calientes en Islandia y Japón, así como en el Parque Nacional de Yellowstone en EEUU. Los viriones de SSV contienen una molecular circular de DNA de doble cadena de aproximadamente 15 kpb, lo que resulta considerablemente más corto que el genoma lineal de un fago con cola como el fago T4 (aproximadamente 168 kpd y no se conocen virus de bacterias con genomas circulares de doble cadena). Un segundo tipo morfológico de bacteriófagos de *Sulfolobus*, esta formado por un bastón helicoidal rígido (Figura 19.10c). Los virus de esta clase, conocidos como SIFV por *Sulfolobus islandicus filamentous virus* (virus filamentosos de *Sulfolobus islandicus*),

www.libros.com

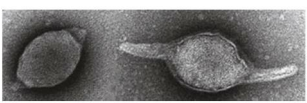


(a)



(b)

(c)



(d)

Figura 19.10 ***Arqueovirus.*** Fotografía al microscopio electrónico de *(a, b, d)* virus de crenarqueotas y *(c)* virus de euryarqueotas. *(a)* Virus ahusado SSV1 que infecta *Sulfolobus solfataricus*. Las dimensiones víricas son 40 × 80 nm. *(b)* Virus filamentoso SIFV que infecta *S. solfataricus*. Las dimensiones del virus son 50 × 900-1500 nm. *(c)* Virus ahusado PAV1 que infecta *Pyrococcus abyssi*. Las dimensiones víricas son 80 × 120 nm. *(d)* ATV, el virus que infecta al hipertermófilo *Acidianus convivator*. Cuando son liberados de la célula los viriones tienen forma de limón (virión de la izquierda), pero desarrolla apéndices en ambos extremos más tarde (virión de la derecha) que pueden llegar a crecer hasta tres veces más de lo que aquí se muestra. Los viriones son de alrededor de 100 nm de diámetro.

contienen genomas lineales de DNA de doble cadena de aproximadamente 35 kpd. Existen muchas variaciones en las estructuras de huso o de bastón, que incluyen bastones muy largos de morfología muy similar a la de los bacteriófagos filamentosos (Sección 19.2) y virus ahusados que presentan un gran centro ahusado con apéndices a cada extremo (Figura 19.10*d*).

Un virus ahusado que infecta *Acidianus convivator* (una especie de arqueas muy cercana a *Sulfolobus*) muestra un comportamiento muy peculiar. El virión recién liberado de la célula tiene forma de limón. Más tarde, desarrolla largas colas delgadas, una a cada extremo que les dan el nombre de ATV por «*Acidianus two-tailed virus*» (virus de dos colas de *Acidianus* (Figura 19.10*d*). A 85-90 °C, la temperatura optima para el crecimiento de su hospedador, las colas se forman en aproximadamente una hora. Cuando se almacenan viriones ATV con forma de limón a baja temperatura, las colas no llegan a formarse, mientras sí se almacenan a altas temperaturas si se forman. Lo que resulta más llamativo de la biología de ATV es que representa el primer ejemplo de desarrollo vírico que tiene lugar de manera totalmente independiente del contacto con una célula hospedadora. ATV contiene un genoma circular de DNA de doble cadena de aproximadamente 68 kpb y es un virus lítico. Se cree que las colas extendidas de ATV le ayudan de alguna manera a sobrevivir en el ambiente caliente y ácido (pH 1,5) donde crece *A. convivator*.

Otro virus ahusado infecta a *Pyrococcus*, una especie que pertenece al filum de arqueas euriarqueotas (Sección 17.6). Este virus, denominado PAV por *Pyrococcus abyssi* virus *1*, se parece a SSV pero es mayor y presenta una cola muy corta (Figura 19.10c). El fago PAV1 tiene un genoma circular de DNA de doble cadena de aproximadamente 18 kpb, y, curiosamente, es liberado de la celular sin necesidad de lisis, probablemente mediante un mecanismo de gemación similar al que presentan el fago filamentoso de *Escherichia coli* M13 (Sección 19.2). *Pyrococcus* es un hipertermófilo con una temperatura óptima de crecimiento de aproximadamente 100 °C, por lo que los viriones de PAV1 deben ser extremadamente termoestables. A pesar del parecido de sus morfologías, las comparaciones genómicas llevadas a cabo entre virus del tipo PAV1 y del tipo SSV muestran muy poca similitud de secuencia, indicando que estos dos virus no tienen raíces comunes en su evolución.

Replicación y evolución de virus de arqueas

Tanto la replicación como el ensamblaje de los viriones está aún por estudiar en estos virus para poder definir los eventos más relevantes en dichos procesos. No obstante, teniendo en cuenta que los genomas de estos virus son todos de DNA de doble cadena, es poco probable que dichos estudios vayan a descubrir modelos de replicación particularmente novedosos. En cualquier caso, muchos detalles moleculares en estos virus tan recientemente descubiertos, tales como cuánto del proceso de replicación recae sobre polimerasas u otras enzimas relacionadas de origen viral y cuánto sobre enzimas celulares, requieren ser investigados.

No se conocen virus de morfología ahusada que infecten especies de bacterias. Este hecho, junto con la escasa similitud que estos presentan con los virus de bacterias, sugieren que los arqueovirus no provienen del mismo ancestro que los bacteriófagos conocidos. Por otra parte, algunos estudios genómicos y estructurales han mostrado que los virus con cola de arqueas podrían tener un ancestro común con los virus con cola de bacterias. Esto podría deberse a que estos dos grupos de virus compartan raíces evolutivas comunes o podría ser el resultado de transferencia lateral (Capítulo 13.11) de genes entre fagos de bacterias y arqueas o viceversa. Tanto virus atemperados como capaces de llevar a cabo transducción (Sección 11.15) existen en arqueas, aunque de momento, son pocos los ejemplos que se conocen y aún deben ser estudiados extensamente para que puedan resultar una herramienta útil para el análisis genético de estos organismos.

19.5 Minirrevisión

Se conocen varios virus capaces de infectar arqueas. Muchos de ellos tienen genomas circulares de DNA de doble cadena, desconocidos entre virus de bacterias. Aunque estos pueden tener estructura de cabeza y cola, la mayoría de ellos tienen una poco común morfología ahusada.

- ¿En que grupos de arqueas se han descubierto fagos con estructura de cabeza y cola? ¿Tienen estos relación con los fagos con cola de bacterias?
- Compare la forma de los virus que infecta arqueas metanogénicas y halófilas con virus que infectan termófilos extremos.

III VIRUS RNA DE EUCARIOTAS

Las diferencias entre células eucariotas y procariotas imponen una serie de restricciones en los mecanismos que pueden usar los virus que las infectan. Por ejemplo, la transcripción y la traducción pueden estar acopladas en procariotas. Mientras que en eucariotas, el DNA se replica y se transcribe en el núcleo y las proteínas se sintetizan en el citoplasma. Además, los RNA mensajeros de eucariotas tienen CAP y colas de poli-A (Sección 8.8). Veremos como estos detalles son relevantes para aquellos virus que se han de replicar en células eucariotas. Ya hemos discutido algunos virus de animales en el Capítulo 10 (Sección 10.11).

Nuestro principal interés en virus animales se centra a aquellos que juegan un papel en causar enfermedades en humanos y lo que queda de este capítulo estará principalmente dedicado a ellos. No obstante, las plantas también sufren enfermedades infecciosas, algunas de las cuales están causadas por virus. De hecho, algunas enfermedades causadas por virus en plantas de cultivo tienen una tremenda importancia económica.

19.6 Virus de RNA de plantas

Las células vegetales tiene paredes extremadamente gruesas y fuertes. Y aún así hay un número considerable de virus que son capaces de infectar plantas, e incluso en plantas pluricelulares, propagarse de una célula infectada a la célula vecina. La mayoría de los virus de RNA de plantas son de cadena positiva, quizás porque estos pequeños genomas son más fácilmente transferidos de célula a célula dentro de la planta.

Virus del mosaico del tabaco: propiedades generales

En 1892, el científico ruso Dimitri Ivanovsky demostró que el agente causante de la enfermedad del mosaico del tabaco podía atravesar filtros capaces de retener bacterias. En 1898, el famoso microbiólogo holandés Martinus Beijerinck (Sección 1.9) demostró que no sólo era este agente filtrable sino que además tenía muchas de las propiedades de un organismo vivo. Este agente, el primer virus en ser identificado en el mundo, era el virus del mosaico del tabaco (TMV, *Tobacco Mosaic Virus*).

TMV presenta un virión en forma de bastón con simetría helicoidal que contiene 2130 copias de una proteína de cápsida, más una copia única del genoma de RNA de cadena positiva (Sección 10.2). TMV fue el primer virus que se utilizó para demostrar que el RNA podía constituir el material genético de algunos virus, así como el DNA lo era en otros virus o en la célula. TMV continua siendo un problema en la agricultura porque es capaz de infectar a plantas de tomate además de a las de tabaco. Para que TMV puede infectar una planta, debe producirse antes algún tipo de daño en la pared celular a través de la cual pueda entrar el virión. El RNA se liberá de la cápsida una vez dentro de la célula.

Genoma y replicación de TMV

El genoma de RNA de TMV contiene 6395 nucleótidos y el mapa del mismo se muestra en la **Figura 19.11**. Como ocurre con el bacteriófago MS2 (Sección 19.1),

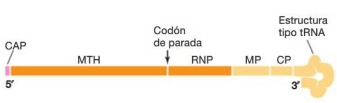


Figura 19.11 Mapa genético del virus del mosaico del tabaco. El genoma es de RNA de cadena positiva, tiene CAP en el extremo 5′ y una estructura parecida a un RNA de transferencia (dibujada a mayor escala) en su extremo 3′.

www.medilibros.com

TMV codifica tan sólo 4 proteínas. Su genoma tiene un CAP en el extremo 5′ y puede ser por tanto usado directamente como RNA mensajero y traducido en la célula vegetal. El extremo 3′ del genoma de TMV se pliega en una estructura similar a la de un RNA de transferencia (Figura 19.11). En bacterias, el genoma de un virus de RNA de cadena positiva puede actuar como RNA mensajero viral (Sección 10.7). No obstante, las células eucariotas no pueden traducir RNA mensajeros policistrónicos (Sección 8.9). por tanto la expresión de los genes de TMV es diferente de la que se lleva a cabo en los bacteriófagos de RNA.

El primer gen de TMV codifica una enzima llamada MTH que tiene dos actividades enzimáticas, una metiltransferasa que actúa en el CAP en el extremo del RNA y una helicasa de RNA. El siguiente gen codifica una polimerasa de RNA dependiente de RNA (replicasa de RNA), que el virus necesita para poder replicar la cadena positiva a cadena negativa, a partir de la cual hacer copias del RNA genómico. Esta proteína se produce como parte de una poliproteína (Seccion 19.8) que incluye el dominio MTH y que sólo es sintetizada cuando un ribosoma se salta accidentalmente el codón de terminación que hay al final del gen MTH. Ya que esto ocurre con muy baja frecuencia, esta poliproteína se produce en cantidades pequeñas.

Los dos genes restantes codifican la proteína de movimiento y la proteína de la cápsida. Estas dos proteínas se traducen a partir de pequeños RNA mensajeros monocistrónicos que son transcritos a partir de la cadena negativa de RNA. Al igual que ocurre con la proteína de la cápsida de otros virus, la de TMV es esencial para la formación del virión, que a si vez es esencial infectar una nueva planta. No obstante, es la proteína de movimiento la que permite que TMV pueda infectar las células vecinas en una planta ya infectada. Las células vegetales están interconectadas por hebras citoplasmáticas denominadas plasmodesmos y estas hebras conectan el citoplasma de células vecinas (Sección 10.14). Los plasmodesmos tienen canales muy estrechos, tan estrechos que de hecho ni los viriones ni el RNA desnudo de TMV puede atravesarlos fácilmente. La proteína de movimiento de TMV se une a la nueva cadena positiva de RNA del genoma y forma un complejo extremadamente fino (aproximadamente 2,5 nm), que puede moverse a través de los plasmodesmos e infectar así a la célula vecina.

Se conocen muchos virus de RNA de cadena positiva capaces de infectar plantas además de aquellos que infectan a bacterias (Sección 19.) y animales (Sección 19.7). Los análisis genómicos de los mismos indican que muchos de estos virus están estrechamente emparentados y sus replicasas de RNA están cercanas, a pesar de infectar a hospedadores tan diferentes. No obstante, estos virus presentan modos de replicación ligeramente distintos y las diferencias entre ellos generalmente reflejan las diferencias entre sus hospedadores.

19.6 Minirrevisión

La mayoría de los virus de RNA de plantas tienen genomas de cadena positiva y un ejemplo de ellos, el virus del mosaico del tabaco o TMV fue el primer virus en ser descubierto. Los genomas de estos virus pueden pasar a través de conexiones intercelulares que atraviesan la pared celular de las células vegetales.

- La mayoría de los virus de plantas codifican una proteína de movimiento. ¿Cuál es la función de dicha proteína?
- Aunque el genoma de TMV se puede usar como RNA mensajero, no todas las proteínas codificadas por el virus se pueden traducir a partir del mismo. Explique por qué.

19.7 Virus animales de RNA de cadena positiva: poliovirus y coronavirus

Varios virus animales de RNA de cadena positiva son causantes de enfermedades en humanos y animales, incluyendo los poliovirus, rinovirus, causantes del resfriado común, los coronavirus, que causan síndromes respiratorios, incluyendo el síndrome respiratorio agudo (SARS, de *Severe Arte Respiratory Syndrome*) y el virus de la hepatitis A. También pertenece a este grupo el primer virus animal que se descubrió, el virus de la fiebre aftosa (glosopeda) una enfermedad debilitante en animales de pezuña hendida (rumiantes) que acaba causando la muerte del animal. Con la excepción de los coronavirus, que son mucho mayores, estos virus han sido llamados picornavirus por ser típicamente pequeños (aproximadamente 30 nm de diámetro; pico significa pequeño) y contener RNA de cadena sencilla. En esta sección nos centraremos en los poliovirus y los coronavirus.

Entender la biología de los poliovirus es muy importante. Hubo un tiempo en el que la polio era la enfermedad infecciosa más importante en humanos, pero el desarrollo de una vacuna eficaz contra esta enfermedad ha hecho que esté casi completamente controlada. La organización mundial de la salud (OMS) tiene en marcha un programa de vacunación que tiene como fin erradicar esta enfermedad en el mundo y de momento, sólo se están produciendo casos en algunos países de Asia y África.

Poliovirus: características generales

El virión de los poliovirus tiene estructura icosaédrica con unas 60 unidades morfológicas por virión, estando cada unidad formada por cuatro proteínas diferentes. El genoma de los poliovirus es una molécula lineal de RNA de cadena sencilla de 7.433 pb. En el extremo 5′ del RNA viral, se localiza una proteína, llamada VPg,

que está unida covalentemente al RNA. En el extremo 3′ del RNA hay una cola de poliadeninas. El genoma de RNA de este virus actúa como RNA mensajero a pesar de no tener CAP, lo que normalmente supone un prerrequisito a la traducción en eucariotas (Sección 8.8). En lugar de eso, el RNA del poliovirus tiene una larga secuencia que puede plegarse formando varios bucles. La proteína VPg y los bucles imitan al complejo CAP y por tanto permite la unión del RNA mensajero del poliovirus al ribosoma.

Aunque el RNA viral es monocistrónico y sólo tiene un codón de iniciación, es capaz de codificar todas las proteínas del virus. El truco esta en que la proteína que se produce a partir de este inicio es una **poliproteína**. Esta proteína gigante (aproximadamente 2.200 aminoácidos), es autoprocesada dando lugar a 20 proteínas de menor tamaño (incluyendo los intermediarios de la escisión), entre las cuales se incluyen las cuatro proteínas estructurales del virión. Otras de estas proteínas son la proteína de unión al RNA, VPg una replicasa de RNA responsable de la síntesis de las cadenas negativa y positiva y al menos una proteasa viral, que lleva a cabo la escisión de la poliproteína. Este proceso denominado procesamiento post-traduccional, ocurre en muchos virus animales, así como en el metabolismo normal de muchas células animales. La traducción de un RNA mensajero de cadena positiva para dar lugar a una poliproteína que a continuación es procesada es un mecanismo que también utilizan otros virus (Sección 19.15)

Replicación de los poliovirus de RNA

Un resumen de la replicación de los poliovirus se ilustra en la **Figura 19.12.** El proceso de replicación tiene lugar enteramente en el citoplasma de la célula hospedadora. Para iniciar la infección, el virión del poliovirus se une a un receptor específico presente en la superficie de las células sensibles y penetra en la célula. Una vez dentro, la partícula vírica pierde la cápsida y libera el RNA que se asocia entonces a ribosomas. El RNA viral es así traducido para dar lugar a la gran poliproteína ya mencionada.

La replicación del RNA viral comienza poco después de la infección y es catalizada por la replicasa de RNA que se forma a partir del procesamiento de la poliproteína. Esta replicasa utiliza la cadena positiva del RNA viral como molde para sintetizar la cadena negativa complementaria. Esta cadena es entonces utilizada para replicar varias copias de cadenas positivas mediante la misma replicasa. Algunas de estas cadenas positivas serán utilizadas de nuevo para dar lugar a más cadenas negativas de tal manera que puede llegar a haber hasta 1.000 cadenas negativas en una sola célula. Y a partir de todas estas pueden formarse hasta un millón de cadenas positivas. Tanto las cadenas positivas como las negativas se unen covalentemente a las pequeñas proteínas VPg (tienen sólo 22 aminoácidos), que funciona como cebador para la síntesis de RNA.

Una vez que el proceso de replicación se ha iniciado, la transcripción y traducción del hospedador se inhibe

www.miracleros.com

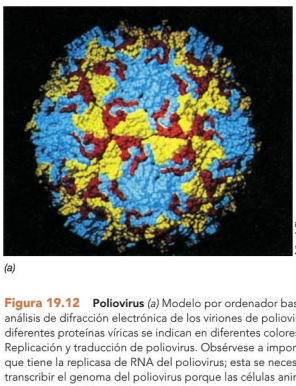


Figura 19.12 **Poliovirus** *(a)* Modelo por ordenador basado en análisis de difracción electrónica de los viriones de poliovirus. Las diferentes proteínas víricas se indican en diferentes colores. *(b)* Replicación y traducción de poliovirus. Obsérvese a importancia que tiene la replicasa de RNA del poliovirus; esta se necesita para transcribir el genoma del poliovirus porque las células animales no pueden sintetizar RNA usando RNA como molde.

tras eliminarse la proteína CAP, necesaria para modificar los RNA mensajeros del hospedador para que puedan ser traducidos (Sección 8.8). Los RNA mensajeros del poliovirus no se ven afectados al tener una extensa estructura secundaria en el extremo 5′ que como ya hemos mencionado permite su unión a ribosomas. **www.microbiologyplace.com Tutorial online 19.1: Replicación de Poliovirus.**

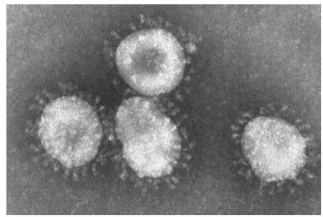
Coronavirus y SARS

Los coronavirus son virus de RNA de cadena sencilla y positiva que, al igual que los poliovirus, se replican en el citoplasma, pero se diferencias de estos en que son mucho más grandes y su replicación presenta aspectos distintos. Los coronavirus causan infecciones respiratorias en humanos y otros animales, incluyendo aproximadamente el 15% de los resfriados comunes (Sección 34.8). En el 2003, un nuevo coronavirus causó varios episodios de SARS, una neumonía del tracto respiratorio inferior que puede resultar mortal en humanos.

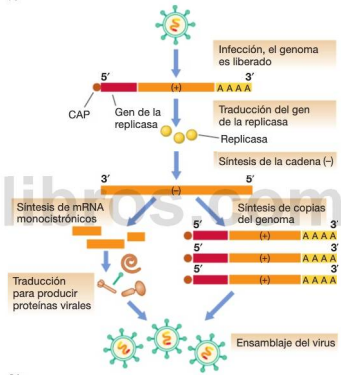
Los viriones de coronavirus están recubiertos y son más o menos esféricos de entre 60 y 220 nm de diámetro y poseen una extensiones de glicoproteína con forma de porra en su superficie (**Figura 19.13**). Estas estructuras le dan al virus el aspecto de llevar corona del cual procede su nombre. Los genomas de los coronavirus son notables ya que constituyen los de mayor tamaño de entre todos los virus de RNA conocidos (27 a 31 kpb; las cepas de SARS tienen de media 29.700 nucleótidos).

El genoma de los coronavirus tiene el extremo 5′ unido a un CAP metilado y un extremo 3′ con una cola de poli-A, por lo que puede funcionar directamente como RNA mensajero en la célula animal. No obstante, la mayor parte de las proteínas del virus no proceden de la traducción de RNA genómico. En vez de eso, tras la infección, sólo una porción del genoma es traducido, produciendo una replicasa de RNA. Esta replicasa utiliza el RNA genómico como molde para producir una cadena negativa completa a partir de la cual se transcriben varios RNA mensajeros monocistrónicos, que son luego traducidos a proteínas virales. Los genomas de la progenie también se forman por transcripción a partir de la cadena negativa de RNA. Los viriones se ensamblan en el aparato de Golgi, el principal orgánulo secretor de las células eucariotas (Sección 18.5), dando viriones completos que son transportados y liberados en la superficie celular.

Así, los coronavirus difieren de los poliovirus en cuanto al tamaño del virión, el tamaño del genoma, la presencia de CAP y la ausencia de proteína VPg y la formación de poliproteína y su posterior procesamiento. No obstante, al igual que los poliovirus, los coronavirus causan enfermedades graves, incluyendo una infección mortal aguda rara vez vista en polio. La tasa de mortalidad del SARS varía entre un 13% en individuos menores de 60 años al 45% en los mayores (Información adicional, «SARS como un ejemplo del éxito de una epidemia» Capítulo 33).



(a)



(b)

Figura 19.13 Coronavirus *(a)* Fotografía al microscopio electrónico de un coronavirus. *(a)* Pasos de la replicación de un coronavirus. El RNA mensajero que codifica las proteínas virales se transcribe a partir de la cadena negativa sintetizada por la replicasa de RNA utilizando el genoma viral como molde.

19.7 Minirrevisión

En pequeños virus de RNA como los poliovirus, el RNA viral es traducido directamente dando lugar a una poliproteína que se rompe enzimáticamente dando lugar a muchas proteínas de menor tamaño necesarias para la replicación del material genético y el ensamblaje del virus. Los coronavirus son virus de RNA de cadena sencilla de gran tamaño que se parece a los poliovirus en algunas de sus características pero no en todos los aspectos de su replicación.

- ¿Cómo pueden los poliovirus de RNA ser sintetizados en el citoplasma mientras que el RNA del hospedador debe serlo en el núcleo?
- ¿En qué manera son la síntesis de proteínas y la replicación genómica similares o diferentes en poliovirus y el virus causante del SARS?

19.8 Virus animales de RNA de cadena negativa: rabia, gripe y virus relacionados

La replicación de poliovirus y coronavirus requiere la conversión del genoma de cadena positiva a un intermediario de cadena negativa, a partir del cual generar nuevas cadenas positivas. No obstante, en un buen número de virus animales de RNA, el RNA genómico es de **cadena negativa** o sea el **RNA** es el complementario del RNA mensajero. A estos virus se les denomina virus de RNA de cadena negativa. Aquí discutiremos dos ejemplos importantes: los rhabdovirus, incluyendo el virus de la rabia y lor ortomixovirus, incluyendo el virus de la gripe. El virus Ébola, un patógeno de humanos responsable de una enfermedad infecciosa emergente, también es un virus de RNA de cadena negativo. No se conocen bacteriófagos o arqueovirus de RNA de cadena negativa.

Rhabdovirus: aspectos generales

Uno de los virus patógenos de RNA de cadena negativa es el virus de la rabia, que causa la rabia en animales y humanos. Cada año se producen más de 30.000 casos de rabia en humanos en el mundo, la mayoría de ellos mortales y un número aún mayor y difícil de estimar en animales domésticos y salvajes (Sección 35.1). El virus de la rabia se conoce como rhabdovirus por el termino *rhabda* que significa bastón en referencia a la forma de la partícula vírica. Otro rhabdovirus que ha sido ampliamente estudiado es el virus de la estomatitis vesicular (VSV, de *Vesicular Stomatitis Virus*) (**Figura 19.14**), un virus que causa estomatitis vesicular en ganado vacuno, cerdos, caballos y en ocasiones humanos. Muchos rhabdovirus, tales como el virus del enanismo amarillo de la patata, infecta tanto insectos como a plantas y puede causar grandes pérdidas en agricultura.

Los rhabdovirus poseen una extensa y muy compleja envoltura lipídica que rodea la nucleocápsida. En rhabdovirus, el virión tiene forma de bala, de 70 nm de diámetro y 175 nm de largo (Figura 19.14). La nucleocápsida presenta simetría helicoidal y supone sólo una pequeña parte del peso de la partícula vírica (aproximadamente el 2 al 3% del virión es RNA).

Replicación en Rhabdovirus

El virión de rhabdovirus contiene varias enzimas esenciales para el proceso de infección. Una de estas enzimas es una polimerasa de RNA dependiente de RNA (replicasa de RNA). Tal y como se ha discutido previamente (Sección 10.7), la presencia de dicha enzima es esencial ya que los genomas de virus de cadena negativa no pueden ser traducidos directamente, sino que requieren ser convertidos a cadena positiva previamente; el hospedador carece de enzimas capaces de transcribir RNA a partir de un molde de RNA.

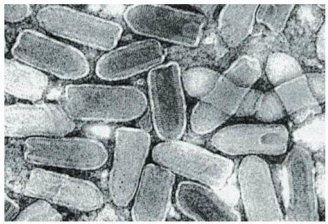


Figura 19.14 Fotografía al microscopio electrónico de un rhabdovirus (el virus de la estomatitis vesicular). Una partícula tiene aproximadamente 65 nm de diámetro.

El RNA de rhabdovirus se transcribe en el citoplasma dando lugar a dos clases diferentes de RNA (**Figura 19.15**).

www.medilibros.com

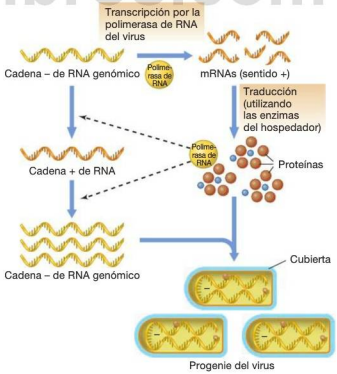


Figura 19.15 Cadena de eventos que se producen durante la replicación de un virus de RNA de cadena negativa. Obsérvese la importancia de la polimerasa de RNA viral transportada en el virión. Este hecho es crítico ya que las células animales no pueden sintetizar RNA a partir de un molde de RNA.

La primera clase es una serie de RNA mensajeros que codifican los genes estructurales del virus (por ejemplo, VSV tiene cinco genes). Todos los RNA mensajeros son monocistrónicos y codifican sólo una proteína. La segunda clase de RNA son RNA de cadena positiva que suponen una copia completa del genoma vírico (el genoma de VSV tiene 11.162 nucleótidos). Estos RNA completos de cadena positiva sirven de molde para la síntesis de moléculas de RNA genómicas de cadena negativa que den lugar a los viriones de la descendencia. Una vez que el RNA mensajero que codifica la RNA polimerasa del virus se produce en el proceso de transcripción primaria, se lleva a cabo la síntesis de la proteína, lo que da lugar a la formación de más moléculas de RNA de cadena positiva, tanto de RNA mensajeros como de moldes de RNA para el genoma (Figura 19.15).

Ensamblaje de los rhabdovirus

La traducción de los RNA mensajeros virales conduce a la síntesis de las proteínas de la cápsida. El ensamblaje de un virus con envoltura es considerablemente más complejo que el de un virión desundo. Se producen dos tipos de proteínas de envoltura, las de la **nucleocápsida** y las de la envoltura. La nucleocápsida se forma por asociación de las primeras alrededor del RNA viral.

Las proteínas de la envoltura poseen una secuencia líder de aminoácidos hidrofóbicos en su extremo aminoterminal (Sección 7.17). Conforme se van formando estas proteínas, se les van añadiendo residuos de azucares, dando lugar a la formación de glicoproteínas. Dichas glicoproteínas virales, características de proteínas asociadas a membranas, migran hacia la membrana citoplasmática donde se les eliminan las secuencias líder y pasan a reemplazar proteínas de la membrana del hospedador. Las nucleocápsidas migran entonces a áreas de la membrana citoplásmica donde se localizan las glicoproteínas virales, reconociéndolas con gran especificidad. La nucleocápsida se alinea entonces con las glicoproteínas y gema a través de ellas, resultando reenvolturas por las mismas en el proceso.

El resultado final es un virión con envoltura con una nucleocápsida en el centro, rodeado de una membrana cuyos lípidos proceden de la membrana de la célula hospedadora, pero cuyas proteínas son de origen vírico. El proceso de gemación no produce daño detectable a la célula, que puede continuar liberando viriones de esta manera por un período considerablemente largo de tiempo. Finalmente se acaba produciendo daño al hospedador, por supuesto, pero este es causado por otros factores que el de la producción de virus.

Gripe y otros ortomixovirus

Otro grupo de virus de cadena negativa son los ortomixovirus, que incluyen a un importante patógeno de humanos, el virus de la gripe. El término «mixo» hace referencia al moco o secreción mucosa de las superficies celulares con las que estos virus interaccionan. En el caso del virus de la gripe, esta mucosidad corresponde a la membrana mucosa del tracto respiratorio; el virus de la gripe es principalmente transmitido por vía respiratoria (Sección 34.9). El término «orto» distinge este grupo de otro grupo de virus de cadena negativa, los paramixovirus. Los paramixovirus, que incluyen patógenos humanos tan importantes como el virus de las paperas y el del sarampión, son bastante parecidos a los rhabdovirus en cuanto a su biología molecular.

Los ortomixovirus han sido extensamente estudiados durante muchos años, datando el inicio de estos estudios de principios del siglo XX, a raíz de una pandemia de gripe que tuvo lugar en 1918 y que causó la muerte de millones de personas en todo el mundo. Los ortomixovirus son virus con envoltura en los cuales el RNA viral esta presente en el virón en una serie de trozos separados. Por tanto el genoma de los ortomixovirus es un genoma segmentado. En el caso del virus de la gripe A, el genoma está segmentado en ocho fragmentos lineales de cadena sencilla que van desde 890 a 2.341 nucleótidos. La nucleocápsida del virus de la gripe presenta simetría helicoidal, tiene entre 6 y 9 nm de diámetro y aproximadamente 60 nm de largo. Esta nucleocápsida está embebida en una envoltura que contiene varias proteínas de origen vírico, así como lípidos del hospedador (**Figura 19.16**).

Debido a la manera en la que se produce la gemación que libera al virus de la gripe de la célula infectada, el virus no tiene una forma definida y se dice que es muy polimórfico (Figura 19.16*a*). En la parte exterior de la envoltura, hay presentes proteínas que interaccionan con la superficie del hospedador. Una de estas proteínas se denomina hemaglutinina, que es llamada así porque causa la aglutinación de los glóbulos rojos de la sangre. Los glóbulos rojos no son el tipo de célula hospedador normalmente infectada por este virus, pero estos tienen en su superficie el mismo componente de membrana, el ácido siálico, que las membranas de las células de las mucosas de las vías respiratorias. Por tanto, los glóbulos rojos resultan un tipo celular muy conveniente para llevar a cabo ensayos para determinar aglutinación. Un aspecto importante de la hemaglutinina del virus de la gripe es que el uso de anticuerpos específicos contra esta hemaglutinina impiden que el virus infecte a una célula. Por tanto, el uso de anticuerpos contra la hemaglutinina neutraliza al virus y es el mecanismo que se utiliza para producir inmunidad contra la gripe en la vacunación (Sección 34.9).

Un segundo tipo de proteína de la superficie del virus de la gripe es una enzima llamada neuraminidasa (figura 19.16*b*). La neuraminidasa rompe el ácido siálico de la membrana citoplásmica del hospedador que es un derivado del ácido neuramínico. La neuraminidasa parece actuar fundamentalmente durante el proceso de ensamblaje del virus, eliminando el ácido siálico de la membrana del hospedador que de otra manera bloquearía el ensamblaje o sería incorporado dentro de la partícula vírica madura.

Replicación del virus de la gripe

Además de neuraminidasa, los viriones de la gripe tienen otras dos enzimas claves, una polimerasa de RNA depen-

Figura 19.16 **Virus de la gripe.** *(a)* Fotografía al microscopio electrónico de viriones de la gripe humana. *(b)* Diagrama que muestra algunos de los componentes, incluyendo el genoma segmentado.

diente de RNA (replicasa de RNA), que convierte el genoma de cadena negativa en cadena positiva (como ya hemos discutido para los rhabdovirus) y una endonucleasa de RNA, que corta un cebador a partir de RNA mensajeros precursores con CAP del hospedador. El virión entra en la célula después de que la nucleocápsida se haya separado de la envoltura y emigrado al núcleo. Entonces el ácido nucleico viral se replica en el núcleo.

La liberación de la envoltura activa la replicasa de RNA. Las moléculas de RNA mensajero se transcriben en el núcleo a partir del RNA del virus, utilizando como cebadores oligonucleótidos derivados de un corte llevado a cabo por la endonucleasa viral en el extremo 5′ de RNA mensajeros del hospedador con CAP recién sintetizados. Por tanto los RNA mensajeros del virus llevan CAP en su extremo 5′. A dichos mensajeros se les añaden colas de poli-A en su extremo 3′ y son llevados al citoplasma para que sean traducidos. Así, aunque el virus de RNA de la gripe se replica en el núcleo, las proteínas virales, como todas las proteínas virales, son sintetizadas en el citoplasma.

Los ocho segmentos del genoma del virus de la gripe codifican diez proteínas. Los RNA mensajeros se transcriben a partir de seis de los segmentos dando lugar cada uno de ellos a una proteína, mientras que los otros dos segmentos codifican dos proteínas cada uno. Estos últimos no son traducidos como RNA mensajeros policistrónicos como en procariotas ya que los ribosomas eucariotas sólo reconocen como codón de iniciación el AUG más cercano al extremo 5′ de un RNA mensajero (Sección 8.9). De modo que sólo pueden fabricar una proteína de cada molécula de RNA. Así, los dos RNA mensajeros completos transcritos a partir de esos dos segmentos son inicialmente traducidos dando lugar solo a una proteína cada uno. Pero en cada uno de los casos, se traduce una proteína adicional a partir del mensajero tras la maduración del mismo por la acción de la maquinaria de maduración de RNA del hospedador.

Algunas de las proteínas que se producen son necesarias para la replicación del virus de la gripe, mientras que otras son proteínas estructurales del virión. El patrón general de síntesis de RNA genómico recuerda al de los rhabdovirus, con una síntesis inicial de RNA que da lugar a la formación de moldes de RNA de cadena positiva, que es después utilizada para producir la progenie de moléculas de RNA de cadena negativa. La envoltura completa del virión se forma por gemación como en los rabdovirus.

Conversión antigénica frente a deriva antigénica en la gripe

El genoma segmentado del virus de la gripe tiene importantes consecuencias en la práctica. El virus de la gripe y otros virus de esta familia presentan un fenómeno llamado **conversión antigénica** durante el cual partes del genoma de RNA de dos cepas de virus genéticamente distintas que se encuentran infectando la misma célula se intercambian. Así se generan viriones que expresan un conjunto de proteínas de superficie considerablemente distintas a los virus originales. Las proteínas de superficie son las principales dianas para los anticuerpos generado tras un proceso de inmunización, ya se hayan generado por métodos artificiales o durante una infección natural. No obstante, tras una conversión antigénica, la inmunidad previamente adquirida frente a la cepa vírica original no es suficiente para proteger contra la infección provocada por los genéticamente «nuevos» virus. La conversión antigénica se cree que es un factor determinante en el origen de las grandes pandemias y epidemias de gripe, porque básicamente no hay inmunidad en la población contra las nuevas formas del virus.

La conversión antigénica contrasta con la **deriva antigénica**. Es esta última, las estructuras de la neuraminidasa y la hemaglutinina presentes en la superficie del virus

de la gripe se alteran sutilmente, por mutación de los genes que las codifican. Estas alteraciones suponen suficientes cambios en la superficie del virus como para evitar el reconocimiento por anticuerpos desarrollados frente a las cepas anteriores o si se produce dicho reconocimiento, este sea menos eficiente. Por tanto, para conseguir una inmunidad eficaz se deben producir nuevos anticuerpos. Esta el la principal razón por la cual las vacunas contra la gripe rara vez son eficaces más de un año (Sección 34.9). La deriva génica que tiene lugar durante un años produce formas del virus de la gripe ligeramente modificadas para las cuales se necesitan nuevas vacunas.

19.8 Minirrevisión

En virus de RNA de cadena negativa, el genoma no actúa como RNA mensajero sino que debe ser copiado a RNA mensajero por una enzima presente en el virión. Virus de RNA de cadena negativa importantes para humanos incluyen el virus de la rabia y el de la gripe.

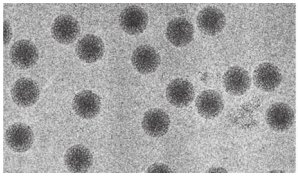
- ¿Porqué es esencial que los virus de cadena negativa lleven una enzima dentro del virión?
- ¿Qué es un genoma segmentado?
- ¿Cuál es la diferencia entre conversión antigénica y deriva antigénica?

19.9 Virus de RNA de doble cadena: reovirus

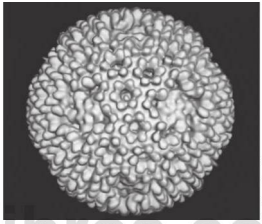
Los reovirus son una importante familia de virus animales que tiene genomas de RNA de doble cadena. Los rotavirus son reovirus típicos y la causa de diarrea más común entre niños de entre 6 y 24 meses. También se conocen reovirus causantes de infecciones respiratorias y virus que infectan plantas; ya mencionamos previamente que el bacteriófago $\phi 6$ parece estar muy emparentado con los reovirus (Sección 19.1). Los viriones de reovirus consisten en una nucleocápsida sin envoltura de entre 60 y 80 nm de diámetro con una envoltura doble de simetría icosaédrica (**Figura 19.17**). Como es de esperar, los viriones de estos RNA de cadena doble contienen las enzimas víricas necesarias para sintetizar RNA mensajero y nuevos genomas de RNA.

Replicación en reovirus

El genoma de los reovirus está segmentado en 10 ó 12 moléculas de RNA lineal de doble cadena. La replicación ocurre exclusivamente en el citoplasma del hospedador. El RNA de cadena doble no actúa como RNA mensajero y el primer paso de la replicación de un reovirus es la transcripción mediante una polimerasa de RNA dependiente de RNA vírica utilizando la cadena negativa como molde para dar lugar a RNA mensajero (cadena positiva). El RNA mensajero es modificado por adición de CAP y metilado por enzimas víricas y traducido a continuación.



(a)



(b)

Figura 19.17 Virus de DNA de doble cadena: Los *reovirus*. *(a)* Fotografía al microscopio electrónico de viriones de reovirus (cada uno con un diámetro de unos 70 nm). *(b)* Reconstrucción tridimensional de un virión de reovirus calculado a partir de fotografía al microscopio electrónico de viriones congelados e hidratados.

En general, cada molécula de RNA codifica una única proteína, aunque en algunos casos la proteína final es escindida para dar el producto final. No obstante, uno de los RNA mensajeros de los reovirus codifica dos proteínas, sin requerir procesamiento de RNA mensajero para ello. En su lugar, lo que ocurre es que el primer codón de iniciación no es reconocido en ocasiones por el ribosoma que, saltándose así la traducción del primer, continúa a lo largo del mensajero iniciando la traducción en otro codón AUG, que es el inicio de traducción del segundo gen. Por tanto, hay excepciones ocasionales a la regla general de que los ribosomas únicamente inician la traducción en el primer AUG del mensajero.

En el proceso inicial de infección, el virión de reovirus se une a un receptor celular de carácter protéico. El virus así unido entra en la célula y es transportado a lisosomas (Sección 18.5), donde sería normalmente destruido. No obstante, una vez dentro del lisosoma la envoltura externa de la partícula vírica se modifica por la eliminación de dos proteínas y el corte de otra por enzimas lisosomales. Entonces, el núcleo central del virus rodeado única-

www.medilibros.com

mente por la envoltura protéica interna, es liberada al citoplasma de la célula hospedadora.

Este proceso de liberación de la envoltura libera la polimerasa de RNA viral, iniciándose así la replicación del virus que tiene lugar dentro de ese núcleo central, al que se denomina partícula subviral, que permanece intacta dentro de la célula hospedadora. Cada uno de los fragmentos de RNA de cadena sencilla y positiva modificados con CAP son utilizados para la síntesis de la cadena complementaria. Esto finalmente da lugar a la progenie de doble cadena del genoma de RNA de este virus, que es entonces encapsidado. Cuando se han producido suficientes proteínas de la cápsida, se ensamblan los viriones y se produce la lisis celular que lleva a su liberación.

19.9 Minirrevisión

Los reovirus contienen genomas segmentados lineales de RNA de doble cadena. Al igual que los virus de RNA de cadena negativa, los reovirus tiene una polimerasa de RNA dependiente de RNA dentro del virión.

▮ ¿Cómo se parece la replicación del genoma de un reovirus a la del virus de la gripe y en que se diferencia?

www.medil

IV VIRUS DE DNA DE EUCARIOTAS

Los virus de DNA de eucariotas son mucho menos habituales que los de RNA. Se conocen virus de DNA de cadena sencilla que infectan tanto animales como plantas y lo mismo ocurre con los de cadena doble.

Los virus de DNA de cadena doble incluyen algunos importantes que causan enfermedades en humanos y algunos virus de gran tamaño, muy interesantes, que causan infecciones en plantas y protozoos.

19.10 Virus vegetales de DNA

Los virus de DNA que infectan plantas son particularmente escasos. No obstante, se conocen algunos excepcionalmente grandes que infectan plantas unicelulares. Algunos virus cercanos a estos son capaces de infectar algunos protozoos (Información adicional, «Mimivirus y evolución vírica»).

Virus de DNA de plantas: el virus de *Chlorella*

Las algas verdes son plantas y *Chlorella* es un genero de algas verdes microscópicas de amplia distribución. La mayoría de las especies de este género son organismos de vida libre, aunque algunas son endosimbiontes de animales marinos o de agua dulce, incluyendo protozoos del tipo de *Paramecium* (Sección 18.21). Muchos de estos endosimbiontes puede cultivarse en el laboratorio de manera independiente y algunos de ellos son infectados por virus; el mejor estudiado de estos es *Paramecium bursaria Chlorella virus* 1 (PBCV-1). PBCV-1 pertenece a una gran familia de virus muy extendidos que se conocen como phycodnavirus. Los miembros de esta familia son capaces de infectar tanto cepas de *Chlorella* que crecen como endosimbiontes dentro de otras células, como especies de algas unicelulares de vida libre.

PBCV-1 tiene grandes viriones icosaédricos (**Figura 19.18**) y un genoma lineal de DNA de doble cadena. Los viriones tiene un componente lipídico esencial para la infección pero que se localiza dentro de la cápsida; por tanto el virión no tiene envoltura. Los genomas de los virus Chlorella son extraordinariamente grandes; todos tienen más de 300 kpb (para ver una comparación con otros virus consulte Tabla 10.1). En muchos casos el DNA está también extensamente modificado por metilación. El genoma de PBCV-1 se ha secuenciado en toda su extensión. Este genoma de 330.742 pb codifica más de 370 proteínas diferentes y 10 RNA transferentes. Los extremos del genoma poseen bucles de apareamiento parcial muy similares a los que se pueden encontrar en poxvirus (Sección 19.14)

Replicación de *virus de Chlorella*

PBCV-1 entra en la célula de manera parecida a la de los bacteriófagos. El virión se une de manera específica a la pared celular del hospedador y entonces al menos cinco enzimas distintas almacenadas en el virión digieren la pared celular en el punto de contacto. El DNA viral es en-

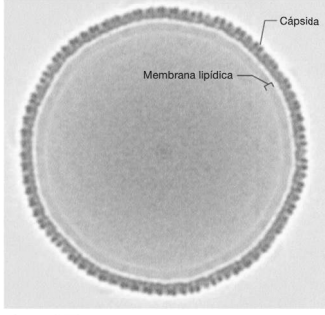


Figura 19.18 Sección de un virión de virus PBCV-1 de *Chlorella*. Una membrana compuesta por una bicapa lipídica es claramente visible bajo la envoltura. El virión tiene un diámetro aproximado de 170 nm. La imagen ha sido reconstruida a partir de varias fotografías al microscopio electrónico de transmisión.

Mimivirus y la evolución de los virus

El mimivirus es el virus más grande que se conoce, tanto en términos físicos como de su genoma. Cuando se descubrió, se confundió con un coco grampositivo porque se teñía con la tinción de Gram y era tan grande como algunas bacterias pequeñas. El mimivirus tiene una cápsida icosaédrica de aproximadamente 500 nm de diámetro rodeada de filamentos de aproximadamente 125 nm, dando un diámetro total de 750 nm (**Figura 1**). La cápsida muestra tres capas de materia densa al microscopio electrónico, probablemente compuestas por dos membranas lipídicas envolturas en una envoltura proteica.

El mimivirus contiene 1,2 Mpb de DNA de doble cadena que codifica aproximadamente 911 proteínas. Su genoma es por tanto dos veces mayor que el siguiente virus en tamaño, el bacteriófago G de *Bacillus subtilis* (497.513 pb) y tres veces mayor que el del PBCV-1 (330.743 pb) discutido en la Sección 19.10. Además, el genoma del mimivirus es más grande que varios organismos celulares, como los micoplasmas. De las 911 proteínas que codifica el mimivirus, sólo unas 300 tienen funciones predecibles por homología con otras proteínas. No obstante de las 600 proteínas sin homología con ninguna secuencia de ninguna base de datos, casi 50 se localizan en la partícula vírica. Por tanto al menos estas 50 deben ser genuinas proteínas funcionales y no mera «basura genética», como a veces se sugiere para muchas proteínas de función no identificada que se encuentran en muchos virus.

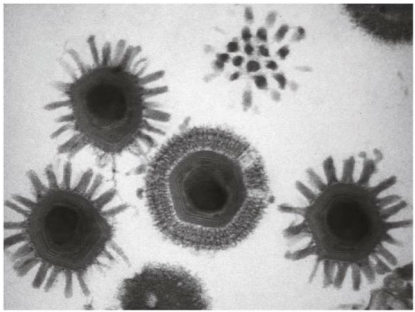


Figura 1 **Mimivirus: Los virus más grandes del mundo.** Los viriones de mimivirus se pueden ver en esta fotografía de un corte bajo el microscopio electrónico de transmisión. Cada virión tiene un diámetro de alrededor de 750 nm, unas tres cuartas partes del diámetro de una célula de *Escherichia coli*.

El mimivirus infecta normalmente la ameba *Acanthamoeba polyphaga*. También podría causar neumonía en humanos, aunque las pruebas de ello son en su mayoría indirectas y se basan

tonces liberado dentro de la célula dejando fuera un virión vacío. Como en el caso de la mayoría de los virus de DNA de doble cadena de eucariotas, el DNA de PBCV-1 es replicado en el núcleo y el RNA también es sintetizado allí. PBCV-1 codifica varias enzimas dedicadas a la replicación del DNA, incluyendo una polimerasa de DNA. No obstante, aunque PBCV-1 codifica algunos factores de transcripción, no codifica su propia polimerasa de RNA. Unos pocos de los genes de PBCV-1 contienen intrones que deben ser eliminados (Sección 8.8). El RNA mensajero del virus lleva CAP y algunas de las enzimas que participan en su modificación están codificadas por el virus. El RNA mensajero temprano, aunque no el tardío, tienen colas de poli-A. Al igual que el bacteriófago T4 y otros virus grandes de DNA, PBCV-1 codifica varios de sus propios RNA transferentes.

Otro aspecto extremadamente interesante que hay que mencionar al respecto de los *virus de Chlorella* es que sus genomas codifican varias enzimas de modificación y restricción (Sección 12.1). De hecho, son la única fuente de enzimas de restricción que no procede de procariotas o de unos pocos bacteriófagos. Así que podemos observar aspectos en los *virus de Chlorella* típicos de elementos genéticos tanto procariotas como eucariotas.

(continuación)

en la identificación en algunos pacientes de neumonía de anticuerpos frente al mimivirus. No obstante, un técnico de laboratorio que trabajaba con este virus contrajo una neumonía, con toda probabilidad debido a este virus ya que en su sangre se pudieron aislar partículas víricas.

El mimivirus pertenece a un grupo de grandes virus que contienen grandes genomas conocido como los grandes virus de DNA nucleocitoplasmáticos (NCLDV) (**Figura 2**). El grupo NCLDV comprende varias familias víricas, entre las que se incluyen los poxvirus (Sección 19.13) y los phycodnavirus (Sección 19.10). Estos virus tienen todos en común un conjunto de proteínas altamente homólogas, la mayoría de las cuales están implicadas en replicación del DNA. Todos los NCLDV tienen una capa lipídica interna rodeando el núcleo central con una envoltura proteica por fuera de esta. Por tanto estos virus realmente no tienen envoltura. Todos estos virus contienen no sólo algunas enzimas sino que también llevan RNA mensajero dentro del virión. En concreto, contienen RNA mensajero que codifica la polimerasa de DNA del virus.

Búsquedas en las bases de datos de secuencias de DNA presentes en muestras del ambiente implican que grandes virus cercanos al mimivirus are razonablemente frecuentes en la naturaleza. En concreto se han encontrado genes relacionados con los de mimivirus entre secuencias procedentes de ambientes marinos.

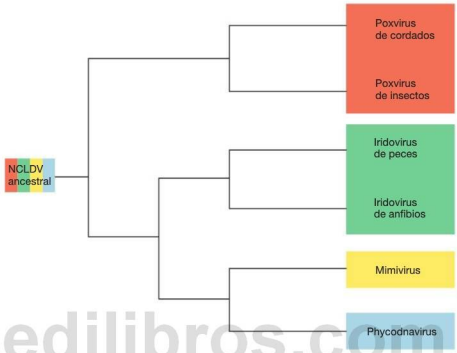


Figura 2 **Grandes virus de DNA nucleocitoplasmáticos (NCLDV).** El árbol filogenético muestra las relaciones genómicas entre poxvirus, iridovirus (grandes virus de peces y anfibios), phycodnavirus (grandes virus de DNA de doble cadena de plantas y algas verdes) y Mimivirus.

www.medilibros.com

19.10 Minirrevisión

Algunos de los virus de mayor tamaño que se conocen infectan algas unicelulares. Los *virus de Chlorella* tienen genomas de DNA de doble cadena de gran tamaño que codifican varios cientos de proteínas.

- ¿Qué aspectos de los *virus de Chlorella* son como los de procariotas?
- ¿Qué aspectos de los *virus de Chlorella* son como los de eucariotas?
- ¿Qué tiene de poco común el genoma de los Mimivirus?

19.11 Replicación de virus animales de DNA de doble cadena

Se conoce un gran número de virus animales de DNA de doble cadena, entre los que se encuentran varios patógenos de humanos. En este grupo se incluyen los virus del polioma y del papiloma, así como los herpesvirus, poxvirus y adenovirus. Los genomas de todos ellos replican en el núcleo, salvo los de poxvirus que lo hacen en el citoplasma. En las siguientes secciones discutiremos la replicación de cada uno de estos grupos de virus.

Poliomavirus: SV40

Algunos virus de esta familia pueden inducir la formación de tumores en animales; de hecho, el sufijo «oma» quiere decir tumor. Uno de estos virus inductores de tumores fue el primero que se identificaba en monos y por esa razón se le llamó SV40 (por *simian virus* 40). El virus SV40 fue uno de los primeros que se estudió utilizando técnicas de ingeniería genética y ha sido de hecho utilizado extensamente como vector para introducir genes en células eucariotas (Sección 12.13).

El virión de SV40 no tiene envoltura y tiene un tamaño de 45 nm de diámetro con una cabeza icosaédrica formada por 72 subunidades protéicas. A diferencia de los virus de RNA, el virión no contiene enzimas. El genoma de SV40 está formado por una molécula de DNA de doble cadena de 5.243 pb. El DNA es circular (**Figura 19.19**) y está superenrollado dentro del virión. Se conoce su secuencia completa y su mapa genético se muestra en la **Figura 19.20**.

El genoma de SV40 se replica en el núcleo y sus proteínas son sintetizadas en el citosol. El virión se ensambla en el núcleo. La replicación de estos virus puede dividirse en dos estadios claramente distintos, temprano y tardío. Durante la fase temprana, se transcribe la región temprana del virus (Figura 19.20). La RNA polimerasa celular produce una molécula única de RNA, el transcrito primario, pero éste es rápidamente procesado para dar dos RNA mensajeros, uno grande y uno pequeño, ambos portadores de CAP. Como el genoma de SV40 contiene intrones, estos tienen además que ser eliminados del transcrito primario. Ya en el citoplasma, los dos RNA mensajeros son traducidos para dar lugar a dos proteínas. Una de estas es el antígeno T, que se une a lugar del DNA del virus que contiene el origen de replicación, iniciando así la replicación del genoma viral.

El genoma de SV40 es demasiado pequeño para que codifique su propia polimerasa de DNA, por lo que utiliza la del hospedador. El DNA se replica bidireccionalmente (Figura 7.16), a partir de un único origen de replicación. Este proceso implica los mismos eventos que ya hemos descrito cuando hablábamos de la replicación del DNA en la célula (Secciones 7.5 y 7.6).

Figura 19.19 ***Poliomavirus.*** Fotografía al microscopio electrónico de DNA circular relajado (no superenrollado) de un virus de un tumor. La longitud del contorno de cada círculo es de aproximadamente 1,5 µm.

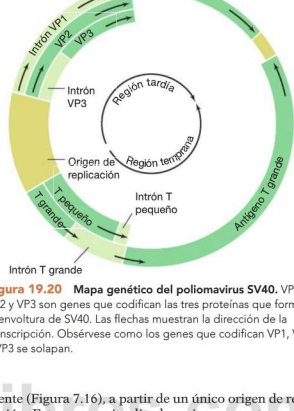


Figura 19.20 **Mapa genético del poliomavirus SV40.** VP1, VP2 y VP3 son genes que codifican las tres proteínas que forman la envoltura de SV40. Las flechas muestran la dirección de la transcripción. Obsérvese como los genes que codifican VP1, VP2 y VP3 se solapan.

Las moléculas de SV40 RNA mensajero tardías se sintetizan a partir de la cadena complementaria de aquella utilizada para la transcripción temprana (Figura 19.20). La transcripción comienza en un promotor cercano al origen de replicación. Este RNA tardío es procesado por maduración, modificación con CAP y poliadenilación para dar lugar a un RNA mensajero que corresponde a las tres proteínas de la cápsida: VP1, VP2 y VP3. Los genes que codifican estas son solapantes (Figura 19.20), un fenómeno que ya hemos visto en varios virus de menor tamaño (Sección 19.1, 19.2 y 19.4). El RNA mensajero que codifica las proteínas de la cápsida es transportado al citoplasma y traducido. Las proteínas de la cápsida tras ser sintetizadas vuelven al núcleo donde se producirá el ensamblaje del virión. Los nuevos viriones son liberados por lisis celular.

Algunos poliomavirus producen cáncer. Cuando un virus de este grupo infecta a una célula, la replicación puede ocurrir de una de dos maneras posibles, dependiendo del tipo de célula. En algunos tipos, conocidos como células permisivas, la infección da lugar a la habitual formación de nuevos viriones y a la lisis celular. En otras, las no permisivas, no se llega a producir una replicación eficaz del virus. En lugar de eso, el virus se integra dentro del DNA de la célula hospedadora, de manera similar a como haría un profago (Sección 10.10), alterando genéticamente a la célula en el proceso (**Figura 19.21**). Dichas

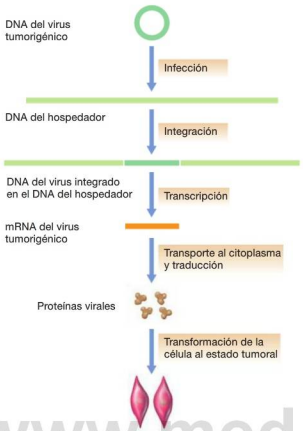


Figura 19.21 Eventos en la transformación celular por un poliomavirus como SV40. Trozos o todo el DNA viral se incorpora en el DNA de la célula hospedadora. Los genes virales responsables de la transformación celular se transcriben y procesan para dar RNA mensajeros virales que son transportados al citoplasma. Una vez ahí son traducidos para dar lugar a las proteínas que transformaran las células hospedadoras en células tumorales (Figura 10.22).

células pueden perder la inhibición del crecimiento y dar lugar a un tumor, en un proceso que se conoce como transformación (Figura 10.22). Al igual que ocurre con algunos retrovirus inductores de tumores (Sección 10.12), la expresión de genes específicos del poliomavirus convierten las células al estado transformado (Figura 19.21).

19.11 Minirrevisión

La mayoría de los virus animales de DNA de doble cadena, tales como SV40, se replican en el núcleo. SV40 tiene un genoma muy pequeño y emplea la estrategia de genes solapantes para mejorar su capacidad de codificar proteínas. Algunos de estos virus causan cáncer.

- ¿Por qué un virus como SV40 no necesita llevar enzimas en el virión como hace el virus de la gripe?
- ¿Cómo puede un sólo transcrito dar lugar a más de un RNA mensajero en SV40?

19.12 Virus de DNA de doble cadena: herpesvirus

Los herpesvirus son un gran grupo de virus de DNA de doble cadena que causan enfermedades en humanos y animales, incluyendo herpes labial, herpes venéreo, varicela, culebrilla o mononucleosis infecciosa. Algunas de estas enfermedades se discuten el Capítulo 34. Los herpesvirus son capaces de permanecer latentes en el cuerpo durante largos períodos de tiempo, activándose sólo en condiciones adversas. Tanto el **herpes simple**, el virus causante del herpes labial y del herpes genital y el virus varicela-zoster, causante de la culebrilla y la varicela, son capaces de permanecer latentes en las neuronas de lo ganglios sensoriales, de donde emerge periódicamente causando infecciones en la piel.

Un importante grupo de herpesvirus son tumorigénicos, causando formas clínicas de cancer. Por ejemplo, el virus de Epstein-Barr causa linfoma de Burkitt, un tumor común entre niños en África Central y Nueva Guinea. El linfoma de Burkitt fue uno de los primeros cánceres en humanos en relacionarse con una infección vírica. El virus de Epstein-Barr también puede causar en humanos una enfermedad general no maligna conocida como mononucleosis infecciosa.

Herpesvirus: aspectos generales

La partícula de herpesvirus es estructuralmente compleja y está formada por cuatro unidades morfológicas. El Herpes simple tipo I es un virus con envoltura de unos 150 nm de diámetro. El centro del virus, denominado núcleo, está formado por DNA lineal de doble cadena. La nucleocápsida de los herpesvirus presenta simetría icosaédrica y está formada por 162 capsómeros, cada uno de los cuales está a su vez formado por un número de proteínas diferentes. En el exterior de la nucleocápsida existe una capa amorfa que se denomina el tegumento, una estructura fibrosa única de herpesvirus. Rodeando el tegumento, se encuentra una envoltura cuya superficie exterior esta envoltura de púas.

El virión contiene además un buen número de proteínas adicionales, muchas de las cuales no han sido aún caracterizadas. El genoma del herpes simple tipo I está formado por una gran molécula de DNA de doble cadena de 152.260 pb (aproximadamente 30 veces más grande que el genoma de SV40), que codifica al menos 84 proteínas distintas.

Herpesvirus: infección y replicación

La infección por herpesvirus ocurre tras producirse la unión del virión a receptores específicos en la superficie celular. A continuación se produce la fusión de la membrana citoplasmática con la envoltura del virus, liberándose la nucleocápsida al interior celular. Esta última es entonces transportada al núcleo donde el DNA viral es separado de la cápsida. Entonces, las proteínas de la partícula vírica inhiben la síntesis de macromoléculas del hospedador.

www.medilibros.com

Tras la infección, se producen tres clases de RNA mensajero: inmediato, que codifica cinco proteínas reguladoras, retrasado, que codifica proteínas implicadas en la replicación de DNA incluyendo la polimerasa de DNA y tardío, que codifica proteínas estructurales de la partícula vírica (**Figura 19.22**). Durante la primera, se lleva a cabo la transcripción, mediante la RNA polimerasa del hospedador, de aproximadamente un tercio del genoma viral. El RNA resultante codifica ciertas proteínas reguladoras que estimulan la síntesis de las proteínas retrasadas. Estas últimas sólo aparecen después de que las proteínas inmediatas hayan sido sintetizadas. Durante esta segunda etapa, se produce la transcripción de cerca del 40% del genoma viral. Entre las muchas proteínas clave que se sintetizan durante esta segunda fase, están la polimerasa de DNA, enzimas dedicadas a la síntesis de desoxiribonucleótidos y una proteína de unión al DNA. Todas ellas son necesarias para la replicación del DNA viral.

La síntesis de DNA del herpesvirus tiene lugar en el núcleo. Tras la infección el genoma del herpesvirus se circulariza (de manera notablemente parecida al bacteriófago lambda; Sección 10.10) y se replica por el mecanismo del círculo rodante (Figura 10.19). No obstante, parece tener tres orígenes de replicación. Durante la replicación se forman largos concatémeros que son procesados para dar lugar a fragmentos de la longitud del genoma durante el proceso de ensamblaje, de una manera muy similar a la ya descrita en el caso de bacteriófagos de DNA (Secciones 10.9 y 19.3). La nucleocápsida viral se ensambla en el núcleo y la envoltura viral es añadida durante el proceso de gemación a través de la membrana interna del núcleo del hospedador. Los viriones maduros son a continuación liberados a través del retículo endoplasmático. De este modo, el proceso de ensamblaje de los herpesvirus es diferente del de los virus de RNA con envoltura que son ensamblados en la membrana citoplásmica y no en la nuclear.

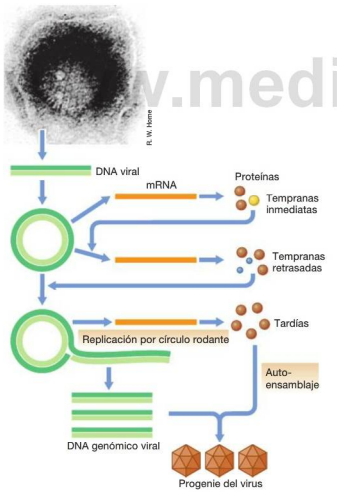


Figura 19.22 **Herpesvirus.** Cadena de eventos en la replicación del virus del herpes simple empezando por una fotografía al microscopio electrónico de un virión de herpes (diámetro de unos 150 nm).

Citomegalovirus

Un herpesvirus muy extendido es el citomegalovirus (CMV). El CMV se replica como un herpesvirus típico y esta presente entre el 50 y el 85% de los adultos de los Estados Unidos de más de 40 años. En un individuo sano, la infección con CMV no produce ningún síntoma aparente, ni ninguna consecuencia a largo plazo en su salud. No obstante, la infección por CMV puede causar una enfermedad grave en individuos inmunocomprometidos, tales como aquellos bajo tratamiento con inmunosupresores (por ejemplo los que han recibido un transplante de órganos, padecen algunos tipos de cáncer o están llevando a cabo diálisis) o individuos infectados por el virus del SIDA, el HIV. En estos individuos, el CMV puede causar neumonía, retinitis (una patología ocular) o gastroenteritis. Estas infecciones pueden ser graves e incluso en ocasiones llegar a causar la muerte.

En el hospedador sano, el sistema inmune mantiene a CMV bajo control. No obstante, CMV permanece latente dentro de las células del individuo infectado y puede llegar a reactivarse en el momento en el que el sistema inmune se vea comprometido, dando lugar a la aparición de síntomas cuya gravedad dependen del grado de supresión del sistema inmune. Al igual que ocurre con el virus de Epstein-Barr, el CMV también puede causar mononucleosis infecciosa.

19.12 Minirrevisión

Los herpesvirus son grandes virus de DNA de doble cadena. El DNA viral se circulariza y se replica por el mecanismo de círculo rodante. Causan una variedad de síndromes y pueden mantenerse latentes en el hospedador de manera indefinida, iniciando su replicación periódicamente.

- ¿Qué uso tiene para los herpesvirus circularizar su DNA antes de la replicación?
- ¿Donde se ensambla la nucleocápsida de un herpesvirus y como afecta esto a el contenido de proteínas de su envoltura?

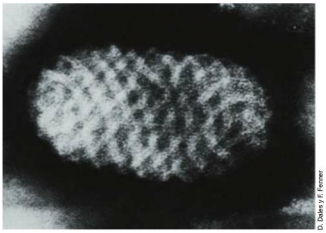
19.13 Virus de DNA de doble cadena: poxvirus

Los poxvirus están entre los virus animales más grandes y complejos que se conocen (**Figure 19.23**). Estos virus son también los únicos virus de DNA que se replican en el citoplasma. De este modo, una célula infectada por un poxvirus tiene síntesis de DNA fuera del núcleo, algo que tan sólo ocurre en células eucariotas dentro de un orgánulo.

Propiedades generales de los poxvirus

Los poxvirus han sido muy importantes médicamente e históricamente. El virus de la viruela fue el primer virus en ser estudiado en detalle y el primero para el cual se (desarrollo una vacuna por Edward Jenner en 1798). Mediante la aplicación diligente de esta vacuna en todo el mundo, la enfermedad de la viruela ha sido erradicada de la naturaleza, convirtiéndose en la primera enfermedad en ser eliminada de este modo. Otros poxvirus importantes son la viruela de las vacas y la mixomatosis en conejos, un importante agente infeccioso en conejos que ha sido introducido intencionadamente en las poblaciones de conejos en Australia para controlar su crecimiento (Sección 33.5). Algunos poxvirus también inducen la formación de tumores.

Los poxvirus son muy grandes, tan grandes de hecho que se pueden ver al microscopio óptico. La mayoría de la investigación que se ha llevado a cabo en poxvirus se ha hecho en el virus vaccinia, un pariente cercano del virus de la viruela que fue utilizado para generar la vacuna contra esta última. El virión del virus vaccinia tiene una estructura con forma de ladrillo de 400 × 240 × 200 nm. El virión carece de envoltura pero está cubierto en su superficie externa por túbulos protéicos organizados formando un entramado (Figura 19.23).



D. Dales y F. Fenner

Figura 19.23 **Poxvirus.** Fotografía al microscopio electrónico de viriones de virus vaccinia con tinción negativa. El virión es de unos 400 nm de largo. Compare el tamaño del poxvirus con el tamano de los mimivirus de Sección 19.10.

Dentro del virión hay dos cuerpos laterales de composición desconocida y una nucleocápsida que contiene el DNA unido a una capa de subunidades protéicas. El genoma del poxvirus esta formado por DNA lineal de doble cadena, tiene alrededor de 185 kpb y codifica unos 180 genes. El DNA de los poxvirus es único porque las dos cadenas de la doble hélice están unidas en su término como consecuencia de la formación de un enlace fosfodiéster entre las cadenas adyacentes. Los extremos del DNA de los poxvirus son por tanto muy similares a los de los grandes *virus de Chlorella* discutidos previamente (Sección 19.10).

Replicación de los poxvirus

Los viriones del virus vaccinia son introducidos dentro de la célula y sus nucleocápsidas liberadas en el citoplasma. El liberación del genoma viral requiere la acción de una proteína vírica que se sintetizan tras la infección. El gen que codifica esta proteína es transcrito por la polimerasa de RNA vírica, que va incluida en el virión. Al tiempo que se produce la transcripción del gen que permite la eliminación de la cápsida, se transcriben otros genes. El transcrito primario es modificado por adición de CAP y poliadenilación dando lugar a un RNA mensajero, produciendose esta modificación cuando el transcrito está aún dentro de la nucleocápsida. Esto debe de producirse antes de que se puedan generar las copias del genoma mediante la acción de una polimerasa de DNA viral.

Una vez que el DNA de vaccinia esta completamente separado de la cápsida, comienza la formación de cuerpos de inclusión en el citoplasma. La transcripción, replicación y encapsidación del DNA viral tiene lugar en el interior de estos cuerpos de inclusión. Cada virión infectivo genera su propio cuerpo de inclusión, por lo que el número de inclusiones que se producen en cada célula depende de la multiplicidad de infección. La progenie de moléculas de DNA forma un conjunto a partir del cual las moléculas individuales van siendo incorporadas a los viriones. Los viriones maduros se acumulan en el citoplasma y en su mayoría son liberados únicamente cuando se produce la desintegración celular, al carecer de mecanismo de liberación específico.

Poxvirus y vacunas recombinantes

El virus vaccinia ha sido utilizado como hospedador de proteínas genéticamente modificadas procedentes de otros virus, permitiendo así la generación de vacunas por ingeniería genética (Sección 26.5). Como se verá en la Sección 30.5, una vacuna es una sustancia capaz de disparar una respuesta inmune en un animal que sirve para proteger a dicho animal de futuras infecciones por el mismo agente. El virus vaccinia no causa daños serios a la salud de humanos pero es altamente inmunogénico. Por tanto, es una herramienta segura y efectiva como portador de proteínas de otros virus patógenos para estimular una respuesta inmune contra estos patógenos.

www.medilib.com

Utilizando métodos de clonación molecular (Capítulo 12) se han expresado proteínas clave de varios patógenos víricos (incluyendo el virus de la gripe, el de la rabia, el herpes simple tipo I y el virus de la hepatitis B) en viriones de vaccinia que han podido así ser usados para el desarrollo de vacunas en contra de estos patógenos (Sección 26.5). Un sistema de generación de vacunas similar se ha llevado a cabo usando adenovirus (que discutiremos en la próxima sección), ya que al igual que ocurre con el virus vaccinia los adenovirus no representan un serio riesgo para la salud humana.

19.13 Minirrevisión

Los poxvirus, a diferencia del resto de los virus de DNA que hemos discutido, son virus de gran tamaño cuya replicación se lleva a cabo enteramente en el citoplasma. Estos virus son causantes de varias enfermedades humanas, incluyendo la viruela, que ha sido erradicada mediante una campaña de vacunación mundial.

- ¿Por qué es tan llamativo que los poxvirus repliquen su DNA en el citoplasma?
- ¿Cómo pueden ser los poxvirus de utilidad en ingeniería genética?

www.medilibros.com

19.14 Virus de DNA de doble cadena: adenovirus

Los adenovirus son un gran grupo de virus icosaédricos de DNA lineal de doble cadena. El término «adeno» proviene de la palabra latina que significa glándula y hace referencia al hecho de que estos virus fueron los primeros en aislarse de amígdalas y glándulas adrenales en humanos. Los adenovirus causan infecciones respiratorias leves en humanos y un número de ellos pueden encontrarse incluso en individuos sanos.

Los genomas de los adenovirus consisten en una molécula de DNA lineal de doble cadena de aproximadamente 36 kpb. El extremo 5′ lleva unido covalentemente una proteína denominada proteína terminal, esencial para la replicación del DNA. Este también tiene repeticiones terminales invertidas de unos 100 a 1.800 pb (el número varía según la cepa vírica), que también son importantes para el proceso de replicación.

Replicación de adenovirus: eventos tempranos

El DNA adenoviral se replica en el núcleo. Después de que la partícula viral haya sido transportada al núcleo, se libera la nucleocápsida y se convierte en un complejo DNA viral-histona. La transcripción temprana se produce mediante la acción de una polimerasa de RNA celular, dando lugar a varios transcritos primarios. Estos contienen intrones y deben por tanto ser procesados para dar lugar a los transcritos maduros que son modificados mediante la adición de CAP y de colas de poli-A antes de su traducción.

Como es típico de muchos virus, las proteínas tempranas de los adenovirus regulan la replicación del DNA y las tardías son estructurales. La replicación del DNA viral hace uso de la proteína terminal a modo de cebador y de otra proteína viral que actúa como polimerasa de DNA. La proteína terminal contiene un residuo de cisteína covalentemente unido a partir del cual se inicia la replicación.

Replicación de adenovirus: Replicación del genoma

La replicación del genoma adenoviral comienza en cualquiera de los extremos y las dos hebras se replican asincrónicamente (**Figura 19.24**). Los productos de una ronda de replicación son una molécula de cadena doble y

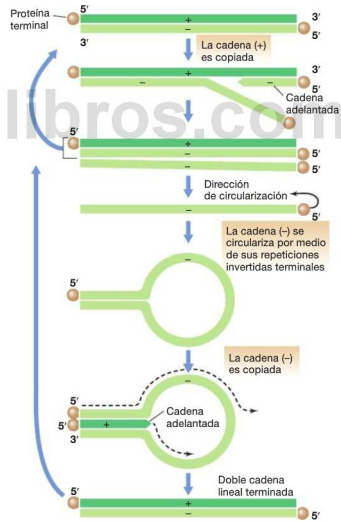


Figura 19.24 Replicación del DNA de adenovirus. Obsérvese como gracias a la formación de un bucle, no hay cadena retrasada; la síntesis de DNA se produce de manera adelantada en ambas hebras.

una de cadena sencilla. Y tras esto se produce la conversión de la cadena sencilla a cadena doble tras circularizarse esta gracias a las repeticiones terminales y formarse la cadena complementaria que es sintetizada a partir del extremo 5′ (Figura 19.24). Este mecanismo de replicación es destacable porque no requiere la formación de una cadena retrasada tal y como ocurre en la replicación convencional (Sección 7.6). En su lugar, la síntesis de DNA se produce a modo de cadena adelantada en ambas hebras de la molécula de DNA (Figura 19.24).

19.14 Minirrevisión

Virus de DNA de doble cadena diferentes poseen mecanismos de replicación diferentes. El de los adenovirus requiere una proteína que actúa como cebador y presenta un modo de replicación que evita la formación de cadena retrasada y que se produce en el núcleo.

- Describe como replican los adenovirus su DNA de doble cadena sin que se produzca la síntesis de una cadena retrasada.

V VIRUS QUE EMPLEAN TRANSCRIPTASA INVERSA

19.15 Retrovirus y hepadnavirus

En la sección 10.12 discutimos los **retrovirus**, un grupo de virus que se replican mediante transcripción inversa utilizando una enzima denominada transcriptasa inversa. Hay dos tipos distintos de virus que utilizan transcriptasa inversa y difieren en el tipo de ácido nucléico del que están formados sus genomas. Los retrovirus tiene genomas de RNA, mientras que los hepadnavirus tiene genomas de DNA. En esta sección veremos ejemplos de ambos tipos.

Retrovirus: Principios generales

Recordemos que los retrovirus tiene viriones con envoltura que contienen dos copias de su genoma de RNA (Figura 10.24). El virión también contiene varias enzimas, que incluyen la transcriptasa inversa y un RNA transferente específico. La razón de que el virión contenga la transcriptasa inversa es porque aunque el genoma retroviral es el de la cadena con sentido y lleva CAP y poli-A, no se utiliza directamente como RNA mensajero, en su lugar, una de las copias del genoma es convertida en DNA por la transcriptasa inversa y es integrada en el genoma del hospedador. El DNA que se forma es finalmente una molécula lineal de doble cadena que se sintetiza en el citoplasma dentro del núcleo viral liberado de la cápsida. Un esquema de los pasos que ocurren durante la transcripción inversa se muestra en la **Figura 19.25**.

Actividad de la transcriptasa inversa

La transcriptasa inversa es esencialmente una polimerasa de DNA, que posee tres actividades enzimáticas diferentes: (1) **transcripción inversa** (síntesis de DNA a partir de un molde de RNA, (2) síntesis de DNA a partir de un molde de DNA y (3) actividad ribonucleasa H (una actividad enzimática que degrada la hebra de RNA de un híbrido DNA:RNA). Como todas las polimerasas de DNA, la transcriptasa inversa necesita un cebador para sintetizar DNA. El cebador en la retrotranscripción del retrovirus es un RNA transferente celular específico (Figura 19.25). Este es empaquetado en el virión durante el ensamblaje en su hospedador previo.

Usando este transferente como cebador, los primeros 100 nucleótidos (aproximadamente) del extremo 5′ son retrotranscritos a DNA. Una vez que la transcripción inversa alcanza el extremo del RNA, el proceso se para. Para copiar el RNA restante, que es la mayoría, se utiliza un mecanismo diferente. Primero, las secuencias de RNA terminales redundantes del extremo 5′ son eliminadas por la actividad ribonucleasa H de la retrotranscriptasa. Esto conduce a la formación de un fragmento pequeño de DNA de cadena sencilla que es complementario al segmento equivalente de RNA del extremo opuesto. Este pequeño fragmento de DNA de cadena sencilla hibrida entonces con el otro extremo de la molécula del RNA viral, donde la retrotranscripción del resto de las secuencias de RNA viral puede continuar.

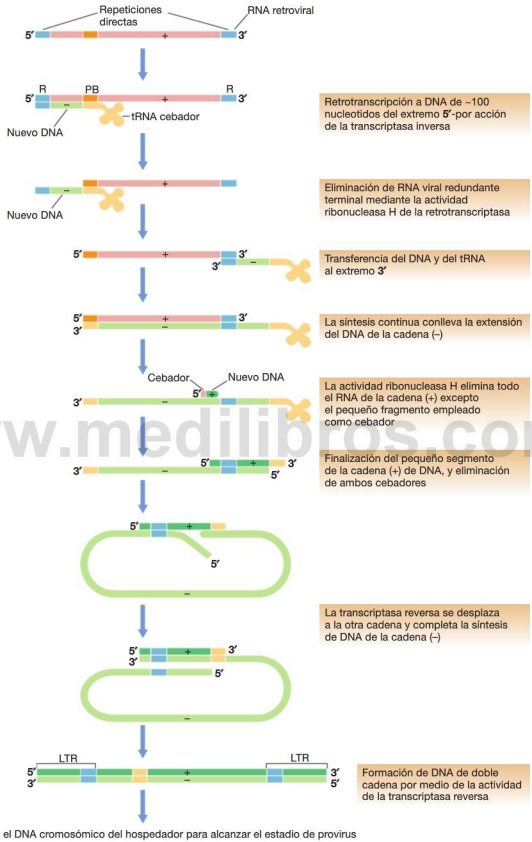
Tal y como se resume en la Figura 19.25, la actuación continuada de la retrotranscripción y la actividad ribonucleasa H lleva a la formación de una molécula de DNA de doble cadena con largas repeticiones terminales (LTR) a cada extremo. Cada LTR contiene promotores transcripcionales fuertes y están implicadas en el proceso de integración. La integración del DNA viral dentro del genoma del hospedador es análoga a la del bacteriófago de DNA Mu (Sección 19.4). La integración puede ocurrir en cualquier punto del genoma del hospedador y una vez integrado, el DNA retroviral, entonces denominado provirus, es un elemento genético estable (Figura 19.25)

Expresión génica, procesamiento y ensamblaje del virión retroviral

En su estadio de provirus, el genoma retroviral puede expresarse o permanecer latente y no expresarse. Si los promotores de la LTR derecha se activan, el DNA proviral integrado es transcrito por una polimerasa de RNA celular y los productos de dicha transcripción son modificados mediante la adición de CAP y colas de poli-a. Estos transcritos pueden entonces ser encapsidados en viriones o procesados y traducidos a proteínas.

La traducción y procesamiento de esos RNA mensajeros se muestra en la **Figura 19.26.** Todos los retrovirus tiene tres genes: *gag*, *pol* y *env* organizados en ese orden en el genoma. El gen *gag* está en el extremo 5′ del RNA mensajero y codifica varias proteínas estructurales virales pequeñas. Estas son sintetizadas primero como poli-

www.medilibros.com



www.medilibros.com

Figura 19.25 **Formación de DNA de doble cadena de retrovirus de RNA de cadena sencilla.** Las secuencias marcadas con R en el RNA son repeticiones directas en ambos lados. La secuencia marcada PB es donde el cebador (RNA transferente) se une. Obsérvese que la síntesis de DNA produce repeticiones directas en el DNA más largas de las que había originalmente en el RNA. Estas se denominan repeticiones terminales largas (LTR).

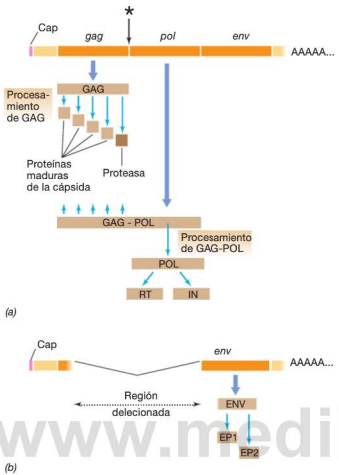


Figura 19.26 **Traducción de RNA mensajero de retrovirus y procesamiento de las proteínas.** *(a)* El RNA mensajero completo con los tres genes *gag*, *pol* y *env*, se muestra en la parte superior. El asterisco muestra el sitio donde el ribosoma debe saltarse el codón de STOP o hacer un cambio preciso de marco abierto de lectura para sintetizar la proliproteína GAG-POL. La flecha gruesa azul indica traducción y la fina indica los eventos de procesamiento de las proteínas. Uno de los productos del gen *gag* es una proteasa. El producto POL es procesado para dar lugar a una retrotranscriptasa (RT) y una integrasa (IN). *(b)* El RNA mensajero es procesado para eliminar la mayoría de la región *gag-pol*. Este mensajero corto es traducido dando lugar a la poliproteína ENV, que es cortada para dar dos proteínas de la envoltura, EP1 y EP2.

proteínas y posteriormente procesados por una proteasa (que es de hecho una parte de la poliproteína). Las proteínas estructurales se ensamblan entonces formando la cápsida y la proteasa se empaqueta en el virión.

Después, el gen *pol* se traduce para dar lugar a una gran poliproteína que también incluye las proteínas *gag* (Figura 19.26). Comparada con las proteínas *gag*, del producto del gen *pol* se requieren sólo cantidades pequeñas. Esto se consigue porque para que se sintetice el ribosoma debe equivocarse. Para que se sinteticen los productos del gen *pol* el ribosoma debe o bien saltarse un codón de terminación al final del gen *gag* o llevar a cabo un cambio preciso a otra pauta de lectura, ambos eventos muy poco frecuentes.

Una vez que se sintetiza, el producto del gen *pol* se procesa de dos maneras, primero es separado de las proteínas *gag* y después la transcriptasa inversa es separada de la integrasa, una proteína implicada en la integración del DNA en el genoma que es empaquetada en el virión junto con la retrotranscriptasa (Figura 19.26). Para que se traduzca el producto del gen *env*, el RNA mensajero completo debe ser primero procesado para eliminar las regiones *gag* y *pol*. El producto del gen *env* es entonces traducido y procesado para dar lugar a dos proteínas diferentes de la envoltura (Figura 19.26).

El HIV es un retrovirus

Aunque el patrón de replicación descrito para los retrovirus es complejo, es el típico de un retrovirus más bien sencillo. Por el contrario, el genoma del retrovirus causante de la inmunodeficiencia en humanos (HIV-1, el causante del SIDA, es mucho más complejo que éste e incluye varios genes pequeños adicionales. Su expresión no sólo requiere procesamiento de proteínas extensivo, llevado a cabo por proteasas, sino también complejos patrónes de maduración de intrones alternativos. No obstante, una de las características básicas de los retrovirus es que se requieren muchos pasos de proteólisis para dar lugar a las proteínas maduras. A este respecto se han desarrollado inhibidores de proteasas específicos para tratar infecciones retrovirales, incluyendo las infecciones por HIV-1 (Sección 34.15).

Virus de DNA con retrotranscriptasa: hepadnavirus

Hemos visto que los ciclos de vida de los virus muestran una gran variedad de estructuras genómicas y esquemas de replicación inesperados. Pero ninguno es tan peculiar como el de los **hepadnavirus** como el virus de la hepatitis B, un grave patógeno que se porta en la sangre (Sección 34.12). El término «hepadnavirus» viene de la capacidad de infectar el hígado (hepa) de este virus de DNA (dna). Los viriones del virus de la hepatitis B son partículas pequeñas, irregulares y con forma de bastón (**Figura 19.27a**).

Los genomas de los hepadnavirus son poco comunes por varias razones, incluyendo que son los virus más pequeños que se conocen, entre 3 y 4 kb y que son *parcialmente* de doble cadena. Su ciclo de vida también es único y muy complejo. A igual que los retrovirus, los hepadnavirus utilizan una retrotranscriptasa en su ciclo de replicación. No obstante, a diferencia de estos, el genoma de los hepadnavirus es replicado pasando por un intermediario de RNA, el patrón opuesto al de los retrovirus.

Una de las cadenas del genoma de los hepadnavirus es incompleta y ambas cadenas tienen huecos (Figura 19.27*b*). No obstante, las dos cadenas se mantienen unidas en un círculo mediante puentes de hidrogeno entre bases complementarias. Tras entrar en el citoplasma, la polimerasa de DNA viral que contiene el virión completa la replicación de esta molécula. Esta polimerasa es extre-

www.medilibros.com

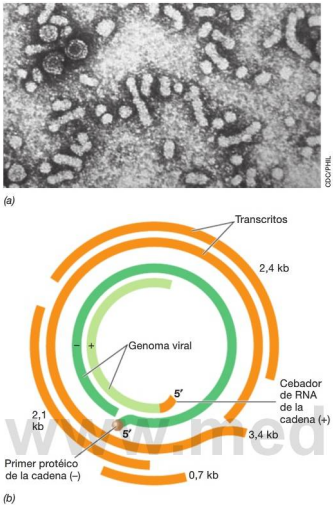


Figura 19.27 Hepadnavirus. *(a)* Fotografía al microscopio electrónico de viriones del virus de la hepatitis B. *(b)* Genoma del virus de la hepatitis B. El genoma parcialmente de doble cadena se muestra en verde. Obsérvese que la cadena positiva está incompleta. Se muestran los tamaños de los transcritos. Todos los genes del virus de la hepatitis B solapan y en conjunto cubren todas y cada una de las bases del genoma. La retrotranscriptasa produce un genoma de DNA a partir de un RNA mensajero con la longitud correspondiente al genoma completo, sintetizado por la RNA polimerasa del hospedador.

madamente versátil. Posee actividad polimerasa de DNA y de retrotranscriptasa y es también capaz de funcionar como cebador proteico para la síntesis de una de las cadenas de DNA. A pasar del pequeño tamaño del genoma de los hepadnavirus, codifica varias proteínas (Figura 19.27*b*) utilizando genes solapantes como se ve frecuentemente en virus pequeños (Sección 19.2).

La replicación del genoma de un hepadnavirus implica la transcripción mediante una polimerasa de RNA celular (en el núcleo), que genera un transcrito con repeticiones terminales (Figura 19.27*b*). Estas repeticiones se forman porque la polimerasa continúa ligeramente más allá de un ronda de la molécula circular. La retrotranscriptasa entonces copia esta molécula a DNA, tal y como ocurría con el RNA de los retrovirus, salvo que en este caso es el DNA y no el RNA el que se empaqueta en los viriones recién formados (Figura 19.27*b*).

Por tanto los hepadnavirus constituyen un increíble ejemplo de cómo aprovechar al máximo un genoma tan pequeño. El virus de la hepatitis B, por ejemplo, con sus 3,4 kb tiene un genoma incluso más pequeño que muchos virus de RNA de cadena sencilla o incluso que bacteriófagos de DNA (Secciones 19.1-19.3). No obstante, este virus tan pequeño es el causante de una grave enfermedad humana. Los síndromes de hepatitis serán comentados en un capítulo posterior (Sección 34.12).

www.medilibros.com

19.15 Minirrevisión

Los retrovirus contienen genomas de RNA y usan retrotranscriptasa para copiarlo a DNA durante su ciclo de vida. Los hepadnavirus tienen genomas de DNA y utilizan la retrotranscriptasa para copiar su DNA genómico a partir de una copia de RNA. Ambos tipos de genes tienen patrones de expresión génica complejos.

- ¿Por qué sirven los inhibidores de proteínas como tratamiento contra el SIDA?
- Describa las diferencias entre el papel que juega la retrotranscriptasa en el ciclo de vida de un retrovirus y de un hepadnavirus.

Glosario de términos

Bacteriófago: virus que infecta células de bacterias.

Cadena negativa: es la hebra de ácido nucléico que tiene el sentido opuesto (es complementaria) a la del RNA mensajero.

Cadena positiva: de un ácido nucleico es la hebra que tiene el mismo sentido que el RNA mensajero.

Concatémero: dos o más moléculas de ácidos nucléicos lineales idénticas en tandem.

Conversión antigénica: en el virus de la gripe, grandes cambios en las proteínas virales (antígenos) debido a reorganización génica.

Deriva antigénica: en el virus de la gripe, pequeños cambios en las proteínas virales (antígenos) debido a mutaciones.

Envoltura: en referencia a un virus indica la presencia de una membrana lipoproteica rodeando al virión.

Forma replicativa: es una molécula de DNA de doble cadena que actúa como intermediario de la replicación de un virus de DNA de cadena sencilla.

Genes solapantes: son dos o más genes en los cuales una parte o el total de uno de los genes está englobado en el otro.

Hepadnavirus: virus de DNA que se replica mediante un intermediario de RNA.

Herpes simple: es el causante del herpes labial y del genital.

Nucleocápsida: es el complejo completo del ácido nucleico y las proteínas empaquetadas en una partícula vírica.

Poliproteína: es una gran proteína expresada a partir de un solo gen que es a continuación cortada para dar lugar a varias proteínas individuales.

Replicación por círculo rodante: es un mecanismo que utilizan algunos plásmidos y virus para replicar DNA circular, que se inicia con un corte de cadena sencila y el desenrollamiento de una de las cadenas para utilizar la otra, aún circular, como molde para la síntesis de DNA.

Replicasa de RNA: es una enzima que puede sintetizar RNA a partir de un molde de RNA.

Retrovirus: es un virus cuyo genoma de RNA tiene un intermediario de DNA como parte de su ciclo de replicación.

Transcriptación inversa o retrotranscripción: es el proceso de copiar información genética en forma de RNA a DNA.

Transposasa: es una enzima que cataliza la inserción de un fragmento de DNA dentro de otra molécula de DNA.

Preguntas de repaso

1. Describa los tipos de genoma que se pueden encontrar en los virus. Dé un ejemplo de al menos un virus (o grupo de virus) con cada tipo de genoma (capítulo entero).
2. ¿Qué son genes solapantes? Dé algunos ejemplos de virus que tengan genes solapantes (Secciones 19.1, 19.2, 19.3, 19.12 y 19.15).
3. Muchos bacteriófagos tienen genomas de DNA de cadena sencilla. Describa cómo se transcriben y traducen los genes de estos virus (Sección 19.1 y 19.2).
4. Se conocen virus de RNA de cadena positiva que infectan bacterias, plantas y animales. ¿Cuáles son las principales diferencias en cuanto a la expresión génica entre estos virus, en particular entre los que infectan eucariotas y procariotas (Secciones 19.1 y 19.7)?
5. Uno de los extremos del genoma de T7 siempre entra el primero en la célula durante el proceso de infección, lo cual es necesario para que pueda continuar el proceso de infección. Explique porqué (Sección 19.3)
6. ¿Por qué es el bacteriófago Mu mutagénico? ¿Qué elementos son necesarios para que produzca la inserción de Mu en el genoma (Sección 19.4)?
7. ¿Qué tiene de particular el genoma de arqueovirus tales como PAV-1 comparado con los genomas de DNA de doble cadena de los bacteriófagos (Sección 19.5)?
8. ¿Qué tipo de genoma tiene el virus de mosaico del tabaco?¿Como es en términos de estructura y tamaño en comparación con los phycodnavirus que infectan *Chlorella* (Secciones 19.6 y 19.10).
9. ¿Cuál es la función de la proteína VPg de los polivirus y como puede un coronavirus replicarse sin proteína VPg, teniendo en cuenta que su genoma también es de RNA de cadena positiva?
10. Los rhabdovirus tiene una estructura genómica poco habitual. ¿De qué está compuesto su genoma y por qué debe el virión contener una enzima implicada en su replicación (Sección 19.8)?
11. Los genomas de los reovirus son únicos en biología. Explique porqué (Sección 19.9).
12. Varios virus animales pueden causar infecciones latentes. Describa ejemplos de este tipo de virus (Secciones 19.12 y 19.15).
13. Aunque los genomas de los herpesvirus y de los adenovirus son ambos de DNA de doble cadena, sus mecanismos de replicación son considerablemente distintos. Explique como (Secciones 19.12 y 19.14).
14. De todos los virus de DNA de doble cadena, los poxvirus destacan con respecto a un aspecto único de su proceso de replicación. ¿Cuál es este aspecto único y como puede conseguirse sin que el virión empaquete enzimas específicas (Sección 19.13)?
15. ¿Qué aspecto en particular del proceso de expresión génica en retrovirus hace posible el uso de inhibidores de proteasas para bloquear su replicación (Sección 19.15)?
16. ¿Qué reacciones pueden catalizar las retrotranscriptasas? ¿Qué molécula usan como cebador (Sección 19.15)?

Ejercicios prácticos

1. No todas las proteínas que se sintetizan a partir del genoma de RNA del bacteriófago MS2 se producen en las mismas cantidades. ¿Puede explicar por qué? Una de las proteínas funciona como un represor pero actúa a nivel traduccional. ¿Qué proteína y como lo hace?
2. Dé una explicación mecanística de por qué pueden algunos virus de RNA de doble cadena tener genomas segmentados.
3. El mecanismo de replicación de ambas cadenas de DNA en algunos virus como adenovirus es continuo (adelantado). Muestre cómo puede llevarse esto a cabo sin que suponga una excepción a la regla aprendida en el Capítulo 7 de que toda síntesis de DNA se produce en dirección 5′a 3′.
4. La mayoría de los elementos genéticos que expresan retrotranscriptasa lo hace en pequeñas cantidades o como parte de una poliproteína.¿Se le ocurre una razón (o razones) por la cual esto deba ser así?

www.casadellibro.com

20

Diversidad metabólica: fototrofia, autotrofia, quimiolitotrofia y fijación del nitrógeno

I EL SISTEMA DE VIDA FOTÓTROFO 641
- **20.1** Fotosíntesis **641**
- **20.2** Clorofilas y bacterioclorofilas **642**
- **20.3** Carotenoides y ficobilinas **645**
- **20.4** Fotosíntesis anoxigénica **647**
- **20.5** Fotosíntesis oxigénica **652**

II AUTOTROFIA 654
- **20.6** El ciclo de Calvin **654**
- **20.7** Otras vías autótrofas en los fotótrofos **656**

III QUIMIOLITOTROFIA 658
- **20.8** Energética de la quimiolitotrofia **658**
- **20.9** Oxidación del hidrógeno **659**
- **20.10** Oxidación de compuestos reducidos del azufre **660**
- **20.11** Oxidación del hierro **663**
- **20.12** Nitrificación **666**
- **20.13** Anamox **668**

IV FIJACIÓN DEL NITRÓGENO 669
- **20.14** Nitrogenasa y fijación del nitrógeno **669**
- **20.15** Genética y regulación de la fijación del N_2 **673**

www.medilibros.com

La enorme diversidad genética de los procariotas se ve reflejada en una diversidad metabólica igualmente enorme. Las bacterias púrpura del azufre son fotótrofos que oxidan el H_2S para obtener electrones para la fijación del CO_2 tal como hacen los fotótrofos que evolucionan del oxígeno que utilizan H_2O como fuente de electrones.

En los cinco capítulos anteriores hemos considerado la gran diversidad *filogenética* de la vida microbiana en la Tierra. En esta unidad trataremos la *diversidad metabólica*, con especial énfasis en los procesos bioquímicos que determinan esta diversidad. A continuación, consideramos la ecología microbiana: las interacciones de los microorganismos entre sí y con su medio ambiente.

La diversidad metabólica y la ecología microbiana avanzan codo con codo; la diversidad metabólica que describimos en este capítulo es la base de los ciclos de nutrientes y de otras actividades microbianas que discutiremos en los Capítulos 23 a 24. De hecho, tal y como veremos, los microorganismos y sus reacciones metabólicas desempeñan funciones clave en el mantenimiento del entramado de la vida en la Tierra y son de crucial importancia para sostener muchos aspectos diferentes del quehacer humano (Sección 1.4).

En este capítulo, nos centraremos en la diversidad metabólica de los fotótrofos y los quimiolitótrofos, organismos que utilizan la luz o compuestos inorgánicos, respectivamente, como fuentes de energía. Además, explicaremos dos biosíntesis importantes: *autotrofia*, la fijación del CO_2 en materiales celulares y la *fijación del nitrógeno*, la reducción del nitrógeno atmosférico (N_2) en amonio para suministrar los requisitos de nitrógeno de las células. En el capítulo 21, consideraremos la diversidad metabólica de los quimioorganótrofos, especialmente las diversas formas de metabolismo anaerobio por el que sobresale los procariotas.

www.elsolucionario.net

I EL SISTEMA DE VIDA FOTÓTROFO

La fototrofia, el uso de la *luz* como fuente de energía, está muy extendida en el mundo microbiano. En los primeros cinco apartados de este capítulo, vamos a tratar las principales formas de la fototrofia, entre ellas la que produce el oxígeno que respiramos y veremos cómo se convierte la energía luminosa en energía en forma de ATP.

20.1 Fotosíntesis

El proceso biológico más importante en la Tierra es la **fotosíntesis**, la conversión de la energía luminosa en energía química. Los organismos que realizan la fotosíntesis se llaman **fotótrofos** (**Figura 20.1**). La mayoría de los organismos fotótrofos son también **autótrofos**, capaces de crecer con CO_2 como única fuente de carbono. La energía procedente de la luz se se utiliza para reducir el CO_2 en compuestos orgánicos (*fotoautotrofia*). Sin embargo, algunos fotótrofos utilizan el carbono orgánico como fuente de carbono; este estilo de vida se llama *fotoheterotrofia* (Figura 20.1).

La fotosíntesis requiere pigmentos fotosensibles, las *clorofilas*, que se encuentran en las plantas, algas y varios grupos de procariotas. La luz solar llega a los organismos fotótrofos en unidades concretas de energía llamadas *cuantos*. La absorción de la energía luminosa por las clorofilas inicia el proceso de conversión de energía por fotosíntesis y el resultado neto es la energía química: el ATP.

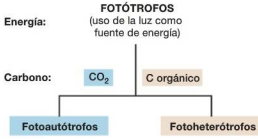


Figura 20.1 **Clasificación de los organismos fotótrofos en relación con la fuente de energía y de carbono.**

Producción de energía y asimilación de CO_2

La fotoautotrofia requiere dos grupos diferentes de reacciones: 1) la producción de ATP y 2) la reducción del CO_2 a material celular. Para el crecimiento autótrofo, la energía se suministra desde el ATP, y los electrones para reducir el CO_2 proceden del NADH (o NADPH). Estos últimos se generan por la reducción de NAD^+ (o $NADP^+$) por los electrones que proceden de numerosos donadores de electrones. Algunas bacterias fotótrofas obtienen el poder reductor de los donadores de electrones en su ambiente, como fuentes de azufre reducido H_2S, S^0, $S_2O_3^{2-}$ o de H_2. Por el contrario, las plantas verdes, las algas y las cianobacterias utilizan H_2O, un donador de electrones débil de por sí (Figura 5.10), como poder reductor.

La oxidación del H_2O produce oxígeno molecular O_2 como un subproducto. Como hay producción de O_2, la fotosíntesis en estos organismos se llama **oxigénica**. Sin embargo, en muchas bacterias fotótrofas, el agua no se oxida y no se produce oxígeno, por lo que el proceso se llama **fotosíntesis anoxigénica** (Figura 20.2). La producción de NADH a partir de sustancias como el H_2S por los fotótrofos anoxigénicos puede o no realizarse directamente por la luz, según el organismo. Por el contrario, la oxidación del H_2O a O_2 por los fotótrofos oxigénicos la causa la luz (**Figura 20.2**). Por lo tanto, los fotótrofos oxigénicos requieren luz tanto para obtener poder reductor como para la conservación de energía.

20.1 Minirrevisión

Los fotótrofos obtienen la energía de la luz. En las reacciones fotosintéticas, el ATP se genera a partir de la luz y a continuación se consume cuando el NADH reduce el CO_2.

- ¿En qué se parecen los fotoautótrofos y los fotoheterótrofos y en qué se diferencian?
- ¿Cuál es la diferencia fundamental entre un fotótrofo oxigénico y otro anoxigénico?

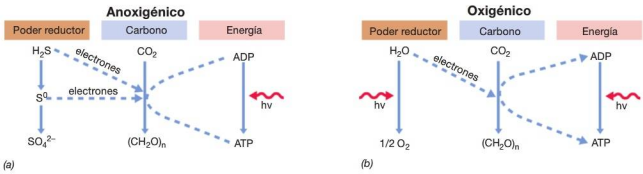


Figura 20.2 **Patrones de la fotosíntesis.** Energía y síntesis del poder reductor en los fotótrofos anoxigénicos *(a)* y oxigénicos *(b)*. Aunque ambos tipos de fotótrofos obtienen su energía de la luz (hv), en los oxigénicos la luz también causa la oxidación del agua en oxígeno.

20.2 Clorofilas y bacterioclorofilas

Los únicos organismos que pueden realizar la fotosíntesis son los que producen alguna forma de **clorofila** (fotótrofos oxigénicos) o **bacterioclorofila** (fotótrofos anoxigénicos). La clorofila es una porfirina, al igual que los citocromos (Sección 5.11). Pero a diferencia de éstos, la clorofila contiene magnesio en vez de hierro como centro del anillo de porfirina. La clorofila también contiene cadenas laterales específicas en el anillo de porfirina, así como una cadena lateral alcohólica hidrófoba que ayuda a anclar la clorofila en las membranas fotosintéticas.

La estructura de la clorofila *a*, que es la clorofila principal de las plantas superiores, la mayor parte de las algas y las cianobacterias, se muestra en la **Figura 20.3*a***. La clorofila *a* es verde porque *absorbe* con preferencia luz roja y azul y *transmite* luz verde. Las propiedades espectrales de cualquier pigmento se pueden expresar mejor por su *espectro de absorción*, una medida de la absorbencia del pigmento a diferentes longitudes de onda. El espectro de absorción de las células que contienen clorofila *a* muestra una fuerte absorción de la luz roja (absorción máxima a una longitud de onda de 680 nm) y de la luz azul (máximo a 430 nm). (Figura 20.3*b*).

Diversidad de las clorofilas

Existen varias clorofilas y bacterioclorofilas, que se distinguen entre sí por su espectro de absorción único. La clorofila *b*, por ejemplo, tiene un máximo de absorción a 660 nm en vez de a 680 nm. Muchas plantas tienen más de una clorofila, pero las más habituales son las clorofilas *a* y *b*.

Entre los procariotas, las cianobacterias producen clorofila *a*, pero los fotótrofos anoxigénicos, como las bacterias púrpura y las verdes, puede tener diversas bacterioclorofilas (**Figuras** 20.3 y **20.4**). La bacterioclorofila *a* (Figura 20.3), presente en la mayor parte de las bacte-

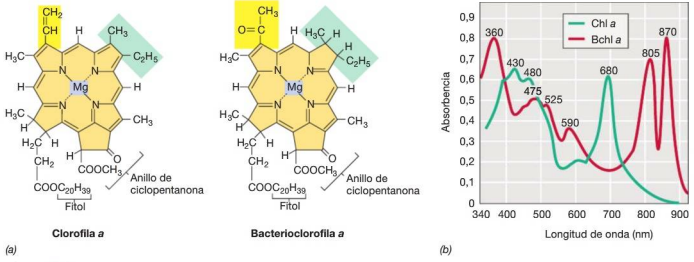
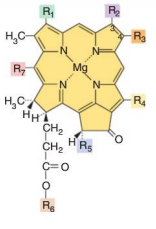


Figura 20.3 **Estructuras y espectros de la clorofila *a* y la bacterioclorofila *a*.** *(a)* Las dos moléculas son idénticas excepto en aquellas porciones resaltadas en amarillo y verde. *(b)* Espectro de absorción (curva verde) de las células del alga verde *Chlamydomonas*. Los picos a 680 y 430 nm se deben a la clorofila *a*, y el máximo a 480 nm se debe a los carotenoides. Espectro de absorción (curva roja) de las células de la bacteria púrpura fotótrofa *Rhodopseudomonas palustris*. Picos a 870, 805, 590 y 360 nm se deben a la bacterioclorofila *a*, y los picos a 525 y 475 nm se deben a los carotenoides.

Pigmento/máximo de absorción (*in vivo*)	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5	R_6	R_7
Bchl *a* (bacterias púrpuras)/ 805, 830-890 nm	$-C(=O)-CH_3$	$-CH_3$[a]	$-CH_2-CH_3$	$-CH_3$	$-C(=O)-O-CH_3$	P/Gg[b]	—H
Bchl *b* (bacterias púrpuras)/835-850, 1.020-1.040 nm	$-C(=O)-CH_3$	$-CH_3$[c]	$=C(H)-CH_3$	$-CH_3$	$-C(=O)-O-CH_3$	P	—H
Bchl *c* (bacterias verdes del azufre)/ 745-755 nm	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ $-C_3H_7$[d] $-C_4H_9$	$-C_2H_5$ $-CH_3$	—H	F	$-CH_3$
Bchl c_s (bacterias verdes no del azufre)/ 740 nm	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$	$-CH_3$	—H	S	$-CH_3$
Bchl *d* (bacterias verdes del azufre)/ 705-740 nm	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ $-C_3H_7$ $-C_4H_9$	$-C_2H_5$ $-CH_3$	—H	F	—H
Bchl *e* (bacterias verdes del azufre)/ 719-726 nm	$-CH(OH)-CH_3$	$-C(=O)-H$	$-C_2H_5$ $-C_3H_7$ $-C_4H_9$	$-C_2H_5$	—H	F	$-CH_3$
Bchl *g* (heliobacterias)/ 670, 788 nm	$-C(H)=CH_2$	$-CH_3$[e]	$-C_2H_5$	$-CH_3$	$-C(=O)-O-CH_3$	F	—H



[a] No hay doble enlace entre C_3 y C_4: hay átomos de H adicionales en las posiciones C_3 y C_4.

[b] P: éster de fitilo ($C_{20}H_{39}O$—); F: éster de farnesilo ($C_{15}H_{25}O$—); Gg: éster de geranilgeraniol ($C_{10}H_{17}O$—); S: alcohol estearílico ($C_{18}H_{37}O$—).

[c] No hay doble enlace entre C_3 y C_4: hay un átomo adicional de H en la posición C_3.

[d] Las bacterioclorofilas *c*, *d*, y *e* consisten en mezclas isoméricas con los diferentes sustituyentes en R_3 como se indica.

Figura 20.4 Estructura de todas las bacterioclorofilas conocidas (Bchl). Se indican los diferentes sustituyentes que se encuentran en las posiciones R1 a R7 en la estructura anexa. Las proporciones de absorción se pueden determinar suspendiendo las células intactas en un líquido viscoso como sacarosa al 60% (esto reduce la dispersión de la luz y suaviza los espectros) y analizando los espectros de absorción como se muestra en la Figura 20.3. Los máximos de absorción *in vivo* son los picos de absorción de relevancia fisiológica. El espectro de las bacterioclorofilas disueltas en los disolventes orgánicos a menudo resulta bastante diferente.

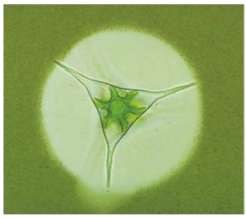
rias púrpuras (Sección 15.2), tiene un máximo de absorción entre 800 y 952 nm, según las especies de fotótrofos. Diferentes especies tienen diferentes proteínas asociadas a pigmentos, y el máximo de absorción de la bacterioclorofila *a* depende en cierto grado de la naturaleza de estas proteínas y de cómo están distribuidas en fotocomplejos. Otras bacterioclorofilas, distribuidas por diferentes líneas filogenéticas, absorben en otras regiones del espectro visible e infrarrojo (Figura 20.4).

¿Por qué cada organismo tiene formas diferentes de clorofila que absorben la luz a diferentes longitudes de onda? Esto permite a los fotótrofos hacer un mejor uso de la energía disponible en el espectro electromagnético. Sólo la energía luminosa que se *absorbe* es útil para la conservación de energía. Al tener diferentes pigmentos, pueden coexistir diferentes organismos en un hábitat iluminado, donde cada uno usa las longitudes de onda que los otros no utilizan. Así, la diversidad en la pigmentación tiene repercusiones ecológicas.

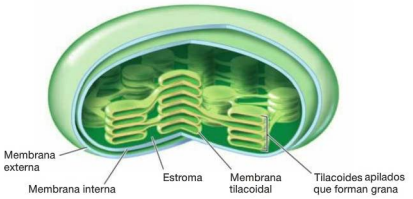
Membranas fotosintéticas y cloroplastos

Los pigmentos clorofílicos y los demás componentes del aparato captador de luz se encuentran dentro de sistemas membranosos especiales: las membranas fotosintéticas. Su ubicación difiere entre los microorganismos procariotas y los eucariotas. En los eucariotas, la fotosíntesis está asociada a los orgánulos intracelulares: los cloroplastos (**Figura 20.5a**; Sección 18.3). Tal como muestra la Figura 20.5*b*, las clorofilas se fijan a membranas con forma de lámina dentro de los cloroplastos. Estos sistemas membranosos fotosintéticos se llaman **tilacoides**; las pilas de tilacoides forman los *grana*. Los tilacoides se disponen de tal modo que el cloroplasto queda dividido en dos regiones, la matriz que los rodea y el espacio interior dentro

www.medilibros.com



(a)



(b)

Figura 20.5 **El cloroplasto**. *(a)* Microfotografía de una célula de un alga que presenta cloroplastos. *(b)* Detalles de la estructura del cloroplasto para indicar que los repliegues de las membranas tilacoidales definen un espacio interno llamado estroma y forman apilamientos membranosos llamados grana.

de la pila de tilacoides. Esta distribución permite desarrollar una fuerza protonmotriz con la luz que se utiliza para sintetizar ATP, como se describirá en la Sección 20.5.

Los procariotas no tienen cloroplastos. Sus pigmentos fotosintéticos están integrados en sistemas membranosos internos que se forman 1) por la invaginación de la membrana citoplásmica (bacterias púrpuras) (*véase* Figura 20.12); 2) por la propia membrana citoplasmática (heliobacterias; Sección 16.2); 3) tanto por la membrana citoplasmática como por estructuras especializadas rodeadas por membranas no unitarias llamadas clorosomas (bacterias verdes; *véase* la Figura 20.7 y la Sección 16.15); o 4) por membranas tilacoidales (cianobacterias; Sección 16.7).

Centros de reacción y pigmentos antena

Las moléculas de clorofila o bacterioclorofila dentro de una membrana fotosintética se asocian con proteínas para formar complejos que contienen de 50 a 300 moléculas (**Figura 20.6**). Sólo un pequeño número de estas moléculas de pigmento, llamadas **centros de reacción**, participan directamente en la conversión de energía luminosa en ATP (Figura 20.6). Las clorofilas y bacterioclorofilas de los centros de reacción están rodeadas por otras más numerosas clorofilas o bacterioclorofilas captadoras de luz (antenas). Los **pigmentos antena** recogen la luz y transfieren su energía al centro de reacción (Figura 20.6). A las bajas intensidades de luz que suelen darse en la naturaleza, esta disposición de las moléculas de pigmento permite que los centros de reacción capturen los fotones que de otro modo no podrían utilizar.

Clorosomas

Lo más eficaz para capturar luz a baja intensidad es el **clorosoma** (**Figura 20.7**). Los clorosomas se encuentran en las bacterias verdes del azufre, como *Chlorobium* (Sección 16.15). y *Chloroflexus* (Sección 16.18). Los clorosomas son sistemas antena gigantes. Pero a diferencia de los pigmentos antena de otros fotótrofos, las moléculas de bacterioclorofila del clorosoma no están asociadas a proteínas. Los clorosomas contienen bacterioclorofila *c*, *d* o *e* (Figura 20.4) ordenadas en haces similares a varillas colocados a lo largo del eje de la estructura. La luz absorbida por estas bacterioclorofilas antena se transfiere en forma de energía a la bacterioclorofila *a* localizada en en centro de reacción en la membrana citoplasmática (Figura 20.7). Esta distribución de pigmentos es muy eficaz para absorber luz de baja intensidad; la energía luminosa recogida por pigmentos antena se envía al centro de reacción donde se fabrica el ATP. Gracias a esto, las bacterias verdes del azufre pueden crecer a las intensidades de luz más bajas que los demás fotótrofos conocidos. Por lo tanto, las bacterias verdes normalmente se encuentran en las aguas más profundas de los lagos, lagos salados y otros hábitats acuáticos donde se encuentran fotótrofos anoxigénicos.

20.2 Minirrevisión

Las clorofilas y las bacterioclorofilas se localizan en las membranas fotosintéticas en las que se llevan a cabo las reacciones luminosas de la fotosíntesis. Las moléculas de clorofila de la antena recogen la energía luminosa y la transfieren a las clorofilas del centro de reacción. En las bacterias verdes, los clorosomas funcionan como sistemas antena masivos.

- Teniendo en cuenta su función, ¿por qué es necesario que los pigmentos clorofílicos estén ubicados en las membranas?
- ¿Cuál es la diferencia entre el número de moléculas de clorofila en la antena y en el centro de reacción en un complejo fotosintético? ¿Por qué?
- ¿Qué pigmentos se encuentran dentro del clorosoma?

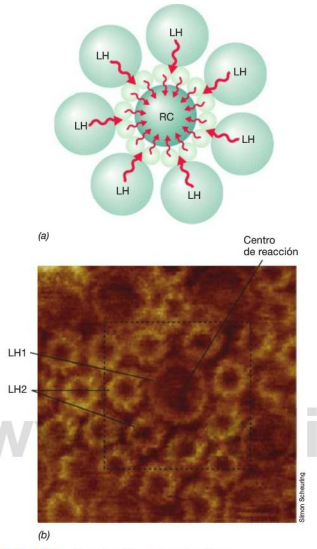


Figura 20.6 **Organización de las clorofilas o bacterioclorofilas que captan la luz y los centros de reacción dentro de la membrana fotosintética.** *(a)* La energía luminosa, absorbida por las moléculas captadoras luz (LH) (luz verde) se transfiere a los centros de reacción (verde oscuro, RC) en el que comienzan las reacciones del transporte fotosintético de electrones. Las moléculas de pigmentos están protegidas dentro de la membrana por proteínas asociadas a los pigmentos. Compárese esta figura con las Figuras 20.13 y 20.15. *(b)* Microfotografía de fuerza atómica de los fotocomplejos de la bacteria púrpura *Phaeospirillum molischianum*. Este organismo tiene dos tipos de complejos captadores de luz, LH1 y LH2. Los complejos LH2 transfieren la energía a complejos LH1, que a su vez la transfieren al centro de reacción.

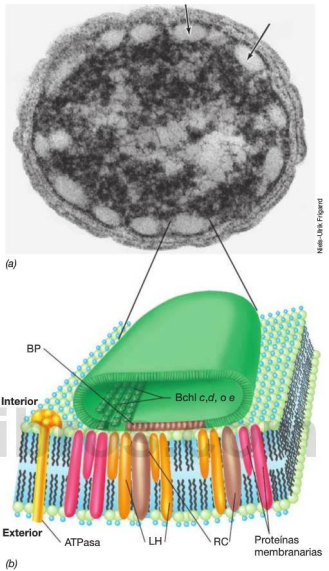


Figura 20.7 **Clorosoma de bacterias del azufre verdes y no del azufre**. *(a)* Fotografía al microscopio electrónico de una célula de la bacteria verde del azufre *Chlorobacterium tepidum*. Obsérvense los clorosomas (flechas). *(b)* Modelo de la estructura del clorosoma. El clorosoma (verde) se asienta sobre la superficie interior de la membrana citoplasmática. Las moléculas de bacterioclorofila (Bchl) de la antena están ordenadas en haces en forma de tubos en el interior del clorosoma, y la energía se transfiere de estas bacterioclorofilas a través de las moléculas Bchl *a* captadoras de luz(LH) a la Bchl *a* del centro de reacción (RC) en la membrana citoplasmática (azul). Las proteínas de la placa basal (BP) funcionan como conectores entre el clorosoma y la membrana citoplasmática.

UNIDAD 4

20.3 Carotenoides y ficobilinas

Aunque la clorofila o la bacterioclorofila es necesaria para la fotosíntesis, los organismos fotótrofos también contienen una colección de pigmentos accesorios. Entre éstos se encuentran los carotenoides y las ficobilinas. Los carotenoides desempeñan principalmente una función fotoprotectora en los fotótrofos anoxigénicos y oxigénicos, mientras que las ficobilinas captan la luz en las cianobacterias.

Carotenoides

Los pigmentos accesorios más frecuentes son los **carotenoides**, que siempre se encuentran en los organismos fo-

tótrofos. Los carotenoides son pigmentos hidrófobos sensibles a luz que se encuentran firmemente insertados en la membrana fotosintética. La **Figura 20.8** muestra la estructura de un carotenoide típico: el β-caroteno. Los carotenoides se componen de unidades de isopreno ramificadas con dobles enlaces conjugados (se alternan lo enlaces C—C y C=C).

Los carotenoides son normalmente amarillos, rojos, marrones o verdes (Figura 15.2) y absorben luz en la región azul del espectro (Figura 20.3). Los carotenoides principales de los fotótrofos anoxigénicos se muestran en la **Figura 20.9**. Estos pigmentos son los responsables de los colores brillantes rojo, púrpura, rosa, verde, amarillo o marrón que se observan en diferentes especies de fotótrofos anoxigénicos (*véase* Figura 20.17).

Los carotenoides se asocian estrechamente a la clorofila y la bacteriocloro fila en los complejos fotosintéticos, pero no funcionan directamente en la síntesis de ATP. Sin embargo, la energía absorbida por los carotenoides se puede transferir al centro de reacción y se utiliza para fabricar ATP. Pero los carotenoides funcionan principalmente como agentes fotoprotectores. La luz brillante puede ser perjudicial para las células porque provoca reacciones fotooxidativas que pueden conducir a la producción oxígeno tóxico, como oxígeno singlete ($^1O_2$) (Sección 6.18). El oxígeno singlete es un oxidante y, por lo tanto, daña los componentes del propio aparato fotosintético. Los carotenoides extinguen las especies de oxígeno tóxicas y absorben buena parte de la luz perjudicial. La función fotoprotectora de los carotenoides constituye una ventaja obvia porque los organismos fotótrofos deben vivir en presencia de luz.

Ficobiliproteínas y ficobilisomas

Los cloroplastos de las cianobacterias y de las algas rojas, que son parientes filogenéticos cercanos de las cianobacterias (Sección 18.20), contiene **ficobiliproteínas**. Son los principales pigmentos antena de estos organismos. Las ficobiliproteínas son tetrapirroles de cadena abierta rojos o azules acoplados a proteínas (**Figura 20.10**). El pigmento rojo, llamado *ficoeritrina*, absorbe el máximo de luz a longitudes de onda próximas a 550 nm, mientras que el pigmento azul, *ficocianina* (Figura 20.10*a*) absorbe con intensidad a 620 nm (**Figura 20.11**). Un tercer pigmento, llamado *aloficocianina*, absorbe a unos 650 nm.

Las ficobiliproteínas se presentan como agregados llamados **ficobilisomas** unidos a membranas fotosintéticas

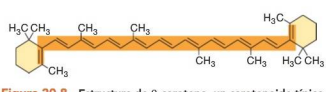


Figura 20.8 **Estructura de β-caroteno, un carotenoide típico.** Se resalta en naranja el sistema de dobles enlaces conjugado.

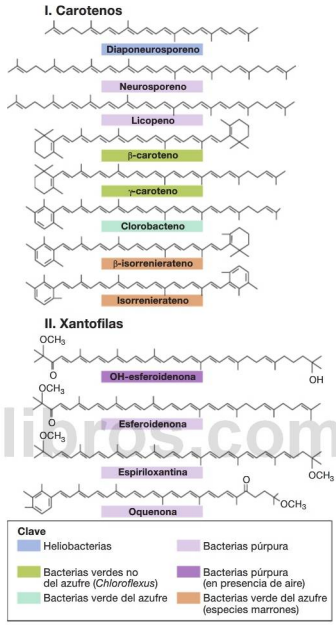


Figura 20.9 **Estructuras de algunos carotenoides comunes encontrados en los fotótrofos anoxigénicos.** Los carotenos son carotenoides hidrocarbonados y las xantofilas son carotenoides oxigenados. Compárese la estructura del β-caroteno mostrada en la Figura 20.8 con la que está aquí. Para simplificar en las estructuras dibujadas aquí, los grupos metilo (CH_3) se designan sólo por sus enlaces.

(Figura 20.10*b*, *c*), Los ficobilisomas están construidos de tal forma que las moléculas de aloficocianina están en contacto directo con la membrana fotosintética. La aloficocianina está rodeada de moléculas de ficocianina o ficoeritrina (o ambas, según el organismo). Los últimos pigmentos absorben luz de longitudes de onda más cortas (mayor energía) y transfieren la energía a la aloficocianina, que está ubicada próxima de la clorofila del centro de reacción y le transfiere la energía a éste (Figura

Libros.com

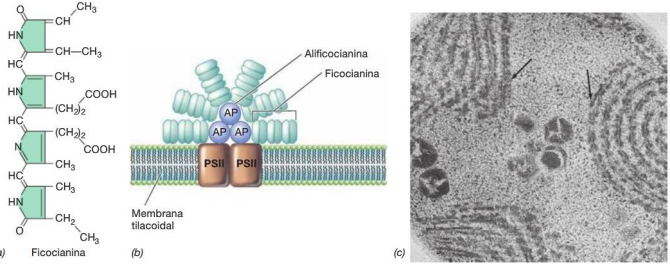


Figura 20.10 **Ficobiliproteínas y ficobilisomas.** *(a)* Una ficobilina típica. Este compuesto consiste en una cadena tetrapirrólica abierta que deriva biosintéticamente de un anillo porfirínico cerrado por la pérdida de un átomo de carbono como monóxido de carbono. La estructura mostrada es el grupo prostético ficocianina, encontrado en las cianobacterias (Sección 16.7) y las algas rojas (Sección 18.20). *(b)* Estructura de un ficobilisoma. La ficocianina absorbe a mayores energías (longitudes de onda más cortas) que la aloficocianina. La clorofila *a* absorbe longitudes de onda más largas (menor energía) que la aloficocianina. Por lo tanto, el flujo de la energía es ficocianina ⟶ Aloficocianina ⟶ Clorofila *a* del fotosistema II. *(c)* Fotografía al microscopio electrónico de una sección fina de la cianobacteria *Synechocystis*. Obsérvese la presencia de ficobilisomas esféricos electrodensos (flecha) unidos a las membranas lamelares.

20.10*b*). Por lo tanto, las ficobilisomas llevan a cabo una transferencia eficaz de energía que permite que la las cianobacterias crezcan a unas intensidades luminosas bajas. En ese sentido, la cantidad de ficobilisomas de una cianobacteria *aumenta* a medida que *disminuye* la intensidad luminosa.

La función concentradora de luz de los pigmentos accesorios, como los carotenoides y las ficobiliproteínas, constituye una ventaja obvia de los organismos fotótrofos. La luz solar se distribuye sobre todo el margen del espectro visible, y las clorofilas absorben sólo en una parte de este espectro. Los pigmentos accesorios permiten que el organismo capture más luz y, por lo tanto, se aumenta la eficacia fotosintética.

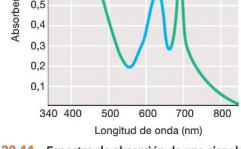


Figura 20.11 **Espectro de absorción de una cianobacteria que tiene una ficocianina por pigmento accesorio.** Obsérvese cómo la presencia de ficocianina amplía las longitudes de onda utilizables de la energía lumínica (entre 600 y 700 nm). Compárese con la Figura 20.3*b*.

20.3 Minirrevisión

Los pigmentos accesorios, como los carotenoides y las ficobilinas, absorben luz y transfieren la energía a la clorofila del centro de reacción, lo que amplía las longitudes de onda utilizables en la fotosíntesis. Los carotenoides también desempeñan un papel fotoprotector importante en la prevención del daño fotooxidativo a las células.

- ¿En qué grupo de fotótrofos se encuentran las ficobiliproteínas?
- Compárese la estructura de una ficobilina con la de una clorofila.
- La ficocianina es verdeazulada. ¿Qué longitud de onda absorbe y por qué?

20.4 Fotosíntesis anoxigénica

En la síntesis de ATP mediante la luz de los organismos fotótrofos, los electrones se transportan a través de una serie de transportadores de electrones distribuidos en el complejo fotosintético desde el potencial de reducción más electronegativo a más electropositivo (el símbolo

para el potencial de reducción es E'_0, Sección 5.6). Esto genera fuerza protonmotriz y posteriormente ATP. La fotosíntesis anoxigénica se encuentra en al menos cuatro filums de bacterias definidos filogenéticamente; proteobacteria (bacterias púrpuras); bacterias verdes del azufre; bacterias verdes no del azufre; y bacterias grampositivas (heliobacterias).

Centros de reacción fotosintéticos

El aparato fotosintético de las bacterias fotótrofas púrpuras está contenido en sistemas membranosos intracitoplasmáticos de morfología variada. Las vesículas membranosas, a veces llamadas *cromatóforos*, o pilas membranosas llamadas *lamelas* constituyen la morfología más frecuente (**Figura 20.12**). Los centros de reacción de las bacterias púrpuras consisten en tres polipéptidos denominados L, M y H. Estas proteínas están firmemente embebidas en la membrana fotosintética y la atraviesan varias veces (**Figura 20.13b**).

Los polipéptidos L, M y H se unen a los pigmentos del centro fotoquímico de reacción, que consta de dos moléculas de bacterioclorofila *a*, llamada el *par especial*; dos moléculas de bacterioclorofilas *a* adicionales de función desconocida, dos moléculas de bacteriofeofitina (bacterioclorofila *a* menos su átomo de magnesio); dos moléculas de quinona; y dos moléculas de un pigmento carotenoide (Figura 20.13*a*). Todos los componentes del centro de reacción se integran de tal modo que pueden interaccionar en reacciones de transferencia de electrones muy rápidas que finalmente conducen a la producción de ATP.

Flujo fotosintético de electrones en las bacterias púrpuras

Recuérdese que cada centro de reacción fotosintético está rodeado por pigmento antena que funcionan canalizando energía lumínica hacia el centro de reacción (Figura 20.6). La energía de los fotones se transfiere desde la antena al centro de reacción en paquetes llamados *excitones*, que son formas móviles de energía que se desplazan con gran eficacia desde los pigmentos antena hasta el centro de reacción.

La fotosíntesis comienza cuando un excitón de energía alcanza el par especial de la molécula de *bacterioclorofila* a (Figura 20.13*a*). La absorción de energía excita el par especial y lo convierte en un potente donador de electrones con un potencial de reducción muy electronegativo. Una vez que se ha generado este potente donador, el resto de etapas del flujo de electrones simplemente conserva la energía liberada cuando los electrones se transportan a través de una membrana desde los transportadores de E'_0 bajos a los E'_0 elevados; luego, el transporte de electrones genera la fuerza protonmotriz (Figura 20.14).

Antes de la excitación, el centro de reacción de las bacterias púrpuras, llamado *P870*, tiene un E'_0 de unos +0,5 V; tras la excitación, tiene un potencial de aproximadamente −1,0 V (**Figura 20.14**). El electrón excitado dentro de P870 pasa a reducir una molécula de bacteriofeofitina *a* dentro del centro de reacción (Figuras 20.13*a* y 20.14). Esta transición es extraordinariamente rápida, y tarda sólo unas tres billonésimas partes (3×10^{-12}) de un segundo. Una vez reducida, la bacteriofeofitina *a* reduce

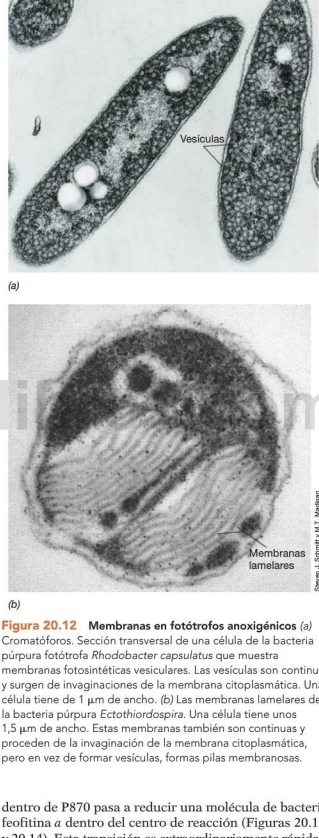


Figura 20.12 **Membranas en fotótrofos anoxigénicos** *(a)* Cromatóforos. Sección transversal de una célula de la bacteria púrpura fotótrofa *Rhodobacter capsulatus* que muestra membranas fotosintéticas vesiculares. Las vesículas son continuas y surgen de invaginaciones de la membrana citoplasmática. Una célula tiene de 1 μm de ancho. *(b)* Las membranas lamelares de la bacteria púrpura *Ectothiordospira*. Una célula tiene unos 1,5 μm de ancho. Estas membranas también son continuas y proceden de la invaginación de la membrana citoplasmática, pero en vez de formar vesículas, formas pilas membranosas.

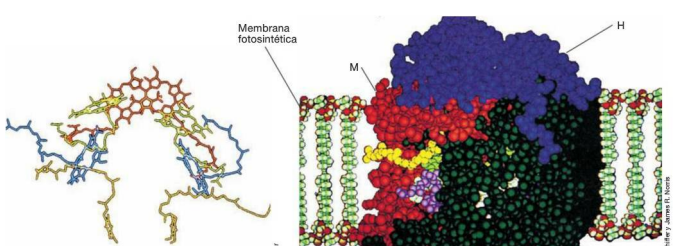
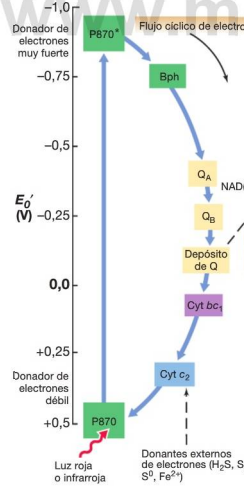


Figura 20.13 **Estructura del centro de reacción de las bacterias fotótrofas púrpuras**. *(a)* Disposición de las moléculas de pigmento en el centro de reacción. El «par especial» de las moléculas de bacterioclorofila se superpone y se muestra en rojo en la parte superior; las quinonas aparecen en amarillo oscuro y se encuentran en la parte inferior de la figura. Las bacterioclorofilas accesorias aparecen en amarillo claro cerca del par especial y las moléculas de bacteriofeofitina se muestran en azul. *(b)* Modelo molecular de la estructura proteica del centro de reacción. Los pigmentos mencionados en *a)* se unen a la membrana por la proteína H (azul), la proteína M (rojo) y la proteína L (verde). El complejo pigmento-proteína del centro de reacción está integrado en la bicapa lipídica.

www.medilibros.com.ar



varias moléculas de quinona intermediarias dentro de la membrana. Esta transición es también muy rápida, y tarda menos de una mil millonésima parte de un segundo (**Figuras** 20.14 y **20.15**). En cuanto a lo que sucede en el centro de reacción, las demás reacciones de transporte de electrones se suceden más bien lentamente, en el orden de microsegundos a milisegundos.

Desde la quinona, los electrones se transportan en la membrana a través de una serie de ferrosulfoproteínas y citocromos (Figuras 20.14 y 20.15), que finalmente regresan al centro de reacción. Las proteínas clave del transporte de electrones incluyen el citocromo bc_1 y citocromo c_2 (Figura 20.14). El citocromo c_2 es periplásmico y sirve de lanzadera de electrones entre el complejo bc_1 unido a la membrana y el centro de reacción (Figuras 20.14 y 20.15).

Fotofosforilación

El ATP se sintetiza durante el flujo fotosintético de electrones desde la actividad de la ATPasa que acopla la fuerza protonmotriz a la formación de ATP (Sección 5.12).

Figura 20.14 **Flujo de electrones en la fotosíntesis anoxigénica en una bacteria púrpura**. Sólo se indica una reacción luminosa. Obsérvese cómo la energía lumínica convierte un donador de electrones débil, el P870, en un donante de electrones muy fuerte, el P870*, y que después de producirse este acontecimiento, las demás etapas del flujo fotosintético de electrones son en su mayoría las mismas que en el flujo respiratorio de electrones (Figura 5.20). Bph: bacteriofeofitina; Q_A, Q_B: quinonas intermediarias; depósito de Q: conjunto de quinonas en la membrana; Cyt: citocromo. Compárese esta Figura con las Figuras 20.15 y 20.19.

UNIDAD 4

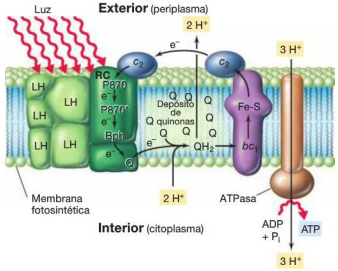


Figura 20.15 Distribución de los complejos proteicos en el centro de reacción de las bacterias púpuras. El gradiente de protones generado por la luz se utiliza para la síntesis de ATP por la ATP-sintasa (ATPasa). LH: complejos de bacterioclorofila captadores de luz; RC: centro de reacción; Bph: bacteriofeofitina; Q: quinona; FeS: ferrosulfoproteína; bc_1: complejo del citocromo bc_1; c_2: citocromo c_2. Para una descripción del funcionamiento de la ATPasa, *véase* la Figura 5.21.

El flujo de electrones se completa cuando el citocromo c_2 dona un electrón al par especial (Figura 20.13), lo que devuelve a estas moléculas de bacterioclorofila al potencial de reposo original ($E_0' = +0{,}5$ V). Entonces, el centro de reacción es capaz de absorber nueva energía y de repetir el proceso.

Este mecanismo de síntesis de ATP se llama **fotofosforilación**, específicamente *fotofosforilación cíclica*, porque los electrones se mueven en un ciclo cerrado. La fotofosforilación cíclica se parece a la respiración en el hecho de que el flujo de electrones a través de la membrana establece una fuerza protonmotriz. Sin embargo, a diferencia de la respiración, en la fotofosforilación cíclica no hay una entrada neta o un consumo de electrones; los electrones simplemente viajan por una vía cerrada.

En la Figura 20.15 se ilustra la disposición espacial de los componentes del transporte de electrones en la membrana fotosintética de las bacterias púrpuras. Obsérvese que en el flujo de electrones respiratorio (Sección 5.11 y Figura 5.20), el complejo del citocromo bc_1 interacciona con el depósito de quinonas durante el flujo fotosintético de electrones como medio fundamental para establecer la fuerza protonmotriz que alimenta la síntesis de ATP (Figura 20.15).

Genética de la fotosíntesis bacteriana

Las bacterias fotótrofas púrpuras son procariotas gramnegativas (Sección 15.2) y algunas especies son muy adecuadas para la manipulación genética. Las especies del gen *Rhodobacter*, especialmente *R. capsulatus* y *R. sphaeroides*, han sido el centro de la investigación genética en la fotosíntesis bacteriana. Se han secuenciado los genomas de estas dos bacterias púrpura. En *Rhodobacter*, la mayoría de estos genes que codifican proteínas que participan en la fotosíntesis están agrupados en varios operones que abarcan una región de 50 kpb del cromosoma llamada el *agrupamiento génico fotosintético* (Figura 20.16). Estos genes codifican las proteínas implicadas en 1) la biosíntesis de bacterioclorofilas (genes *bch*), 2) la biosíntesis de carotenoides (genes *crt*), y 3) el centro de reacción y los fotocomplejos captadores de luz (genes *puf* y *puh*) (**Figura 20.16**).

El agrupamiento génico permite la síntesis coordinada de bacterioclorofilas, carotenoides y proteínas asociadas a los pigmentos en las proporciones correctas para el ensamblaje final en fotocomplejos. La señal maestra reguladora que gobierna la transcripción del agrupamiento génico fotosintético en los fotótrofos anoxigénicos es el O_2. El oxígeno molecular reprime la síntesis de pigmentos en estos organismos de tal modo que la fotosíntesis se produce sólo en condiciones anóxicas. En este sentido, la proteína CrtJ (codificada por *crtJ*) es una proteína reguladora global (Secciones 9.9 y 9.11) que reprime la síntesis las bacterioclorofilas y los carotenoides cuando la cantidad de O_2 supera un determinado umbral.

Para el análisis genético de la fotosíntesis ha sido de ayuda la diversidad bioenergética de las especies de *Rho-*

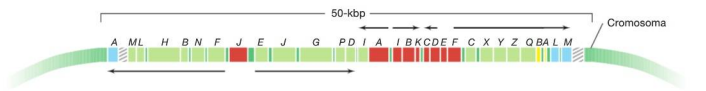


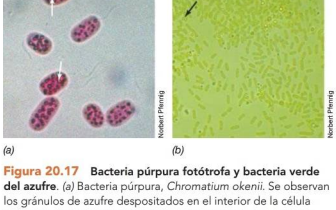
Figura 20.16 Mapa del agrupamiento génico fotosintético de la bacteria fotótrofa púrpura *Rhodobacter capsulatus*. Los genes *bch*, que codifican las proteínas que sintetizan la bacteriocloro fila, se muestran en verde; los genes *crt*, que codifican proteínas que sintetizan los carotenoides, se muestran en rojo (*crtJ* es una excepción por ser una proteína reguladora). Los genes que codifican los polipéptidos del centro de reacción (genes *puh* y *puf*) se muestran en azul, y los genes que codifican los polipéptidos del sistema captador de luz I (complejo B870; genes *puf*) en amarillo. Los genes cuya función se desconoce aparecen rayados en diagonal. Las flechas indican la dirección de la transcripción.

dobacter. Además de su capacidad para la fotosíntesis, estos organismos pueden crecer en la oscuridad gracias a la respiración en presencia o ausencia de oxígeno. Por lo tanto, se pueden obtener con facilidad mutantes incapaces de fotosintetizar, pero que pueden crecer respirando, y se han utilizado en cruces genéticos para caracterizar el número, organización, relevancia y expresión de los genes fotosintéticos (Figura 20.16).

Autotrofia en las bacterias púrpuras: donadores de electrones y transporte inverso de electrones

La formación de ATP no es suficiente para el crecimiento autótrofo de una bacteria púrpura. También se necesita poder reductor (NADH) para que el CO_2 se pueda reducir hasta sustancias celulares. Tal y como se mencionó anteriormente, en las bacterias púrpuras del azufre, el poder reductor se origina con H_2S, aunque en otras especies se pueden utilizar S^0, $S_2O_3^{2-}$ e incluso Fe^{2+} o NO_2^-. Cuando H_2S es el donante de electrones en las bacterias púrpuras del azufre, los glóbulos de S^0 se almacenan dentro de las células (**Figura 20.17*a***).

Sustancias reducidas como H_2S son oxidadas por los citocromos de tipo *c*, y sus electrones finalmente terminan en en «depósito de quinonas» de la membrana fotosintética (Figura 20.14). Sin embargo, la E_0' de quinona (unos 0 V) no es lo suficientemente electronegativo para reducir el NAD^+ (−0,32 V) directamente. En cambio, los electrones del depósito de quinonas se ven obligados a retroceder, contra el gradiente termodinámico, para finalmente reducir el NAD^+ a NADH (Figura 20.14). Este proceso, que requiere energía y se llama **transporte de electrones inverso**, inverso está impulsado por la energía de la fuerza protonmotriz. El **flujo de electrones inverso** es también el mecanismo por el cual los quimiolitótrofos reducen el NAD^+ a NADH, a menudo de donadores de electrones de E_0' muy positivos (Secciones 20.8 a 20.12).



(*a*) (*b*)

Figura 20.17 **Bacteria púrpura fotótrofa y bacteria verde del azufre**. (*a*) Bacteria púrpura, *Chromatium okenii*. Se observan los gránulos de azufre depositados en el interior de la célula (*flechas*). (*b*) Bacteria verde, *Chlorobium limicola*. Los cuerpos refrácteles son gránulos de azufre depositados fuera de la célula (flechas). En ambos casos, los gránulos de azufre proceden de la oxidación del H_2S para obtener el poder reductor. Las células de *C. okenii* miden unos 5 μm de diámetro y las células de *C. limicola* miden unos 0,9 μm. Las dos fotografías son de microscopía de campo claro.

Fotosíntesis en otros fotótrofos anoxigénicos

Hasta ahora, la descripción del transporte fotosintético de electrones se ha centrado en las bacterias púrpuras. Aunque en otros fotótrofos anoxigénicos hay componentes similares de la membrana que impulsan la fotofosforilación, hay diferencias en algunas reacciones fotoquímicas que influyen en la biosíntesis del poder reductor.

La **Figura 20.18** compara el transporte fotosintético de electrones de las bacterias púrpuras, las verdes y las heliobacterias. Obsérvese que en las bacterias verdes y las heliobacterias, el estado excitado de las bacterioclorofilas del centro de reacción reside en un E_0' mucho más electronegativo que en las bacterias púrpuras, y que la propia *clorofila a* (bacterias verdes) o una forma estructuralmente modificada de la clorofila *a*, llamada *hidroxiclorofila a* (en las heliobacterias), está presente en el centro de reacción. Por lo tanto, a diferencia de las bacterias púrpuras, donde la primera molécula aceptora estable (la quinona) tiene un E_0' de unos 0 V (Figura 20.14), los aceptores en las bacteria verdes y las heliobacterias (proteínas FeS) tiene un E_0' mucho más electronegativo que el NADH. Esto afecta de forma importante la síntesis del NADH en estos organismos.

En las bacterias verdes, una proteína llamada *ferredoxina* (reducida por una proteína FeS, Figura 20.18) sirve de donador de electrones directo para las reacciones de fijación del CO_2 en el ciclo inverso del ácido cítrico (Figura 20.24*a*). Así, como en los fotótrofos oxigénicos, (que se explicarán a continuación), en las bacteria verdes, tanto el ATP como el poder reductor son productos directos de las reacciones luminosas. Existe una situación similar en las heliobacterias, pero aquí el esquema se complica por el hecho de hasta ahora no se ha demostrado que exista crecimiento autótrofo (por lo tanto, las heliobacterias son fotoheterótrofos estrictos). Cuando el sulfuro es el donador de electrones para la síntesis del poder reductor en las bacterias verdes, se producen glóbulos de S^0 igual que en el caso de las bacterias púrpuras, pero los glóbulos se forman en el exterior y no en el interior de las células (Figura 20.17*b*).

20.4 Minirrevisión

En el centro de reacción fotosintético de los fotótrofos anoxigénicos se producen una serie de reacciones de transporte de electrones cuyo resultado es la formación de una fuerza protonmotriz y a la síntesis de ATP. En los fotótrofos púrpuras, el poder reductor para la fijación de CO_2 proviene de los reductores presentes en el ambiente y requiere el transporte inverso de electrones para que se sintetice NADH.

UNIDAD 4

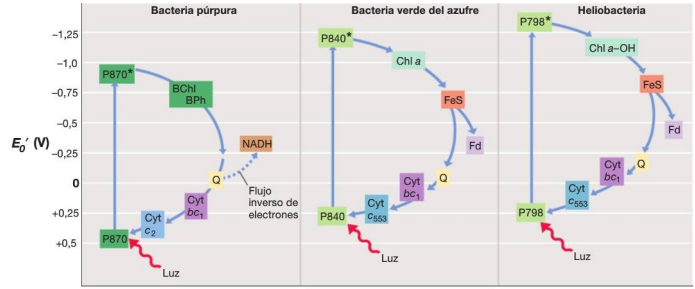


Figura 20.18 Transporte de electrones en las bacterias púrpuras, bacterias verdes del azufre y heliobacterias. Obsérvese que el flujo inverso de electrones en las bacterias púrpuras es necesario para producir NADH porque el aceptor primario (quinona, Q) tiene un potencial más positivo que el par NAD^+/NADH. En las bacterias verdes y las heliobacterias, la ferredoxina (Fd), cuyo E_0' es más negativo que el de NADH, se produce por reacciones impulsadas por la luz. En las bacterias verdes, la ferredoxina es el poder reductor para la autrofia en vez de NADH (Figura 20.24*a*). Bchl, bacterioclorofila; BPh, bacteriofeofitina. P870 y P840 son centros de reacción de las bacterias púrpuras y las verdes, respectivamente, y consisten en Bchl *a*. El centro de reacción de la heliobacteria (P798) contiene Bchl *g*, y el centro de reacción de *Chloroflexus* es del tipo de las bacterias púrpuras. Obsérvese la presencia de clorofila *a* en los centros de reacción de las bacterias verdes y las heliobacterias.

www.medilibros.com

- Compárese la fotofosforilación con la fosforilación que se produce por el transporte de electrones en la respiración.
- ¿Qué es el transporte inverso de electrones y por qué es necesario? ¿Qué fotótrofos necesitan utilizar el transporte inverso de electrones?

20.5 Fotosíntesis oxigénica

A diferencia del transporte de electrones en los fotótrofos *anoxigénicos*, el flujo de electrones en los fotótrofos *oxigénicos* se desarrolla a través de dos reacciones fotoquímicas diferentes pero interconectadas. Los fotótrofos oxigénicos utilizan la luz para generar ATP y NADPH, y los electrones para este último proceden de la separación del agua en oxígeno y electrones (Figura 20.2). Los dos sistemas de reacciones luminosas se llaman *fotosistema I* y *fotosistema II*, y cada uno tiene una forma espectralmente diferente de la clorofila *a* del centro de reacción. La clorofila del fotosistema (PS) I, llamada P700, absorbe la luz de longitud de onda grande (infrarrojo) mientras que la clorofila del PS II, llamada P680, absorbe la luz de longitud de onda más cortas (casi rojo)

Como en la fotosíntesis anoxigénica, las reacciones fotoquímicas oxigénicas se producen en las membranas. En las células eucariotas, estas membranas se encuentran en el cloroplasto (Figura 20.5) mientras que en las cianobacterias, las membranas fotosintéticas se apilan en el citoplasma (Figura 20.6). En ambos grupos de fotótrofos, las membranas están dispuestas de un modo similar, y las dos formas de clorofila *a* se unen a proteínas específicas en la membrana e interaccionan como se muestra en la **Figura 20.19**.

Transporte de electrones en la fotosíntesis oxigénica

La trayectoria del transporte de electrones en los fotótrofos oxigénicos se parece a una Z tumbada de costado, y en la Figura 20,19 se perfila este llamado «esquema en Z» de la fotosíntesis. El potencial de reducción de la molécula de la clorofila *a* P680 en el PS II es muy electropositivo, incluso más positivo que el del par O_2/H_2O. Esto facilita la primera etapa en el transporte de electrones oxigénico, la separación del agua en oxígeno y los átomos de hidrógeno (Figura 20.19), una reacción que es muy desfavorable termodinámicamente. Un electrón del agua pasa a la molécula P680 oxidada después de la absorción de un cuanto de luz de unos 690 nm. La energía lumínica convierte P680 en un reductor moderadamente fuerte, capaz de reducir una molécula con un E_0' de unos −0,5 V. Se desconoce la naturaleza de esta molécula, pero probablemente se trate de la feofitina *a* (clorofila *a* menos su átomo de magnesio).

Desde aquí, el electrón excitado viaja a través de varios transportadores de la membrana, que incluyen quinonas, citocromos y una proteína que contiene cobre lla-

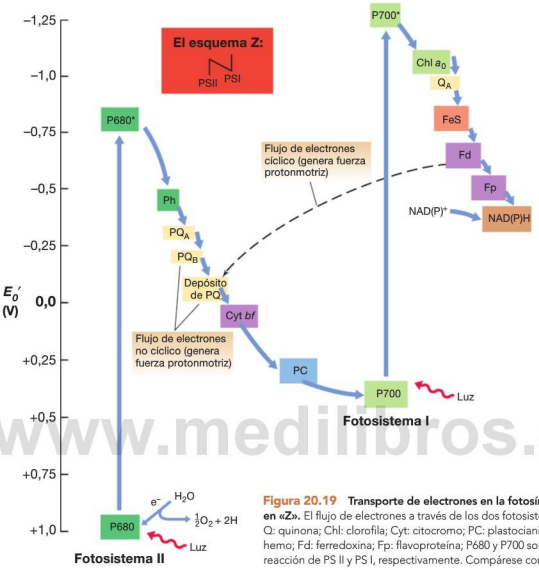


Figura 20.19 **Transporte de electrones en la fotosíntesis oxigénica: el esquema en «Z».** El flujo de electrones a través de los dos fotosistemas, PS I y PS II. Ph: feofitina; Q: quinona; Chl: clorofila; Cyt: citocromo; PC: plastocianina; FeS: ferrosulfoproteína sin hemo; Fd: ferredoxina; Fp: flavoproteína; P680 y P700 son las clorofilas del centro de reacción de PS II y PS I, respectivamente. Compárese con la Figura 20.14.

www.medilibros.com

mada *plastocianina* que cede el electrón a PS I. El electrón es aceptado por la clorofila del centro de reacción del PS I, P700, que previamente ha absorbido cuantos de luz y ha comenzado las etapas que conducen a la reducción de $NADP^+$. Se transfieren los electrones a través de varios transportadores con E_0' cada vez más electropositivos, que terminan con la reducción de $NADP^+$ en NADPH (Figura 20.19).

Síntesis de ATP en la fotosíntesis oxigénica

Además de la síntesis neta de poder reductor (es decir, NADPH), se producen otros hechos importantes mientras que los electrones fluyen en la membrana fotosintética de un fotosistema a otro. Durante la transferencia de un electrón del aceptor en el PS II a la molécula de la clorofila del centro de reacción del PS I, el electrón sigue una ruta termodinámicamente favorable (negativa a positiva). Esto genera una fuerza protonmotriz de la que se puede producir ATP. Este mecanismo de la síntesis de ATP se llama *fotofosforilación no cíclica* porque los electrones aquí no vuelven a reducir el P680 oxidado, pero en cambio se utilizan en la reducción de $NADP^+$.

Cuando existe suficiente poder reductor, también se puede producir ATP en los fotótrofos oxigénicos mediante la fotofosforilación *cíclica*. Esto se produce cuando los electrones viajan de la ferredoxina al complejo del citocromo *bf* (el complejo *bf* es análogo al complejo bc_1 de los fotótrofos anoxigénicos, Figura 20.14) desde el cual el transporte de electrones devuelve el electrón a P700. Este flujo crea una fuerza protonmotriz y la síntesis de ATP adicional (línea discontinua en la Figura 20.19).

Fotosíntesis anoxigénica en los fotótrofos oxigénicos y evolución de la fotosíntesis

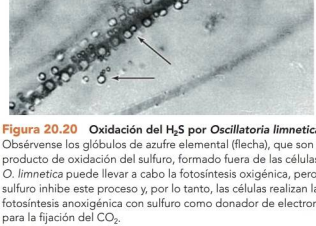
Los fotosistemas I y II normalmente funcionan en tándem en la fotosíntesis oxigénica. Sin embargo, en determinadas condiciones, por ejemplo si la actividad de PSII estuviera bloqueada, algunas algas y cianobacterias lle-

van a cabo la fotofosforilación cíclica utilizando sólo el PS I, obteniendo el poder reductor para la reducción de CO_2 de otras fuentes que no son el agua. Esto es, efectivamente, la fotosíntesis anoxigénica.

Muchas cianobacterias utilizan H_2S como donador de electrones para la fotosíntesis anoxigénica, mientras que muchas algas verdes utilizan el H_2. Cuando se utiliza el H_2S, se oxida a azufre elemental (S^0) y los gránulos de azufre similares a los producidos por las bacterias verdes del azufre (Figura 20.17*b*) se depositan fuera de las células de las cianobacterias. En la **Figura 20.20** se muestra un ejemplo de todo ello con la cianobacteria filamentosa *Oscillatoria limnetica*. Este organismo vive en las charcas salinas ricas en sulfuros, donde lleva a cabo la fotosíntesis anoxigénica junto con las bacterias verdes y las bacterias púrpuras fotosintéticas, y produce azufre como un producto de oxidación del sulfuro (Figura 20.20). En los cultivos de *O. limnetica*, el transporte de electrones por el PS II está muy inhibido por el H_2S, por lo que el organismo necesita la fotosíntesis anoxigénica para sobrevivir.

Desde un punto de vista evolutivo, la existencia de la fotofosforilación cíclica en los fotótrofos oxigénicos y anoxigénicos es una de las muchas indicaciones de su estrecha relación. Los fotótrofos oxigénicos como *O. limnetica* han adquirido el PS II y por lo tanto la capacidad para escindir el agua. Sin embargo, *O. limnetica* todavía conserva la capacidad, en determinadas condiciones, de utilizar el fotosistema I solo, al igual que los fotótrofos anoxigénicos durante el crecimiento fotótrofo.

Otras pruebas de las relaciones evolutivas entre los fotótrofos residen en el descubrimiento de que la estructura del centro de reacción fotosintético de las bacterias púrpuras se parece a la del PS II, mientras que la estructura del centro de reacción de las bacterias verdes del azufre y las heliobacterias se parece a la del PS I. Ya que cada vez hay más pruebas que demuestran que las bacterias púrpuras y las verdes precedieron a las cianobacterias en la Tierra, quizás hasta 0,5 mil millones de años (Sección 14.3), resulta evidente que la fotosíntesis anoxigénica fue la primera forma de fotosíntesis sobre la Tierra. Las cianobacterias aparecieron más tarde, tomando características clave de sus predecesores anoxigénicos y desarrollando el nuevo e importante proceso que consiste en utilizar el agua como donador de electrones.



Yekutiel Cohen y Moshe Ballo

Figura 20.20 **Oxidación del H_2S por *Oscillatoria limnetica*.** Obsérvense los glóbulos de azufre elemental (flecha), que son el producto de oxidación del sulfuro, formado fuera de las células. *O. limnetica* puede llevar a cabo la fotosíntesis oxigénica, pero el sulfuro inhibe este proceso y, por lo tanto, las células realizan la fotosíntesis anoxigénica con sulfuro como donador de electrones para la fijación del CO_2.

20.5 Minirrevisión

En la fotosíntesis oxigénica, el agua dona electrones para impulsar la autotrofia, y se produce oxígeno como un subproducto. Hay dos fotocomplejos diferentes: PS I y PS II. PS I se parece al sistema de la fotosíntesis anoxigénica. PS II escinde el H_2O para producir O_2 y electrones.

- ¿Por qué se utiliza el término «transporte de electrones no cíclico» en relación con la fotosíntesis oxigénica?
- ¿Cuáles son las diferencias principales entre las dos moléculas de clorofila del centro de reacción de los fotosistemas I y II en relación con a sus propiedades de absorción y el E_0' de los estados en reposo y excitado?

Libros.com

II AUTOTROFIA

La autotrofia es el proceso mediante el cual el CO_2 se asimila como fuente de carbono. Muchos microorganismos son autótrofos, como lo son los macroorganismos fotótrofos: las plantas verdes. Y, cuando tratemos el metabolismo anaerobio en el próximo capítulo, nos encontraremos otra vez con la autotrofia, pero con un mecanismo diferente al descrito aquí. Aquí vamos a tratar la autotrofia en los microorganismos fotótrofos, de la cual se conocen al menos tres vías. Una vía, el ciclo de Calvin, está muy extendida y por ella comenzaremos.

20.6 El ciclo de Calvin

Se conocen varios mecanismos bioquímicos para la fijación de CO_2 en sustancias celulares para el crecimiento autótrofo. El **ciclo de Calvin**, llamado así por su descubridor, Melvin Calvin, requiere NAD(P)H, ATP y dos enzimas clave, *la ribulosa-difosfato-carboxilasa* y la *fosforribulocinasa*. El resto del ciclo está catalizado por enzimas utilizadas para otros propósitos en un gran número de organismos.

RubisCO y la formación del PGA

La primera etapa en el ciclo de Calvin está catalizado por la enzima ribulosa-difosfato-carboxilasa, abreviada como **RubisCO**. El ciclo de Calvin está presente en las bacterias púrpuras, las cianobacterias, las algas, las plantas

verdes, la mayoría de los quimiolitótrofos del dominio *Bacteria* e incluso algunas de las halófilas e hipertermófilas del dominio arqueas. La RubisCO cataliza la formación de dos moléculas de ácido 3-fosfoglicérico (PGA) a partir de ribulosa-difosfato y CO_2 como se muestra en la **Figura 20.21.** Luego, el PGA se fosforila y se reduce a un intermediario clave de la glucólisis: el gliceraldehído-3-fosfato. Desde aquí, se puede formar glucosa mediante el camino inverso de las primeras etapas de la glucólisis (Sección 5.10 y Figura 5.15).

Estequiometría del ciclo de Calvin

Conviene pensar en las reacciones del ciclo de Calvin sobre la base de la incorporación de 6 moléculas de CO_2, que es lo que se requiere para fabricar 1 molécula de glucosa ($C_6H_{12}O_6$). Para que la RubisCO incorpore 6 moléculas de CO_2, se necesitan 6 moléculas de ribulosa-difosfato (30 carbonos en total); la carboxilación de cada una produce 12 moléculas de PGA (36 átomos de carbono en total) (**Figura 20.22**). Entonces se forman los esqueletos de carbono para 6 moléculas de ribulosa-difosfato (30 carbonos en total) y una molécula de hexosa (6 carbonos), que se utiliza para la biosíntesis celular (Figura 20.22).

A continuación, se producen una serie de reorganizaciones que implican azúcares de C_3, C_4, C_5, C_6 y C_7, lo que produce 6 moléculas de ribulosa-5-fosfato (30 carbonos en total). La última etapa consiste en la fosforilación de la ribulosa-5-fosfato con gasto de ATP mediante la enzima fosforribulocinasa (Figura 17.21*c*) para regenerar la molécula aceptora: la ribulosa-difosfato. Al igual que la RubisCO, la fosforribulocinasa es exclusiva del ciclo de Calvin.

En la estequiometría global del ciclo de Calvin (Figura 20.22) se necesitan 12 moléculas de ATP y NADPH para reducir 12 moléculas de PGA en 12 moléculas de gliceraldehído-3-fosfato. Se necesitan seis moléculas más de ATP para convertir la 6 moléculas de ribulosa-fosfato en 6 de ribulosa-difosfato. Por lo tanto, se necesitan 12 NADPH y 18 ATP para sintetizar 1 hexosa a partir de 6 CO_2 mediante el ciclo de Calvin. Luego, las moléculas de hexosa se convierten en polímeros de almacenamiento como glucógeno, almidón o poli-β-hidroxialcanoatos (Sección 4.10) que se utilizan más tarde para construir nuevo material celular.

UNIDAD 4

www.medilibros.com

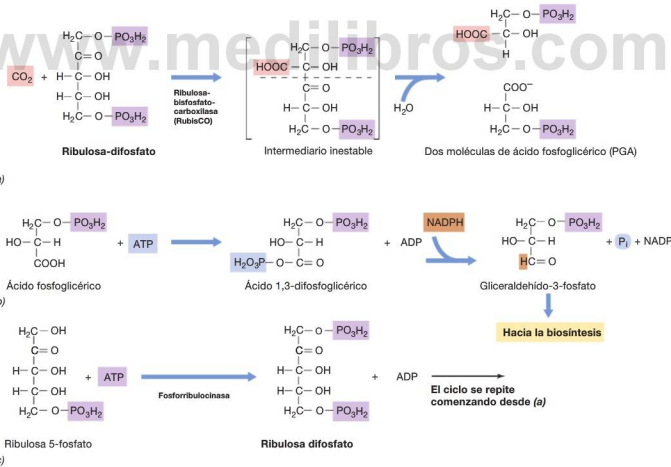


Figura 20.21 Reacciones clave del ciclo de Calvin. *(a)* Reacción de la enzima ribulosa-difosfato-carboxilasa. *(b)* Etapas en la conversión del ácido 3-fosfoglicérico (PGA) en gliceraldehído-3-fosfato. Obsérvese que se necesita tanto ATP como NADPH. *(c)* Conversión de la ribulosa-5-fosfato en la ribulosa-difosfato (molécula aceptora de CO_2) por la enzima fosforribulocinasa.

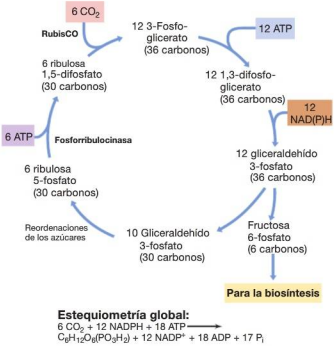


Figura 20.22 El ciclo de Calvin. Se muestra la producción de una molécula de hexosa a partir de CO_2. Por cada seis moléculas de CO_2 incorporadas, se produce una de fructosa-6-fosfato. En los fotótrofos, el ATP procede de la fotofosforilación y el NAD(P)H de la luz o del flujo inverso de electrones. El código de colores utilizado permite seguir las reacciones bioquímicas de la Figura 20.21.

Carboxisomas

Varios procariotas autótrofos que utilizan el ciclo de Calvin para fijar el CO_2 producen inclusiones celulares poliédricas llamadas **carboxisomas**. Estas inclusiones tienen unos 100 nm de diámetro, están rodeadas de una delgada membrana no unitaria, y consisten en un ordenamiento cristalino de las moléculas de RubisCO (**Figura 20.23**; Figuras 15.9*a*). Los carboxisomas son un mecanismo para aumentar la cantidad total de RubisCO en la célula para fijar con más rapidez el CO_2 sin aumentar la osmolaridad del citoplasma que se produciría si las moléculas de RubisCO en el carboxisoma se disolvieran en el citoplasma.

Los carboxisomas se han detectado en las bacterias quimiolitótrofas estrictas oxidadoras de azufre, las bacterias nitrificantes, y las cianobacterias y proclorofitas. No aparecen en los autótrofos facultativos (organismos que pueden crecer como autótrofos o como heterótrofos), como los fotótrofos anoxigénicos púrpuras. Con todo esto, el carboxisoma parece ser una adaptación evolutiva de la vida en condiciones autótrofas estrictas.

Figura 20.23 Enzimas cristalizadas del ciclo de Calvin: carboxisomas. Fotografía al microscopio electrónico de los carboxisomas purificados del quimiolitótrofo oxidador de azufre *Halothiobacillus neapolitanus*. Las estructuras miden unos 100 nm de diámetro. Los carboxisomas están presentes en una gran variedad de procariotas autótrofos estrictos.

20.6 Minirrevisión

En la mayoría de los organismos fotótrofos y en otros organismos autótrofos, el CO_2 se fija mediante el ciclo de Calvin, en el que la enzima RubisCO desempeña una función importante. El ciclo de Calvin es un proceso que consume energía que convierte el CO_2 en azúcar.

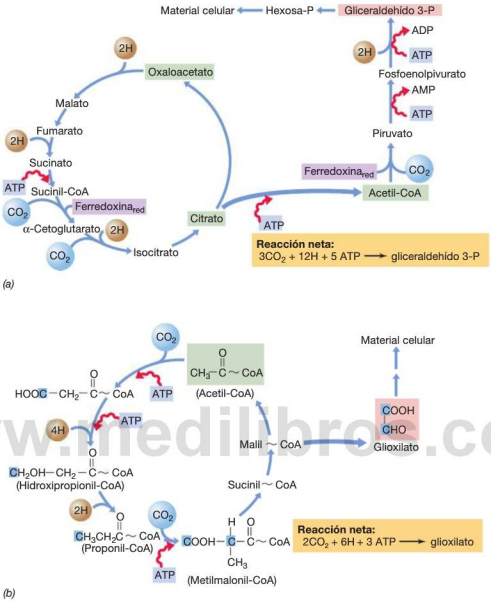
- ¿Qué reacción lleva a cabo la enzima RubisCO?
- ¿Por qué se necesita poder reductor para el crecimiento autótrofo?
- ¿Qué es un carboxisoma?

www.medilibros.com

20.7 Otras vías autótrofas en los fotótrofos

Las vías para la fijación autótrofa del CO_2 difieren entre las bacterias verdes del azufre y no del azufre. En las bacterias verdes del azufre *Chlorobaculum* y *Chlorobium* (Figuras 20.7*a* y 20.17b), el CO_2 se fija mediante la inversión de las etapas del ciclo del ácido cítrico (Figura 5.21), una vía llamada el **ciclo inverso del ácido cítrico** (**Figura 20.24***a*). Las bacterias verdes del azufre contienen dos enzimas unidas a la ferredoxina que catalizan la fijación reductora del CO_2 en intermediarios del ciclo del ácido cítrico. La ferredoxina es un donador de electrones con un E'_0 muy electronegativo, unos −0,4 V. Las dos reacciones ligadas a la ferredoxina catalizan la carboxilación del succinil-CoA a α-cetoglutarato y la carboxilación del acetil-CoA a piruvato (Figura 20.24*a*). La mayor parte de las demás reacciones del ciclo inverso del ácido cítrico están catalizadas por enzimas que trabajan en el sentido inverso de la dirección oxidativa normal del ciclo. Una excepción es la *citrato-liasa*, una enzima dependiente de ATP que escinde el citrato en acetil-CoA y oxaloacetato en las bacterias verdes del azufre (Figura 20.24*a*). En la dirección oxidativa del ciclo, se produce citrato a partir de estos mismos precursores por la enzima *citrato-sintasa*.

El ciclo inverso del ácido cítrico como mecanismo de autotrofia también se ha encontrado en algunas procariotas no fotótrofos. Por ejemplo, las hipertermófilas *Thermoproteus* y *Sulfolobus*, ambas arqueas (Sec-



www.medilibros.com

Figura 20.24 **Vías autótrofas exclusivas de las bacterias verdes fotótrofas.** *(a)* El ciclo inverso del ácido cítrico es el mecanismo de la fijación del CO_2 en las bacteria verdes del azufre. La ferrodoxina$_{red}$ indica las reacciones de carboxilación que requieren ferredoxina reducida (2H cada una). En *Chlorobium*, la ferredoxina reducida se genera mediante reacciones impulsadas por la luz (Figura 20.18). Empezando desde el oxaloacetato, cada vuelta del ciclo supone la incorporación de tres moléculas de CO_2 y la producción de piruvato. La escisión de citrato por la enzima citrato liasa dependiente de ATP regenera el aceptor C_4 oxaloacetato y produce acetil-CoA para la biosíntesis. La conversión del piruvato en fosfoenolpiruvato consume dos equivalentes de enlaces fosfato de alta energía. El NADH o el FADH suministran las demás necesidades de poder reductor del ciclo. *(b)* La vía del hidroxipropianato es la vía autótrofa de la bacteria verde no del azufre *Chloroflexus* (Sección 16.18) El acetil-CoA se carboxila dos veces para producir metilmalonil-CoA. Este intermediario se reordena para producir una nueva molécula aceptora de acetil-CoA y una molécula de glioxilato, que se convierte en material celular utilizando como intermediario un aminoácido. La fuente de poder reductor en la vía del hidroxipropionato es el NADPH.

ción 17.10) y *Aquifex* (bacteria; Sección 16.20) emplean el ciclo inverso del ácido cítrico para el crecimiento autótrofo, como hacen algunas bacterias quimiolitótrofas del azufre como *Thiomicrospira*. Por lo tanto, esta vía, descubierta originalmente en las bacterias verdes del azufre y que se creía que sólo estaba presente en estos fotótrofos, esté probablemente distribuida entre varios grupos de procariotas autótrofos.

Autotrofia en *Chloroflexus*

El fotótrofo verde no del azufre *Chloroflexus* (Sección 16.18) crece de manera autótrofa ya sea con H_2 o H_2S

como donador de electrones. Sin embargo, en este organismo no operan ni el ciclo de Calvin ni el ciclo inverso del ácido cítrico. En su lugar, dos moléculas de CO_2 se reducen a glioxilato mediante una vía cíclica particular: la **vía del hidroxipropionato**. Esta vía recibe este nombre porque el hidroxipropionato, un compuesto de tres carbonos, es un intermediario clave (Figura 20.24*b*).

En las bacterias fotótrofas, la vía del hidroxipropionato se ha confirmado sólo en *Chloroflexus*, el fotótrofo anoxigénico de la rama más primitiva en el árbol del dominio *Bacteria* (Figura 15.1), lo que sugiere que esta vía constituye el primer intento de autotrofia en los fotótrofos anoxigénicos. Pero además de *Chloroflexus*, la vía del hidroxipropionato funciona en varias arqueas hipertermófilas, incluida *Metallosphaera*, *Acidianus* y *Sulfolobus* (Sección 17.10). Todos ellos son procariotas no fotótrofos y se ubican cerca de la base del dominio de las arqueas. Por lo tanto, las raíces de la vía del hidroxipropionato pueden ser muy profundas; quizás fue el primer intento de la naturaleza para la autotrofia de cualquier organismo procariota.

20.7 Minirrevisión

El ciclo inverso del ácido cítrico y el ciclo del hidroxipropionato son vías de la fijación del CO_2 en las bacterias verdes del azufre y no del azufre, respectivamente, así como entre otros procariotas.

- Explique al menos tres maneras para diferenciar una bacteria púrpura del azufre de una bacteria verde del azufre, incluida la vía de la fijación del CO_2.
- ¿Qué similitudes y diferencias existen entre las bacterias verdes del azufre y las bacterias verdes no del azufre, incluida la vía de fijación del CO_2?

II QUIMIOLITOTROFIA

En los siguientes cuatro apartados nos centraremos en los quimiolitótrofos, subrayando las estrategias, los problemas y las ventajas de un estilo de vida enfocado hacia el uso de sustancias químicas inorgánicas como fuentes de energía.

20.8 Energética de la quimiolitotrofia

Los organismos que obtienen energía de la oxidación de compuestos *inorgánicos* se llaman **quimiolitótrofos**. La mayor parte de las bacterias quimiolitótrofas también obtienen el carbono del CO_2, por lo que también son autótrofos. Tal como hemos señalado, para crecer con CO_2 como una única fuente de carbono, un organismo necesita 1) energía (ATP) y 2) poder reductor (NADH o ferredoxina reducida). Algunos quimiolitótrofos son **mixótrofos**, lo que significa que aunque sean capaces de obtener energía de la oxidación de un compuesto inorgánico, requieren un compuesto orgánico como fuente de carbono.

La generación de ATP en los quimiolitótrofos es similar a la de los quimioorganótrofos, salvo que el donador de electrones es inorgánico en vez de orgánico. Las cadenas del transporte de electrones están presentes y la síntesis de ATP se produce por medio de las ATPasas. El poder reductor en los quimiolitótrofos se obtiene de una de las dos maneras siguientes: directamente del compuesto inorgánico, si tiene un potencial de reducción suficientemente bajo, como el H_2, o mediante reacciones del transporte inverso de electrones (como se explicó en el Sección 20.4 para las bacterias púrpuras fotótrofas) si el donador de electrones es más electropositivo que el NADH. Como veremos, lo último es lo más normal.

Fuentes de donadores de electrones inorgánicos

Hay muchas fuentes de donadores inorgánicos de electrones para los quimiolitótrofos. Pueden ser geológicos, biológicos o antropogénicos (resultantes de las actividades humanas). La actividad volcánica es uno de los principales suministros de compuestos reducidos de azufre, principalmente H_2S. Las labores agrícolas y la minería añaden donadores inorgánicos de electrones al ambiente, especialmente compuestos nitrogenados reducidos y de hierro, al igual que la combustión de los combustibles fósiles y el aporte de residuos industriales. Las fuentes biológicas también son realmente numerosas, en especial la producción de H_2S, H_2 y NH_3. El éxito ecológico y la diversidad metabólica de los quimiolitótrofos son una prueba de la diversidad de las fuentes y la abundancia de donadores inorgánicos de electrones disponibles en la naturaleza.

Energética de la quimiolitotrofia

La lista de los potenciales de reducción de la Tabla A1.2 revela que numerosos compuestos inorgánicos pueden proporcionar energía suficiente para la síntesis de ATP cuando se oxida con O_2 como aceptor de electrones. Recuérdese del capítulo 5 que cuanto más distantes están dos semirreacciones en términos de E'_0, mayor es la cantidad de energía liberada. Por ejemplo, la diferencia en el potencial de reducción entre el par $2H^+/H_2$ y el par $1/2\ O_2/H_2O$ es $-1{,}23$ V, que es equivalente a una energía libre de -237 kJ/mol (el apéndice 1 contiene los cálculos). Por otra parte, la diferencia potencial entre el par $2H+/H_2$ y el par NO_3^-/NO_2^- es menor, $-0{,}84$ V, equivalente a una energía libre de -163 kJ/mol. Esto es aún suficiente para producir ATP (el enlace de fosfato de alta energía del ATP tiene una energía libre de $-31{,}8$ kJ/mol). Sin embargo, un cálculo similar mostrará que no hay suficiente energía disponible, por ejemplo, en la oxidación de H_2S a S_0 cuando se utiliza el CO_2 como aceptor de electrones y se produce CH_4 (Apéndice 1).

Los cálculos de energía hacen posible predecir los tipos de quimiolitótrofos que se pueden encontrar en la naturaleza. Como los organismos deben obedecer las leyes de la termodinámica, sólo las reacciones que son termodinámicamente favorables serán capaces de liberar energía potencial. La **Tabla 20.1** resume la producción de energía de algunas reacciones en los organismos quimiolitótrofos, que se trataron en los capítulos 15 a 17. En el capítulo 23 se examinarán los aspectos ecológicos de la quimiolitotrofia, donde veremos que las reacciones quimiolitótrofas son el centro de los ciclos de la mayoría de los nutrientes.

20.8 Minirrevisión

Los quimiolitótrofos oxidan sustancias químicas inorgánicas para conseguir energía y poder reductor. La mayoría de los quimiolitótrofos también pueden crecer autotróficamente.

- ¿Con qué doble propósitos utilizan los quimiolitótrofos los compuestos inorgánicos?
- ¿Por qué la oxidación de H_2 produce más energía con O_2 como aceptor de electrones que cuando es el SO_4^{2-}?

20.9 Oxidación del hidrógeno

El hidrógeno (H_2) es un producto habitual del metabolismo microbiano, y una serie de quimiolitótrofos son capaces de utilizarlo como donador de electrones en el metabolismo energético. Se conocen anaerobios oxidadores de H_2 en los dominios *Bacteria* y *Archaea*, que difieren en el aceptor de electrones que utilizan (por ejemplo, nitrato, sulfato, hierro férrico y otros), que se explicarán en el próximo capítulo. Aquí consideramos sólo las bacterias *aerobias* oxidadoras de H_2.

Energética de la oxidación del H_2

La generación de ATP durante la oxidación del H_2 por el O_2 es resultado de la formación de una fuerza protonmotriz. La reacción global

$$H_2 + \tfrac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O \quad \Delta G^{0\prime} = -237 \text{ kJ}$$

es muy exergónica y, por lo tanto, sirve para sintetizar ATP. En esta reacción, catalizada por la enzima **hidrogenasa**, los electrones del H_2 se transfieren inicialmente a una quinona aceptora. Desde aquí, los electrones pasan a través de una serie de citocromos para finalmente reducir el O_2 a agua (Figura 20.25).

Algunas bacterias de hidrógeno tienen dos hidrogenasas diferentes, una citoplásmica y otra integrada en la membrana. La enzima unida a la membrana participa en la energética, mientras que la soluble asimila H_2 y reduce el NAD^+ a NADH directamente (el potencial de reducción del H_2, −0,42 V, es tan bajo que no se necesita el flujo inverso de electrones para fabricar el poder reductor; (**Figura 20.25**). El organismo *Ralstonia eutropha* se ha utilizado como modelo para estudiar la oxidación aerobia del H_2. Algunas de las propiedades de este organismo se describen en la Sección 15.5.

Autotrofia en las bacterias del H_2

Aunque la mayoría de las bacterias del hidrógeno también pueden crecer como quimioorganótrofos, cuando lo hacen de forma quimiolitótrofa, fijan el CO_2 mediante el ciclo de Calvin (Sección 20.6). La estequiometría es la siguiente:

$$6H_2 + 2O_2 + CO_2 \rightarrow (CH_2O) + 5H_2O$$

donde (CH_2O) representa el material celular. Sin embargo, cuando hay compuestos orgánicos listos para usar, como la glucosa, en las bacterias del H_2 se reprime la síntesis del ciclo de Calvin y de las enzimas hidrogenasa. En la naturaleza, la cantidad de H_2 en los ambientes óxicos es transitoria y baja en el mejor de los casos; la mayor parte de la producción biológica de H_2 se obtiene de las

Tabla 20.1 Rendimiento energético de la oxidación de varios donadores inorgánicos de electrones[a]

Donador de electrones	*Reacción quimiolitótrofa*	*Grupo de quimiolitótrofos*	E_0' *del par (V)*	$\Delta G^{0\prime}$, *(kJ/reacción)*	*Número de electrones/ reacción*	$\Delta 09$ *(kJ/2e⁻)*
Fosfito[b]	$4\,HPO_3^{2-} + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow 4\,HPO_4^{2-} + HS^-$	Bacterias del fosfito	−0,69	−91	2	−91
Hidrógeno	$H_2 + 1\,\frac{1}{2}\,O_2 \rightarrow H_2O$	Bacterias del hidrógeno	−0,42	−237,2	2	−237,2
Sulfuro	$HS^- + H^+ + \frac{1}{2}\,O_2 \rightarrow S^0 + H_2O$	Bacterias del sulfuro	−0,27	−209,4	2	−209,4
Azufre	$S^0 + 1\,\frac{1}{2}\,O_2 + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + 2\,H^+$	Bacterias del sulfuro	−0,20	−587,1	6	−195,7
Amonio[c]	$NH_4^+ 1\,\frac{1}{2}\,O_2 \rightarrow NO_2^- + 2\,H^+ + H_2O$	Bacterias nitrificantes	+0,34	−274,7	6	−91,6
Nitrito	$NO_2^- + \frac{1}{2}\,O_2 \rightarrow NO_3^-$	Bacterias nitrificantes	+0,43	−74,1	2	−74,1
Hierro ferroso	$Fe^{2+} + H^+ + \frac{1}{4}\,O_2 \rightarrow Fe^{3+} + \frac{1}{2}\,H_2O$	Bacterias del hierro	+0,77	−32,9	1	−65,8

[a] Datos calculados de los valores de E_0' que aparecen en el Apéndice 1; los valores para Fe^{2+} son a pH 2 y los otros a pH 7. A pH 7, el valor para el par Fe^{3+}/Fe^{2+} es de unos +0,2 V.
[b] A excepción del fosfito, todas las reacciones utilizan el O_2 como aceptor de electrones. El único oxidador de fosfito conocido que se acopla a SO_4^{2-} como aceptor de electrones.
[c] El amonio también se puede oxidar con NO_2^- como aceptor de electrones por los organismos anamox (Sección 20.13).

UNIDAD 4

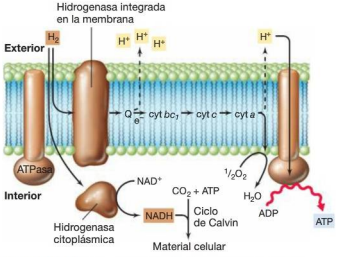


Figura 20.25 Bioenergética y funcionamiento de las dos hidrogenasas de las bacteria aerobias del H_2. En *Ralstonia eutropha* hay dos hidrogenasas: la unida a la membrana participa en la energética, mientras que la hidrogenasa citoplásmica fabrica NADH para el ciclo de Calvin. Algunas bacterias del H_2 tienen sólo la hidrogenasa unida a la membrana y en estos organismos el poder reductor se sintetiza mediante el flujo inverso de electrones desde la Q hacia el NAD$^+$ para formar NADH. Cyt: citocromo; Q: quinona.

fermentaciones, que son procesos anóxicos. Por lo tanto, las bacterias aerobias del hidrógeno deben regular con precisión sus enzimas catabólicas. Probablemente, estos organismos cambian su metabolismo entre la quimioorganotrofia y la quimiolitotrofia, según la cantidad de compuestos orgánicos y H_2 utilizables en su hábitat. Además, como muchas bacterias aerobias del H_2 crecen mejor en condiciones microaerobias, es probable que estos organismos tengan más éxito como quimiolitótrofos del H_2 en la interfase óxico-anóxico, donde el metabolismo fermentativo aportará el H_2 en más cantidad, y más continuamente, en hábitats muy óxicos.

20.10 Oxidación de los compuestos reducidos del azufre

Muchos compuestos reducidos del azufre se utilizan como donadores de electrones en las bacterias incoloras del azufre, llamadas incoloras para distinguirlas de las bacterias verdes (pigmentadas) y púrpuras del azufre que contienen bacterioclorofila tratadas anteriormente en este mismo capítulo (Figura 20.17). Históricamente, el concepto de quimiolitotrofia proviene de los estudios realizados por el gran microbiólogo ruso Sergei Winogradsky con las bacterias del azufre (*véase* la Información adicional «Winogradsky y la quimiolitoautotrofia»).

Energética de la oxidación del azufre

Los compuestos de azufre que se utilizan con más frecuencia como donadores de electrones son el sulfuro de hidrógeno (H_2S), el azufre elemental (S^0) y el tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$). En la mayor parte de los casos, el producto final de la oxidación del azufre es el sulfato (SO_4^{2-}) y el número total de electrones que se intercambian entre el H_2S (estado de oxidación, −2) y sulfato (estado de oxidación, +6) es de ocho. Hay menos energía disponible cuando se utiliza uno de los estados de oxidación intermediarios del azufre:

$$H_2S + 2O_2 \rightarrow SO_4^{2-} + 2H^+$$

(producto final, sulfato)

$$\Delta G^{0\prime} = -798{,}2 \text{ kJ/reacción } (-99{,}75 \text{ kJ/e}^-)$$

$$HS^- + \tfrac{1}{2}O_2 + H^+ \rightarrow S^0 + H_2O$$

(producto final, azufre)

$$\Delta G^{0\prime} = -209{,}4 \text{ kJ/reacción } (-104{,}7 \text{ kJ/e}^-)$$

$$S^0 + H_2O + \tfrac{1}{2}O_2 \rightarrow SO_4^{2-} + 2H^+$$

(producto final, sulfato)

$$\Delta G^{0\prime} = -587{,}1 \text{ kJ/reacción } (-97{,}85 \text{ kJ/e}^-)$$

$$S_2O_3^{2-} + H_2O + 2O_2 \rightarrow 2SO_4^{2-} + 2H^+$$

(producto final, sulfato)

$$\Delta G^{0\prime} = -818{,}3 \text{ kJ/reacción } (-102 \text{ kJ/e}^-)$$

La oxidación del H_2S se produce por etapas, y la primera etapa de oxidación produce azufre elemental, S^0. Algunas bacterias que oxidan el H_2S depositan este azufre elemental dentro de la célula (**Figura 20.26a**), donde el azufre constituye una reserva de energía. Cuando se ha

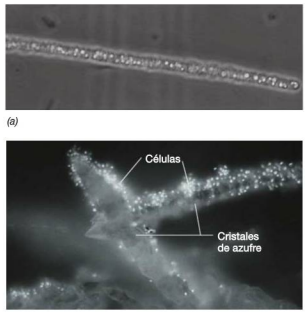


Figura 20.26 Bacterias del azufre. *(a)* Gránulos del azufre intracelulares en *Beggiatoa*. *(b)* Adhesión de las células de la arquea oxidante de azufre *Sulfolobus acidocaldarius* a un cristal de azufre elemental observada al microscopio de fluorescencia después de teñir las células con el colorante naranja de acridina. El cristal de azufre no emite fluorescencia.

agotado el suministro de H_2S, se puede obtener más energía de la oxidación del azufre a sulfato.

Cuando se suministra externamente azufre elemental como un donador de electrones, el organismo puede adherirse a la partícula de azufre debido a la gran insolubilidad del azufre elemental (Figura 20.26*b*). Al adherirse a la partícula, el organismo puede retirar los átomos de azufre para la oxidación a sulfato. Esto se produce a través de la actividad de las proteínas membranarias o periplásmicas que solubilizan el azufre, probablemente por la reducción del S^0 a HS^-, que se transporta al interior de la célula y entra el metabolismo quimiolitótrofo (**Figura 20.27**).

Uno de los productos de las reacciones de oxidación del azufre reducido es el H^+, y la producción de protones reduce el pH, por lo que un resultado de la oxidación de los compuestos de azufre reducido es la acidificación del medio. El ácido formado por las bacterias del azufre es un ácido fuerte, el ácido sulfúrico (H_2SO_4) y debido a esto, las bacterias del azufre a menudo son capaces de llevar a cabo una notable disminución del pH del medio. Algunas bacterias del azufre son realmente acidotolerantes o incluso acidófilas. El *Acidithiobacillus thiooxidans*, por ejemplo, crece mejor a un pH por debajo de 3.

Bioquímica de la oxidación del azufre

Las etapas bioquímicas en la oxidación de varios compuestos del azufre se resumen en la Figura 20.27. Se conocen varios sistemas de oxidación en los quimiolitótrofos del azufre. En dos de los sistemas, el sustrato de partida, H_2S, $S_2O_3^{2-}$ o S^0, se oxida primero a sulfito (SO_3^{2-}); al comenzar con el sulfuro, se liberan seis electrones. Luego, el sulfito se oxida a sulfato, que se puede hacer de dos maneras. El sistema más generalizado emplea la enzima sulfito-oxidasa, que transfiere electrones directamente desde el SO_3^{2-} al citocromo *c*, y se forma ATP a partir de esto durante el transporte de electrones y la formación de la fuerza protonmotriz (Figura 20.27*b*). Por el contrario, algunos quimiolitótrofos del azufre oxidan el SO_3^{2-} a SO_4^{2-} mediante la inversión de la actividad de la adenosina-fosfosulfato-reductasa, una enzima esencial para el metabolismo de las bacterias reductoras de sulfato (Sección 21.8). Esta reacción, que tiene lugar en la dirección de la producción de SO_4^{2-} en los quimiolitótrofos del azufre, produce un enlace fosfato de gran energía al convertir el AMP en ADP (Figura 20.27*a*). Cuando el tiosulfato es el donador de electrones para los quimiolitótrofos del azufre, primero se escinde en S^0 y SO_3^{2-}, los cuales finalmente se oxidan a SO_4^{2-}.

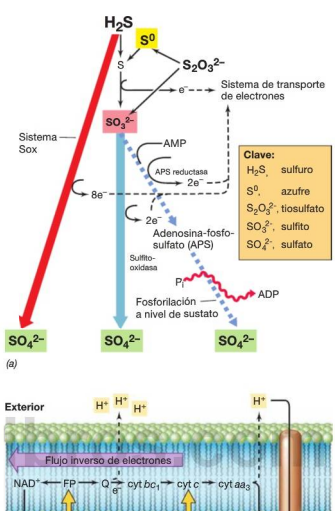


Figura 20.27 Oxidación de compuestos reducidos de azufre por los quimiolitótrofos del azufre. *(a)* Etapas de la oxidación de diferentes compuestos. Se conocen tres vías distintas. *(b)* Los electrones de los compuestos del azufre alimentan la cadena del transporte de electrones para obtener una fuerza protonmotriz; los electrones del tiosulfato y del azufre elemental entran en el nivel del citocromo *c*. El NADH tien e que sintetizarse con reacciones endergónicas del flujo inverso de electrones porque los donadores de electrones tienen un E_0' más electropositivo que NAD^+/NADH. Cyt: citocromo; FP: flavoproteína; Q: quinona. Para la estructura de la APS, *véase* la Figura 21.15.

Sox

En *Paracoccus pantotrophus* y muchas otras bacterias del azufre aparece un sistema de oxidación de sulfuro y tiosulfato funcionalmente distinto. Este sistema, llamado el *sistema Sox* (por oxidación del azufre, «sulfur *o*xidation» en inglés) oxida compuestos reducidos de azufre directamente a sulfato, sin la formación intermedia de sulfito (Figura 20.27*a*). El sistema Sox comprende 15 genes que codifican varios citocromos y otras proteínas necesarias para la oxidación de los compuestos reducidos del azufre directamente a sulfato. El sistema Sox está presente en varios quimiolitótrofos del azufre y también está presente en algunas bacterias del azufre fotótrofas que oxi-

Información adicional

Winogradsky y la quimiolitoautrofia

El concepto de autotrofia quimiolitótrofa lo concibió por primera vez el microbiólogo ruso Sergei Winogradsky (Sección 1.9). Winogradsky estudió las bacterias del azufre porque algunas bacterias incoloras del azufre (*Beggiatoa*, *Thiothrix*) son muy grandes (Figura 1) y fáciles de investigar, incluso en ausencia de cultivos puros. Los manantiales de aguas ricas en H_2 son muy comunes en todo el mundo. En el distrito Bernese Oberland de Suiza, se desarrollan poblaciones inmensas de *Beggiatoa* y *Thiothrix* en los desagües de los manantiales sulfurosos. Aquí encontró Winogradsky el material adecuado para los estudios microscópicos y fisiológicos simplemente cogiendo las masas filamentosas blancas de células (Sección 15.4 y Figuras 15.10 y 15.12) y realizando experimentos de campo directamente.

Winogradsky primero demostró que las bacterias incoloras del azufre sólo estaban presentes en aguas que contenían H_2S. A medida que el agua se alejaba de la fuente, el H_2S se disipaba gradualmente y las bacterias del azufre desaparecían. Esto le sugirió que su desarrollo dependía de la presencia de H_2S. Winogradsky demostró después que cuando los filamentos de *Beggiatoa* se mantenían sin sulfuro, perdían los gránulos de azufre. No obstante, encontró que los gránulos se recuperaban rápidamente si se añadía una pequeña cantidad de H_2S (Figura 1). Por tanto, concluyó que el H_2S se estaba oxidando a azufre elemental.

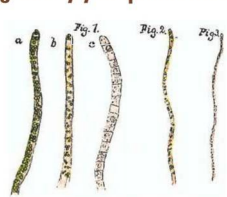


Figura 1 *Beggiatoa* y la quimiolitotrofia. Dibujos realizados por Winogradsky de *Beggiatoa* y traducción (del francés) de la leyenda que acompaña a estas figuras. «Figura 1». Extremo de un filamento de *Beggiatoa alba: (a)* en agua sulfurosa (que contiene sulfuro), *(b)* después de 24 h en agua sin H_2S, *(c)* tras 48 h en agua sin H_2S (obsérvese el agotamiento de los gránulos de azufre con el tiempo). Figura 2. Extremo de un filamento de *Beggiatoa media*. Figura 3. Extremo de un filamento de *Beggiatoa minima*». De Winogradsky, S. 1949. *Microbiologie du Sol*. Masson, París.

¿Pero qué ocurría con los gránulos del azufre cuando se mantenían los filamentos sin H_2S? Winogradgky demostró mediante pruebas microquímicas ingeniosas que cuando desaparecían los gránulos del azufre, aparecía sulfato en el medio. Concluyó que *Beggiatoa* (y por extensión otras bacterias incoloras del azufre) oxidaba el H_2S a azufre elemental y posteriormente a sulfato ($H_2S \rightarrow S^0 \rightarrow SO_4^{2-}$). Como este organismo parecía requerir H_2S para su desarrollo en los manantiales, postuló que esta oxidación era la fuente principal de *energía* para estos organismos.

www.mcgraw-hill.com

dan el H_2S para obtener poder reductor para la fijación del CO_2 (Figura 20.17). Por lo tanto, este mismo sistema bioquímico para la oxidación del sulfuro se distribuye entre los procariotas que oxidan sulfuro por razones inherentes a ellos, lo que sugiere de que los genes que lo codifican se pueden haber transferido entre especies mediante un flujo de genes horizontal.

Energía a partir de la oxidación del azufre

Todos los electrones de los compuestos reducidos de azufre finalmente entran en la cadena de transporte de electrones tal y como se muestra en la Figura 20.27*b*. Según el E_0' del par, los electrones entran o bien al nivel de la flavoproteína ($E_0' = \sim -0{,}2$ V) o bien al del citocromo *c* ($E_0' = +0{,}3$ V) y se transportan por la cadena hasta el O_2, lo que genera una fuerza protonmotriz que conduce a la síntesis de ATP mediante la ATPasa. Los electrones para la fijación autótrofa de CO_2 vienen del flujo inverso de electrones (Sección 20.4), que finalmente produce NADH. La autotrofia está garantizada por las reacciones del ciclo de Calvin (Figura 20.27*b*) o algunas otras vías autótrofas. Aunque los quimiolitótrofos del azufre son principalmente un grupo aerobio (Sección 15.4), algunas especies pueden crecer de modo anaerobio utilizando el nitrato como un aceptor de electrones; *Thiobacillus denitrificans* es un ejemplo clásico de este estilo de vida.

20.9-20.10 Minirrevisión

El hidrógeno (H_2) y los compuestos reducidos de azufre, como H_2S, $S_2O_3^{2-}$ y S^0, son excelentes donadores de electrones para el metabolismo energético en los quimiolitótrofos. Los electrones de estas sustancias entran en la cadena de transporte de electrones y producen una fuerza protonmotriz. Los quimiolitótrofos

(continuación)

Por lo tanto, los estudios de Winogradsky sobre *Beggiatoa* proporcionaron la primera prueba de que un organismo podría oxidar una sustancia *inorgánica* como fuente de energía, lo que supuso el origen del concepto de quimiolitotrofia. A partir de entonces, Winogradsky se dedicó al estudio de las bacterias nitrificantes, en las que demostró que la fijación autótrofa del CO_2 estaba acoplada a la oxidación de un compuesto inorgánico. Ya se conocía el proceso de nitrificación antes del trabajo de Winogradsky por estudios sobre el destino de las aguas residuales que se añaden al suelo. Por ejemplo, al pasar las aguas residuales ricas en amoníaco a través de una columna de suelo, este compuesto se convertía a nitrato. Winogradsky procedió a aislar bacterias nitrificantes utilizando medios de cultivo completamente minerales en los que el CO_2 era la única fuente de carbono y el amoníaco era el único donador de electrones. Como el amoníaco es químicamente estable, resulto fácil demostrar que la oxidación de amoníaco a nitrito y, posteriormente, a nitrato, era un proceso estrictamente bacteriano.

Winogradsky demostró además que la nitrificación era un *proceso de dos etapas*, con un grupo de organismos que convertían el NH_4^+ en NO_2^- y un segundo grupo que convertía el NO_2^- a NO_3^- (Sección 20.12). Como no había sustancias orgánicas en el medio, también resultó posible demostrar que la materia orgánica (el material celular bacteriano) se formaba a partir de CO_2: cuando se excluía el amoníaco o el nitrito del medio, las células no crecían. Los análisis químicos cuidadosos demostraron que la cantidad de materia orgánica formada por las bacterias era proporcional a la cantidad de amoníaco o nitrito que oxidaban. Winogradsky concluyó: «Esto (proceso) es contradictorio a la doctrina fundamental de la fisiología que afirma que en la naturaleza no puede producirse la síntesis de materia orgánica si no es a través de las plantas con clorofila por la acción de la luz». Así nació el concepto de quimiolitoautrofia.

Actualmente, sabemos que, al menos en una de las formas, la autotrofia es similar en las mayoría de los quimiolitótrofos y fotótrofos. En ambos grupos, la vía de la fijación del CO_2 sigue las mismas etapas bioquímicas (el ciclo de Calvin), que requieren la enzima ribulosa-bisfosfato-carboxilasa (Sección 20.6). Otros quimiolitótrofos utilizan vías autótrofas alternativas, como el ciclo inverso del ácido cítrico o el ciclo del hidroxipropionato, mecanismos que se descubrieron primero en los fotótrofos anoxigénicos.

Tal como veremos en este capítulo, muchas bacterias y arqueas son organismos quimiolitótrofos, si bien todos emplean la misma estrategia metabólica básica: oxidan el compuesto inorgánico mediante una cadena de transporte de electrones que genera una fuerza protonmotriz. Las distintas formas de quimiolitotrofia son sencillamente variaciones sobre un tema metabólico común descubierto por primera vez por Winogradsky en las bacterias del azufre.

www.mcgraw-hill.com

del azufre y del hidrógeno también son autótrofos y fijan el CO_2 mediante el ciclo de Calvin.

- ¿Qué enzima especial se necesita para crecer en H_2?
- ¿Cuántos electrones están disponibles de la oxidación del H_2S si el producto final es el S^0? ¿Y si lo es el SO_4^{2-}?
- ¿En qué se diferencia el sistema Sox, para oxidar el H_2S, de otros sistemas que oxidan el H_2S?

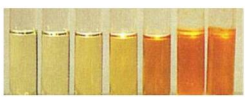
20.11 Oxidación del hierro

La oxidación aerobia del hierro a partir del estado ferroso (Fe^{2+}) al férrico (Fe^{3+}) es una reacción quimiolitótrofa en algunos procariotas. A pH ácido, sólo se puede extraer una pequeña cantidad de energía a partir de esta oxidación (Tabla 20.1) y, por este motivo, las bacterias del hierro deben oxidar grandes cantidades de hierro para crecer. El hierro férrico obtenido forma hidróxido férrico [$Fe(OH)_3$] insoluble, que precipita en el agua (**Figura 20.28**). Esto se debe, en parte, a que, a pH neutro, el hierro ferroso se oxida rápida y espontáneamente al estado férrico. Por lo tanto, el Fe^{2+} es estable durante períodos prolongados sólo bajo condiciones anóxicas. Sin embargo, a pH ácido, el hierro ferroso es estable en condiciones óxicas. Esto explica por qué la mayor parte de las bacterias que oxidan hierro son acidófilas estrictas.

Bacterias oxidadoras de hierro

Las bacterias oxidadoras de hierro mejor conocidas, *Acidithiobacillus ferrooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans*, pueden crecer de modo autótrofo utilizando hierro ferroso (Figura 20.28*b*) como donador de electrones. Los dos organismos pueden crecer a valores de pH por debajo de

(a)



(b)

Figura 20.28 **Bacterias oxidadoras de hierro.** *(a)* Vertidos ácidos mineros, que muestran la confluencia de un río normal y un arroyo de drenaje de una zona minera de carbón. El arroyo ácido contiene mucho hierro ferroso (Fe^{2+}). A pH bajo, el hierro ferroso no se oxida espontáneamente en el aire, sino que *Acidithiobacillus ferrooxidans* lleva a cabo la oxidación. El hidróxido férrico insoluble y las sales férricas complejas precipitan, formando un precipitado que los mineros del carbón denominan «barro amarillo». *(b)* Cultivos de *A. ferrooxidans*. Se muestra una serie de diluciones, sin crecimiento en el tubo de la izquierda y con aumento del crecimiento de izquierda a derecha. El crecimiento se manifiesta por la producción de Fe^{3+} a partir de Fe^{2+}, que produce rápidamente $Fe(OH)_3$ y acidez, lo que da lugar a un color amarillo anaranjado ($Fe^{3+} + 3H_2O \rightarrow Fe(OH)_3 + 3H^+$).

pH 1, y el crecimiento óptimo se produce a pH 2-3. Estos organismos son abundantes en los ambientes con contaminación ácida como las escorrentías de las minas de carbón (Figura 20.28*a*). *Ferroplasma*, un miembro del dominio *Archaea*, es un oxidante de hierro muy acidófilo y puede crecer a unos pH por debajo de 0 (Sección 17.5). Explicaremos la importancia de todos estos organismos en la contaminación ácida por efluentes de las minas y en la oxidación mineral en la Sección 24.6.

A pesar de la inestabilidad del Fe^{2+} a un pH neutro, hay algunas bacterias oxidadoras de hierro que prosperan en estos ambientes, pero sólo en situaciones en las que el hierro ferroso se desplaza de condiciones anóxicas a las óxicas. Por ejemplo, en aguas subterráneas anóxicas que contienen Fe^{2+} que, cuando se liberan, como en un manantial de hierro, se exponen a O_2. En estas interfases, las bacterias del hierro oxidan el Fe^{2+} a medida que emerge de la fuente y antes de que se oxide espontáneamente. *Gallionella ferruginea* y *Sphaerotilus natans* son ejemplos de organismos que viven en estas interfases y que, generalmente, aparecen mezclados con los depósitos de hierro férrico característicos que forman (**Figura 20.29**, Figura 15.42). Las bacterias del hierro que se desarrollan a pH neutro tienen una ventaja energética sobre sus homólogos acidófilos. A pH neutro, el E_0' del par Fe^{3+}/Fe^{2+} es de +0,2 V. Esto significa que el Fe^{2+} es un donador de electrones más fuerte a pH neutro que a pH ácido. Esto puede alterar la energética de la oxidación del hierro que, como vemos ahora, es muy marginal para los oxidadores de hierro acidófilos.

Energía a partir de la oxidación del hierro ferroso

La bioenergética de la oxidación del hierro por *Acidithiobacillus ferrooxidans* y otros oxidantes acidófilos del hierro son de interés debido al potencial de reducción tan electropositivo del par Fe^{3+}/Fe^{2+} a pH ácido (+0,77 V a pH 2). La cadena respiratoria de *A. ferrooxidans* contiene citocromos de los tipos *c* y *a* (Sección 5.11) y una proteína periplásmica con cobre llamada *rusticianina* (Figura 20.30). Debido a que el potencial de reducción del par Fe^{3+}/Fe^{2+} es tan elevado, la vía del transporte de electrones hacia el oxígeno ($\frac{1}{2}O_2/H_2O$, $E_0' = +0{,}82$ V) es necesariamente muy corta.

La oxidación del hierro ferroso comienza en el periplasma, donde la rusticianina oxida el Fe^{2+} a Fe^{3+}, una transición de un electrón. A continuación reduce el citocromo *c* y éste posteriormente reduce el citocromo *a*. El último interacciona directamente con el O_2 para formar H_2O (**Figura 20.30**). El ATP se sintetiza luego con las ATPasas translocadoras de protones en la membrana

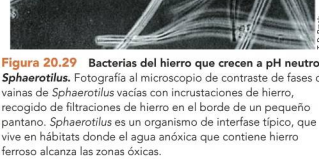


Figura 20.29 **Bacterias del hierro que crecen a pH neutro: *Sphaerotilus*.** Fotografía al microscopio de contraste de fases de vainas de *Sphaerotilus* vacías con incrustaciones de hierro, recogido de filtraciones de hierro en el borde de un pequeño pantano. *Sphaerotilus* es un organismo de interfase típico, que vive en hábitats donde el agua anóxica que contiene hierro ferroso alcanza las zonas óxicas.

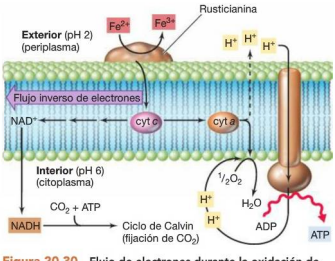


Figura 20.30 Flujo de electrones durante la oxidación de Fe^{2+} por el acidófilo *Acidithiobacillus ferrooxidans*. La proteína periplásmica que contiene cobre, la rusticianina, es el aceptor inmediato de electrones del Fe^{2+}. Desde aquí, los electrones se mueven a través de una cadena corta de transporte de electrones que da lugar a la reducción del O_2 a H_2O. El poder reductor que impulsa el ciclo de Calvin proviene del flujo inverso de electrones. Obsérvese el pronunciado gradiente del pH (~ 4 unidades) a través de la membrana.

citoplasmática. Sin embargo, aquí es donde la energética de los oxidadores acidófilos del hierro se fuerza especialmente. En un ambiente a pH 2, existe un amplio gradiente de protones de forma natural a través de la membrana de *A. ferrooxidans* (el periplasma tiene pH 1-2, mientras que el citoplasma es pH 5,5-6). Pero los organismos no pueden sintetizar ATP a partir de esta «fuerza protonmotriz natural» gratis. Se deben consumir los protones que entran en el citoplasma a través de la ATPasa para mantener el pH interno dentro de unos límites aceptables. Los protones se consumen durante la producción del H_2O en la cadena del transporte de electrones, y esta reacción requiere electrones que vienen de la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} (Figura 20.30). Así, siempre y cuando *A. ferrooxidans* tenga Fe^{2+} disponible como un donador de electrones, se puede sintetizar el ATP a expensas de la fuerza protonmotriz que existe previamente a través de la membrana citoplasmática (Figura 20.30).

La autotrofia en *A. ferrooxidans* está impulsada por el ciclo de Calvin y debido al potencial elevado del donador de electrones, el Fe^{2+}, se consume mucha energía en las reacciones del transporte inverso de electrones para obtener el poder reductor (NADH) necesario para la fijación del CO_2. De esta forma, un rendimiento energético relativamente malo acoplado a las grandes demandas de energía para la biosíntesis hace que *A. ferrooxidans* tenga que oxidar grandes cantidades de Fe^{2+} para producir incluso cantidades muy pequeñas de material celular. Debido a esto, en los ambientes en los que viven las bacterias oxidadoras de Fe^{2+}, su presencia viene señalada no por la formación de una gran cantidad de material celular sino por la acumulación de grandes cantidades de precipitados de hierro férrico (Figura 20.28; Figura 24.11). Los procesos ecológicos importantes conectados con las bacterias oxidadoras de hierro se tratan en las Secciones 24.5 y 24.6.

Oxidación del hierro ferroso por los fotótrofos anoxigénicos

El hierro ferroso se puede oxidar en condiciones anóxicas mediante determinadas bacterias fotótrofas anoxigénicas (**Figura 20.31**). El hierro ferroso se utiliza en este caso no como donador de electrones en el metabolismo energético, sino como donador de electrones para reducir el CO_2 (autotrofia). A pH neutro, en el que crecen estos organismos, el par Fe^{3+}/Fe^{2+} es de 0,2 V y, por lo tanto, los electrones del Fe^{2+} pueden reducir el citocromo *c* en el fotosistema de las bacterias púrpuras (fotosíntesis anoxigénica, Sección 20.4). Los organismos oxidadores de hierro ferroso, que son especies de bacterias púrpuras fotótrofas (Figura 20.31*b*), también pueden utilizar el FeS como donador de electrones; en estas condiciones, tanto el Fe^{2+} como el S^{2-} se oxidan como donadores de electrones: Fe^{2+} a Fe^{3+} y S^{2-} a SO_4^{2-} (Figura 20.27).

Algunas bacterias fotótrofas verdes del azufre (género *Chlorobium*; Sección 16.15) pueden utilizar también Fe^{2+}

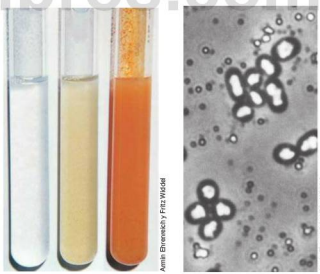


Figura 20.31 Oxidación del hierro ferroso por las bacterias fotótrofas anoxigénicas. *(a)* Oxidación del Fe^{2+} en cultivos anóxicos en tubo. De izquierda a derecha: medio estéril, medio inoculado, un cultivo en crecimiento. El color teja se debe principalmente al precipitado de $Fe(OH)_3$. *(b)* Fotografía al microscopio de contraste de fase de una bacteria púrpura oxidadora de hierro. Las áreas refráctiles brillantes dentro de las células son vesículas de gas (Sección 4.11). Los gránulos fuera de las células son precipitados de hierro. Este organismo está relacionado filogenéticamente con la bacteria púrpura del azufre *Chromatium* (Sección 15.2).

www.medilibros.com

como un donador de electrones para el crecimiento autótrofo. Además, se han aislado varias bacterias desnitrificantes quimiótrofas capaces de acoplar la oxidación del Fe^{2+} con la reducción del NO_3^- a N_2 y crecer en condiciones anóxicas. Sin embargo, al igual que las bacterias aerobias del hierro, en estos organismos el Fe^{2+} es un donador de electrones tanto para las necesidades energéticas como para las del poder reductor.

El descubrimiento de los fotótrofos oxidadores de Fe^{2+} tiene implicaciones importantes a la hora de comprender la evolución de la fotosíntesis y explicar los grandes depósitos de hierro férrico encontrados en los sedimentos antiguos de la Tierra. Se supuso que el hierro férrico antiguo se había formado por la oxidación del Fe^{2+} mediante el O_2 producido por los fotótrofos oxigénicos. Sin embargo, debido a la edad de tales sedimentos, que en muchos casos datan de antes de la aparición de las cianobacterias en la Tierra (Sección 14.2), es más probable que el hierro férrico se formara por la acción de los fotótrofos anoxigénicos que oxidan el Fe^{2+} en ambientes anóxicos ricos en hierro.

20.11 Minirrevisión

Las bacterias del hierro son quimiolitótrofos que oxidan el hierro ferroso (Fe^{2+}) como donador de electrones. La mayoría de las bacterias del hierro crecen sólo a un pH ácido y a menudo se presentan asociadas a la contaminación ácida derivada de actividades mineras de carbón y minerales. Algunas bacterias púrpuras fotótrofas son capaces de oxidar el Fe^{2+} a Fe^{3+} de forma anaerobia.

- ¿Por qué a pH ácido se obtiene sólo una cantidad muy pequeña de energía a partir de la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+}?
- Cuál es la función de la rusticianina y dónde se encuentra en la célula?
- Cómo se puede oxidar el Fe^{2+} en condiciones anóxicas?

20.12 Nitrificación

Los compuestos nitrogenados inorgánicos, amoníaco (NH_3) y nitrito (NO_2^-), son sustratos quimiolitótrofos. Estos compuestos se oxidan de forma aerobia mediante las *bacterias nitrificantes* (Sección 15.3) durante el proceso de **nitrificación**. Las bacterias nitrificantes están ampliamente distribuidas en suelos y aguas. Un grupo, las *nitrosoficantes* (*Nitrosomonas* es un género representativo, Sección 15.3), oxida el amoníaco a nitrito, y otro grupo (*Nitrospira* es un género representativo, Sección 16.21) oxida el nitrito a nitrato. Por lo tanto, la oxidación completa del amoníaco a nitrato, una transferencia de ocho electrones, la llevan a cabo dos grupos de organismos que actúan secuencialmente mediante un proceso descubierto por el microbiólogo ruso Winogradsky (como se ha observado en la sección Información adicional).

Bioenergética y enzimología de la nitrificación

La bioenergética de la nitrificación está basada en los mismos principios que gobiernan otras reacciones quimiolitótrofas: los electrones de sustratos inorgánicos reducidos (en este caso, compuestos nitrogenados reducidos) entran en una cadena de transporte de electrones y el flujo de electrones establece una fuerza protonmotriz que impulsa la síntesis de la ATP.

Las bacterias nitrificantes se enfrentan a problemas bioenergéticos similares a los de la mayoría de otros quimiolitótrofos. El E_0' del par NO_2^-/NH_3 (la primera etapa en la oxidación del NH_3) es elevado: +0,34 V. El E_0' del par NO_3^-/NO_2^- es incluso mayor: unos +0,43 V. Estos potenciales de reducción relativamente elevados hacen que las bacterias nitrificantes donen electrones a potenciales aceptores más bien elevados en las cadenas del transporte de electrones, lo que limita la extensión del transporte de electrones y la producción de energía o ATP disponibles.

Varias enzimas clave participan en la oxidación de compuestos nitrogenados reducidos. En bacterias oxidadoras de amoníaco, el NH_3 se oxida mediante la *amoníaco-monooxigenasa* (las monooxigenasas se explican en el Sección 21.14), que produce NH_2OH y H_2O (**Figura 20.32**). Una segunda enzima clave, la *hidroxilamina-oxidorreductasa*, oxida entonces la NH_2OH a NO_2^-.

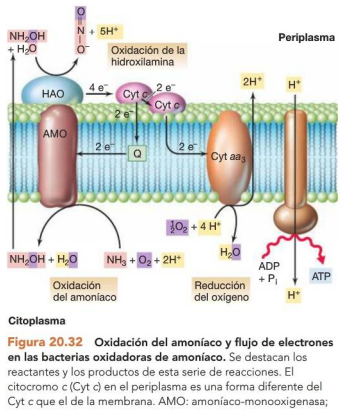


Figura 20.32 Oxidación del amoníaco y flujo de electrones en las bacterias oxidadoras de amoníaco. Se destacan los reactantes y los productos de esta serie de reacciones. El citocromo *c* (Cyt *c*) en el periplasma es una forma diferente del Cyt *c* que el de la membrana. AMO: amoníaco-monooxigenasa; HAO: hidroxilamina-oxidorreductasa; Q: ubiquinona.

eliminándose cuatro electrones en el proceso. La amoníaco-monooxigenasa es una proteína transmembranaria, mientras que la hidroxilamina-oxidorreductasa es periplasmática (Figura 20.32). En la reacción llevada a cabo por la amoníaco-monooxigenasa,

$$NH_3 + O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow NH_2OH + H_2O,$$

hay que suministrar dos electrones exógenos más dos protones para reducir un átomo de oxígeno a agua. Estos electrones proceden de la oxidación de la hidroxilamina y se suministran a la amoníaco-monooxigenasa a partir de la hidroxilamina-oxidorreductasa a través del citocromo *c* y la ubiquinona (Figura 20.32). Por lo tanto, de cada *cuatro* electrones generados de la oxidación de NH_3 a NO_2^-, sólo *dos* alcanzan realmente la oxidasa terminal (citocromo aa_3, Figura 20.32) y pueden producir energía.

Las bacterias oxidadoras de nitrito emplean la enzima *nitrito-oxidorreductasa* para oxidar el nitrito a nitrato, con los electrones viajando a través de una cadena de transporte de electrones muy corta (debido al elevado potencial del par NO_3^-/NO_2^-) hasta la oxidasa terminal (Figura 20.33). Los citocromos de tipo *a* y *c* están presentes en la cadena de transporte de electrones de los oxidadores de nitritos y la actividad de los citocromos aa_3 genera una fuerza protonmotriz (**Figura 20.33**). Al igual que en la reacción de oxidación del hierro (Sección 20.11), en esta reacción sólo se obtienen pequeñas cantidades de energía, por lo que el crecimiento neto de las bacterias nitrificantes (gramos de células producidas por moles del sustrato oxidado) es bajo.

Otros procariotas nitrificantes

Desde un punto de vista filogenético, todas las bacterias nitrificantes mencionadas hasta ahora pertenecen al dominio bacterias. Sin embargo, hoy sabemos que existe al menos una especie nitrificante de arqueas. Este organismo, *Nitrosopumilus*, es un quimiolitótrofo autótrofo oxidador de amoníaco y miembro del Filum de arqueas crenarqueotas (Sección 17.12). *Nitrosopumilus* también contiene genes relacionados con los que codifican la amoníaco-monooxigenasa de las bacterias nitrificantes como *Nitrosomonas* y, por lo tanto, es probable que la fisiología de la oxidación del amoníaco en bacterias y arqueas sea similar.

Hasta ahora no se han identificado arqueas oxidadoras de nitrito. Sin embargo, el nitrito es un donador de electrones para determinadas bacterias púrpuras fotótrofas anoxigénicas. No obstante, en este caso, el nitrito se oxida a nitrato en condiciones *anóxicas* porque la fotosíntesis anoxigénica es un proceso anóxico (Sección 20.4). Más aún, los electrones obtenidos por la oxidación del nitrito por estas bacterias púrpuras no se utilizan para obtener energía, como hacen las bacterias nitrificantes, sino que se utilizan como fuente de poder reductor para la fijación autótrofa del CO_2 (ciclo de Calvin, Sección 20.6).

Metabolismo del carbón y ecología de las bacterias nitrificantes

Al igual que los quimiolitótrofos oxidadores de azufre y hierro, las bacterias aerobias nitrificantes emplean el ciclo de Calvin para la fijación del CO_2. Los requerimientos de ATP y poder reductor del ciclo de Calvin suponen una carga adicional para un sistema de generación de energía ya poco eficaz de por sí (el NADH que impulsa el ciclo de Calvin en los nitrificantes se forma por flujo inverso de electrones). Las limitaciones energéticas son particularmente estrictas en los oxidadores de nitrito y quizás por este motivo la mayor parte de los oxidadores de nitrito poseen mecanismos alternativos de conservación de energía, creciendo de forma quimioorganótrofa en glucosa y otros sustratos orgánicos (Sección 15.3).

Las bacterias nitrificantes desempeñan funciones ecológicas clave en el ciclo del nitrógeno al convertir el amoníaco en nitrato, un nutriente vegetal clave. Las bacterias nitrificantes también son importantes en el tratamiento de aguas residuales de todo tipo, retirando las aminas y el amoníaco tóxicos, y liberando menos compuestos nitrogenados tóxicos. Las bacterias nitrificantes desempeñan una función similar en el agua de los lagos, donde el amoníaco producido de los compuestos nitrogenados orgánicos por descomposición en los sedimentos se convierte en nitrato utilizable para algas y cianobacterias.

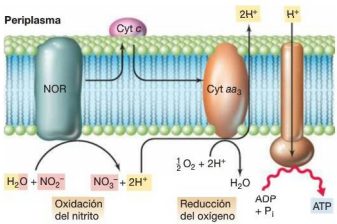


Figura 20.33 Oxidación de nitrito a nitrato por las bacterias nitrificantes. Se resaltan los reactantes y los productos de esta serie de reacciones para seguir la reacción. NOR: nitrito-oxidorreductasa.

20.12 Minirrevisión

Las bacterias nitrificantes pueden utilizar amoníaco y nitrito como donadores de electrones. Las bacterias oxidadoras de amoníaco producen nitrito que después las bacterias oxidadoras de nitrito oxidan a nitrato.

- ¿Cuál es el donador de electrones inorgánico para los *Nitrosomonas*? ¿Y para *Nitrospira*?

UNIDAD 4

- ¿Cuáles son los sustratos de la enzima amoníaco-monooxigenasa?
- ¿Qué utilizan las bacterias nitrificantes como fuente de carbono?

20.13 Anamox

Aunque las bacterias nitrificantes clásicas discutidas aquí son *aerobias estrictas*, el amoníaco también se puede oxidar en condiciones *anóxicas*. Este proceso, conocido como **anamox** (por la oxidación anóxica del amoníaco, «*an*oxic *amm*onia *ox*idation» en inglés) es exergónico y está catalizado por un grupo inusual de bacterias aerobias estrictas.

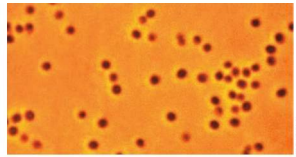
En la anamox, el amoníaco se oxida con el nitrito como el aceptor de electrones para producir nitrógeno gaseoso:

$$NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2H_2O \qquad \Delta G^{0\prime} = -357 \text{ kJ}$$

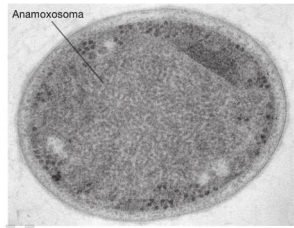
El primer organismo anamox descubierto, *Brocadia anammoxidans*, es un miembro del filum *planctomicetos* de bacterias (Sección 16.10) (**Figura 20.34**). Los *planctomicetos* son bacterias poco comunes, que carecen de peptidoglucano y que contienen compartimentos rodeados por membranas dentro de la célula. En las células de *B. anammoxidans*, un compartimento de este tipo lo constituye el *anamoxosoma*, dentro del cual se produce las reacciones de anamox (Figura 20.34*c*). Además de *Brocadia*, se conocen otros géneros de bacterias anamox, como *Kuenenia* y *Scalindua*, conteniendo ambos un anamoxosoma.

El anamoxosoma

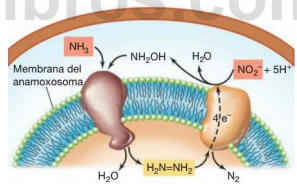
La anamoxosoma es una estructura rodeada por una membrana unitaria (Figura 20.34*b*) y, en este sentido, se puede considerar que es un orgánulo en el sentido eucariótico del término (Secciones 18.2 y 18.3). Sin embargo, los lípidos que forman la membrana del anamoxosoma no son los lípidos típicos del dominio bacterias. Los lípidos de anamoxosoma constan de ácidos grasos que contienen varios anillos de cuatro carbonos (ciclobutano) que están conectados al glicerol por enlaces éster y éter. Los lípidos se agregan para formar una estructura membranosa inusualmente densa que resulta muy resistente a la difusión. La fuerte membrana del anamoxosoma se necesita probablemente para proteger la célula de los intermediarios tóxicos que se generan durante las reacciones de anamox, en particular la *hidrazina*, un reductor muy fuerte. En la reacción de anamox, se genera hidrazina e hidroxilamina en una serie cíclica de reacciones (Figura 20.34*c*). De éstas, la hidrazina es la más tóxica y por lo tanto queda atrapada en el anamoxosoma hasta que se degrada a N_2 inofensivo, lo que evita que reduzcan macromoléculas indiscriminadamente en el citoplasma.



(a)



(b)



(c)

Figura 20.34 **Anamox**. *(a)* Fotografía al microscopio de contraste de fase de células de *Brocadia anammoxidans*. Una célula individual mide aproximadamente 1 µm de diámetro. *(b)* Fotografía al microscopio electrónico de transmisión de una célula; obsérvense los compartimentos rodeados por membranas que incluyen el gran anamoxosoma fibrilar. *(c)* Reacciones en el anamoxosoma. Los sustratos anamox se muestran en rojo y la hidrazina en amarillo.

Autotrofia en las bacterias anamox

Al igual que las bacterias nitrificantes clásicas, las bacterias de la anamox también son autótrofos. Los organismos de la anamox crecen con CO_2 como única fuente de carbono y utilizan el nitrito como donador de electrones para producir material celular:

$$CO_2 + 2NO_2^- + H_2O \rightarrow CH_2O + 2NO_3^-$$

libros.com

Aunque son autótrofos, las bacterias de la anamox no tienen las enzimas del ciclo de Calvin, y el mecanismo de fijación del CO_2, en cambio, se produce por la vía del acetil-CoA, una vía autótrofa ampliamente distribuida entre las bacterias anaerobias estrictas (Sección 21.9). Sin embargo, resulta interesante que el gran potencial del par NO_2^-/NO_3^- impide el uso del NO_3^- directamente como donador de electrones para la vía del acetil-CoA porque éste requiere un donador de electrones de E_0' cerca de −0,4 V. Se piensa que los organismos anamox superan este problema utilizando la hidrazina (N_2H_4) como donador de electrones para el reductor que necesita el crecimiento autótrofo. La oxidación de la hidrazina a N_2 en el anamoxosoma (Figura 20.34c) genera electrones a un potencial muy negativo: unos −0,75 V. Estos electrones pueden reducir la ferredoxina (Sección 20.7) que tiene un E_0' de −0,4 V, suficiente para la vía del acetil-CoA.

Ecología de la anamox

La fuente del NO_2^- en la reacción de la anamox es el producto de la oxidación del amoníaco por las bacterias nitrificantes aerobias (Figura 20.32). Los dos grupos de oxidadores de amoníaco, aerobios (por ejemplo, *Nitrosomonas*) y anaerobios (*Brocadia*) viven juntos en hábitats ricos en amoníaco como las aguas residuales y otras de desecho. En estos ambientes, se forman partículas en suspensión que contienen tanto zonas óxicas como anóxicas donde coexisten los dos grupos de oxidadores de amoníaco. En cultivos del laboratorio mixtos, la abundancia de oxígeno inhiben la anamox y favorece la nitrificación clásica y, por lo tanto, en la naturaleza es probable que el alcance de la oxidación del amoníaco mediante la anamox esté regido por la concentración de O_2 en el sistema.

Antes de que se descubriera el proceso de la anamox se pensaba que el amoníaco era estable en condiciones anóxicas, pero en la actualidad sabemos que no es así. Desde un punto de vista medioambiental, la anamox es un proceso muy beneficioso para el tratamiento de las aguas residuales. La eliminación anóxica del amoníaco o las aminas junto con la producción de nitrógeno gaseoso ayuda a reducir la contaminación nitrogenada fija de los ríos y las corrientes debidas a la eliminación de las aguas residuales tratadas, con lo que se mantiene una gran calidad del agua. Los estudios medioambientales han demostrado que los organismos similares a *Brocadia* realizan la anamox en los sedimentos marinos. Este descubrimiento ha ayudado a explicar la fracción significativa de amoníaco que se sabía que se perdía en los ambientes marinos, pero que se desconocía cómo ocurría. De hecho, es probable que la anamox se produzca en cualquier ambiente anóxico en el que coexistan amoníaco y nitrito.

20.13 Minirrevisión

La oxidación anóxica del amoníaco se llama anamox y consume tanto amoníaco como nitrito, con la formación de N_2. La reacción de la anamox se produce dentro de un compartimento rodeado por una membrana dentro de la célula, llamada el anamoxosoma.

- ¿Cuáles son las diferencias fundamentales entre la anamox y la nitrificación?
- ¿Por qué las reacciones de la anamox tienen lugar en una estructura especial dentro de la célula?
- ¿Cuál es la fuente del carbono para los organismos anamox?

IV FIJACIÓN DEL NITRÓGENO

Acabamos de tratar las transformaciones quimiolitótrofas del nitrógeno. Concluimos este capítulo con una consideración diferente del nitrógeno, no como un donador de electrones en el metabolismo de la energía sino como una fuente de nitrógeno para las necesidades biosintéticas.

Nuestra atención se centra en el nitrógeno gaseoso: el N_2. La utilización del N_2 como fuente del nitrógeno celular se llama **fijación del nitrógeno**. La capacidad de fijar el N_2 libera al organismo de la dependencia de determinadas moléculas nitrogenadas, como el amoníaco o el nitrato. Como en los ecosistemas microbianos existe una gran demanda de nitrógeno fijado, la capacidad de fijar N_2 confiere una ventaja ecológica significativa a las células capaces de realizar el proceso. Además, algunas formas de fijación del nitrógeno son de gran importancia agrícola, al sostener las necesidades de nitrógeno de los cultivos clave, como la soja.

20.14 Nitrogenasa y fijación del nitrógeno

Sólo determinados procariotas pueden fijar el N_2, como se observa en la **Tabla 20.2** donde aparece una lista abreviada de los organismos fijadores de nitrógeno. Algunas bacterias fijadoras del nitrógeno son *de vida libre* y no requieren un hospedador para llevar a cabo el proceso. En cambio, otras son *simbióticas* y sólo fijan el nitrógeno cuando se asocian a determinadas plantas (Sección 24.15). Pero es esta bacteria, y no la planta, la que fija el N_2; no se conocen organismos eucarióticos que fijen el nitrógeno. El nitrógeno lo pueden fijar muchos tipos diferentes de procariotas, incluidas varias especies extremófilas. Por ejemplo, se ha detectado fijación del nitrógeno a temperaturas desde los 0 °C hasta los 92 °C, lo que sugiere que quedarían fuera del alcance de las bacterias fijadoras del nitrógeno pocos ambientes con escasez de nitrógeno en la Tierra.

Nitrogenasa

En la fijación del nitrógeno, el N_2 se reduce a amoníaco, que se convierte en una forma orgánica. La reducción está

Tabla 20.2 Algunos organismos fijadores de nitrógeno[a]

Aerobios de vida libre /anaerobios facultativos		
Quimioorganótrofos	***Fotótrofos***	***Quimiolitótrofos***
Azotobacter	Cianobacterias	*Alcaligenes*
Azomonas		*Thiobacillus*
Agrobacterium		*Acidithiobacillus*
Klebsiella[b]		*Streptomyces thermoautotrophicus*
Beijerinckia		
Bacillus polymyxa		
Mycobacterium flavum		
Azospririllum lipoferum		
Citrobacter freundii		
Acetobactor diazotrophicus		
Methylomonas		
Methylococcus		
Methylosinus		
Pseudomonas		
Anaerobios de vida libre		
Quimioorganótrofos	***Fotótrofos***	***Quimiolitótrofos[c]***
Clostridium	*Chromatium*	*Methanosarcina*
Desulfovibrio	*Ectothiorhodospira*	*Methanococcus*
Desulfobacter	*Thiocapsa*	*Methanobacterium*
Desulfotomaculum	*Chlorobium*	*Methanospirillum*
	Chlorobaculum	*Methanolobus*
	Rhodospirillum	*Methanocaldococcus*
	Rhodopseudomonas	
	Rhodomicrobium	
	Rhodopila	
	Rhodobacter	
	Heliobacterium	
	Heliobacillus	
	Heliophilum	
	*Helioresti*s	
Simbióticos		
Plastas leguminosas	***Plantas no leguminosas***	
Soja, guisante, trébol, acacia, etc. en asociación con una bacteria de los géneros	*Alnus, Myrica, Ceanothus, Comptonia, Casuarina* en asociación con actinomicetos de los géneros Frankia, Anabaena (una cianobacteria) con el helecho de agua Azolla	
Rhizobium, Bradyrhizobium, Sinorhizobium o *Azorhizobium*		

[a] La fijación del N_2 sólo se produce en una pocas especies de algunos de los géneros listados.
[b] La fijación del N_2 sólo se produce en condiciones anóxicas.
[c] Todos son arqueas.

catalizada por un gran complejo enzimático llamado **nitrogenasa**, que consta de dos proteínas diferentes: la *dinitrogenasa* y la *dinitrogenasa-reductasa*. Ambas proteínas contienen hierro y la dinitrogenasa contiene también molibdeno. En la dinitrogenasa, el hierro y el molibdeno forman parte de un cofactor llamado *FeMo-co* (Figura 20.35), que es donde se produce la reducción real del N_2. La composición del FeMo-co es $MoFe_7S_8$-homocitrato (**Figura 20.35**).

Debido a la estabilidad del triple enlace del dinitrógeno, el N_2 es muy inerte y su activación es un proceso que requiere mucha energía. Se deben transferir seis electrones para reducir el N_2 a NH_3; las tres etapas de reducción sucesivas se producen directamente en la nitrogenasa, sin acumulación de intermediarios libres (**Figura 20.36**).

La fijación del nitrógeno está inhibida por el oxígeno porque la dinitrogenasa-reductasa se inactiva rápida e irreversiblemente por O_2; esto es así incluso si esta enzima está aislada de los fijadores del nitrógeno aerobios. En las bacterias aerobias fijadoras de nitrógeno, el N_2 se fija en presencia de O_2 en las células, pero no en preparaciones enzimáticas purificadas. En estos organismos, la nitrogenasa está protegida de la inactivación por el O_2 por alguno de los siguientes mecanismos: la eliminación rápida del O_2 por la respiración; la producción de capas mucosas que retrasan el O_2 (**Figura 20.37**); o, en algunas cianobac-

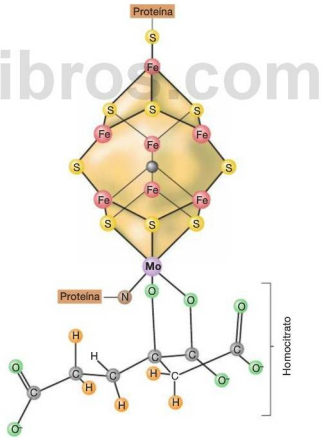


Figura 20.35 FeMo-co: el cofactor de hierro-molibdeno de la nitrogenasa. En la parte superior se encuentra el cubo de Fe_7S_8, que se une al Mo a la vez que los átomos de oxígeno del homocitrato (todos los átomos de oxígeno de la parte inferior se muestran en verde) y los átomos N y S de la dinitrogenasa. Se desconoce el átomo central que se muestra en negro, aunque podría ser carbono, oxígeno o nitrógeno.

www.mdlibros.com

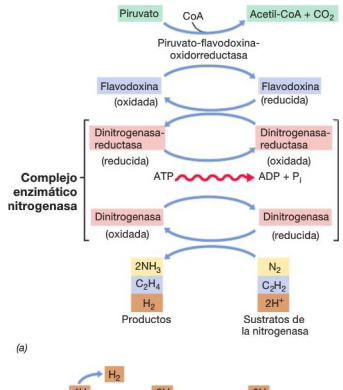


Figura 20.36 **Funcionamiento de la nitrogenasa**. *(a)* Etapas en la fijación del N_2 empezando por el piruvato. La dinitrogenasa-reductasa transfiere electrones a la dinitrogenasa, de uno en uno, y cada electrón transferido se asocia a la hidrólisis de 2 o 3ATP. *(b)* Etapas hipotéticas de la reducción del N_2 que muestra el paso de liberación del H_2 y un resumen de la actividad de la nitrogenasa.

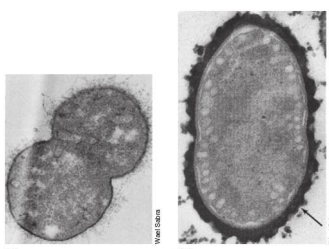


Figura 20.37 **Inducción de la formación de capas mucosas por el O_2 en células del fijador de nitrógeno *Azobacter vinelandii*.** *(a)* Fotografía al microscopio electrónico de transmisión de células que crecen en condiciones microóxicas en O_2 al 2,5%; se observa poca mucosidad. *(b)* Células cultivadas en aire (O_2 al 21%). Obsérvese la extensa capa mucosa teñida de oscuro (flecha). La capa mucosa retrasa la difusión del O_2 hacia el interior de la célula, lo que impide la inactivación de la nitrogenasa por el oxígeno. Una célula aislada de *A. vinelandii* mide unos 2 μm de diámetro.

www.edilibros.com

terias, mediante la compartimentación de la nitrogenasa en un tipo especial de célula, el heterocisto (Sección 16.7). Además, aunque la fijación del N_2 no ocurra en los extractos celulares expuestos al oxígeno, en los fijadores aerobios del nitrógeno como *Azotobacter*, la nitrogenasa está protegida de la inactivación por el oxígeno mediante la formación de un complejo con una proteína específica; este proceso se conoce como protección conformacional y es reversible. Cuando el oxígeno ya no se encuentra en concentraciones inhibidoras, la nitrogenasa protegida por la conformación puede volver a recuperar su actividad.

Flujo de electrones en la fijación del nitrógeno

La secuencia de la transferencia de electrones en la nitrogenasa es la siguiente: donador de electrones → dinitrogenasa-reductasa → dinitrogenasa → N_2, y el NH_3 es el producto final (Figura 20.36). Los electrones para la reducción del nitrógeno se transfieren a dinitrogenasa-reductasa desde la ferredoxina o la flavodoxina, que son ferrosulfoproteínas de bajo potencial (Sección 5.11). En *Clostridium pasteurianum*, la ferredoxina es el donador de electrones y se reduce por la oxidación del piruvato a acetil-CoA + CO_2. Además de la ferredoxina o la flavodoxina reducidas, se requiere ATP para la fijación del N_2. En cada ciclo de la transferencia de electrones, la ferredoxina o la flavodoxina reducen la dinitrogenasa-reductasa y se une a dos moléculas de ATP. La unión del ATP altera la conformación de la dinitrogenasa-reductasa y reduce su potencial reductor, lo que permite que interaccione con la dinitrogenasa. Al transferir los electrones a la dinitrogenasa, el ATP se hidroliza y la dinitrogenasa se disocia de la dinitrogenasa-reductasa, comenzando otro ciclo de reducción y la unión al ATP (Figura 20.36). Cuando se ha reducido totalmente, la dinitrogenasa reduce el N_2 a NH_3, produciéndose la reducción real en el centro del FeMo-co (Figura 20.36).

Aunque sólo se necesitan *seis* electrones para reducir el N_2 a dos NH_3, en el proceso se consumen en realidad *ocho* electrones, de los que dos se pierden como H_2 por cada mol de N_2 reducido (Figura 20.36). Se desconoce la razón de este derroche de poder reductor, pero está claro que la producción de H_2 es una parte esencial del mecanismo de reacción de la nitrogenasa y no se puede eliminar sin inactivarla.

Nitrogenasas alternativas

Algunas bacterias y arqueas fijadoras de nitrógeno producen nitrogenasas que no tienen molibdeno en condi-

ciones en las que el Mo está ausente o escasea. Estas *nitrogenasas alternativas*, que es como se las denomina, contienen vanadio (V) o hierro en lugar del Mo. En estas nitrogenasas alternativas aparecen cofactores similares al FeMo-co: FeVa-co en la nitrogenasa con vanadio y, en la nitrogenasa con hierro, una agrupación de hierro y azufre que se parece al FeMo-co y al FeVa-co, pero que carecen de Mo y V. Las nitrogenasas alternativas no se sintetizan cuando hay presente suficiente molibdeno, ya que la molibdeno nitrogenasa es la nitrogenasa principal en la célula. En cambio, las nitrogenasas alternativas parecen funcionar como un «sistema de seguridad» para mantener la fijación de N_2 cuando en el ambiente escasea el molibdeno.

La nitrogenasa singular de *Streptomyces thermoautotrophicus*

En el estreptomiceto *Streptomyces thermoautotrophicus* existe una molibdeno-nitrogenasa estructural y funcionalmente nueva. Este organismo es un miembro filamentoso y termófilo (temperatura óptima de 65 °C) de las actinobacterias (Sección 16.6). *S. thermoautotrophicus* es una bacteria del hidrógeno que utiliza monóxido de carbono (CO) como donador de electrones en el metabolismo energético y que también es un autótrofo.

S. thermoautotrophicus fija el nitrógeno y su nitrogenasa contiene Mo, pero a diferencia de la nitrogenasa clásica con Mo, su nitrogenasa es completamente *insensible* a O_2. El componente dinitrogenasa de la nitrogenasa de *S. thermoautotrophicus*, llamada *Str1*, contiene tres polipéptidos diferentes que muestran semejanzas estructurales con los polipéptidos de la dinitrogenasa de otros fijadores del nitrógeno. Por el contrario, el componente de la dinitrogenasa-reductasa conocido como *Str2* no muestra ninguna similitud con otras dinitrogenasa-reductasas. Sin embargo, Str2 es muy similar a las enzimas que contienen manganeso llamadas superóxido-dismutasas (Sección 6.18), que resulta ser la función en esta nitrogenasa inusual (**Figura 20.38**).

Hay un patrón para el flujo de electrones en el sistema de la nitrogenasa de *S. thermoautotrophicus* que simula el de la nitrogenasa clásica. La fuente de los electrones es el superóxido (O_2^-) que se forma a partir de la reducción del O_2 mediante una CO-deshidrogenasa (Figura 20.38). Por lo tanto, de forma análoga a la secuencia de reacción piruvato → flavodoxina → dinitrogenasa-reductasa → dinitrogenasa en la fijación clásica de nitrógeno (Figura 20.36), la secuencia de *S. thermoautotrophicus* es CO → O_2^- → Str2 → Str1. Y sorprendentemente, en vez de que el oxígeno *inhiba* la nitrogenasa (como ocurre en todas las nitrogenasas clásicas que se han examinado), realmente se *requiere* oxígeno para el mecanismo de reacción de la nitrogenasa de *S. thermoautotrophicus*.

Otras propiedades singulares de la nitrogenasa de *S. thermoautotrophicus* incluyen el hecho de que la enzima consume menos de la mitad de ATP que las nitrogenasas clásicas y no reduce otros compuestos con triples enlaces, como el acetileno (*véase* Figura 20.39). En conjunto, estas propiedades, en concreto las de la insensibilidad del oxígeno, dan esperanzas a los biotecnólogos de plantas que intentan modificar genéticamente la fijación del nitrógeno en plantas de cultivo, como el maíz, que no hospedan simbiontes fijadores del nitrógeno conocidos. En las plantas (fotótrofos oxigénicos), por supuesto, sólo se podría fijar el N_2 con una nitrogenasa insensible al oxígeno.

Ensayos con la nitrogenasa: reducción del acetileno

Las nitrogenasas clásicas no son completamente específicas para el N_2 porque también reducen otros compuestos con triple enlaces, como cianuro (CN^-) y acetileno ($HC{\equiv}CH$). La reducción del acetileno llevada a cabo por la nitrogenasa es un proceso de sólo dos electrones en el que se produce *etileno* ($H_2C{=}CH_2$). La reducción del acetileno a etileno proporciona un método simple y rápido para medir la actividad de los sistemas fijadores de nitrógeno mediante cromatografía de gases (**Figura 20.39**). Esta técnica, conocida como *ensayo de reducción del acetileno*, se utiliza mucho para detectar y cuantificar la fijación del nitrógeno.

La prueba definitiva de la fijación del N_2 se obtiene utilizando un isótopo del nitrógeno, ^{15}N, como un trazador (^{15}N no es un radioisótopo sino un isótopo estable que se detecta con un espectrómetro de masas). La fase gaseosa de un cultivo se enriquece con $^{15}N_2$ y tras la incubación, las células y el medio se digieren para liberar el amoníaco de todos los compuestos nitrogenados celulares, y al amoníaco así producido se le analiza su contenido en ^{15}N. Una producción significativa de NH_3 marcado con ^{15}N prueba la fijación del nitrógeno.

Aunque la asimilación del $^{15}N_2$ se utiliza a veces para demostrar la fijación del nitrógeno, el método de reducción del acetileno es una manera más rápida y sensible para de este proceso. Por lo tanto, la reducción biológica del acetileno se utiliza con más frecuencia para estudiar la fijación del nitrógeno, y se toma como una prueba importante de la actividad nitrogenasa. En un ensayo, la muestra, que puede ser suelo, agua, un cultivo o un extracto celular, se incuba con acetileno, y la fase gaseosa

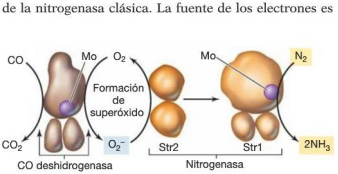


Figura 20.38 Reacciones para la fijación del nitrógeno en *Spreptomyces thermoautotrophicus*. Aunque Srt2 y Srt1 son bastante diferentes de la dinitrogenasa-reductasa y de la dinitrogenasa, realizan funciones equivalentes, respectivamente, a ellas.

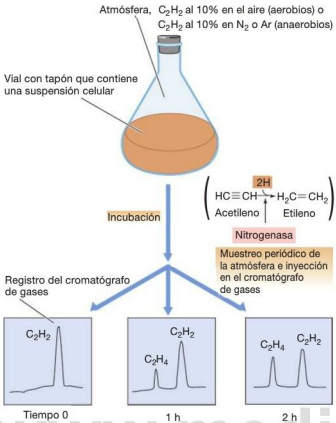


Figura 20.39 El ensayo de reducción del acetileno para la actividad de la nitrogenasa. Los resultados muestran que no hay etileno (C_2H_4) cuando comienza el experimento (tiempo 0), pero que aumenta su producción a medida que avanza el ensayo. Obsérvese la producción de C_2H_4 a medida que se consume acetileno (C_2H_2). Si el vial contenía un extracto enzimático, las condiciones serían anóxicas, incluso si la nitrogenasa procediese de una bacteria aerobia.

de la mezcla de reacción se analiza después mediante cromatografía de gas para detectar la producción de etileno (Figura 20.39). Este método es más sencillo y rápido que otros métodos y se puede adaptar fácilmente para utilizarlo en los estudios de campo sobre las bacterias fijadoras de N_2 directamente en sus hábitats.

20.15 Genética y regulación de la fijación del N_2

Como el proceso de fijación de N_2 requiere una gran cantidad de energía, la síntesis y la actividad de la nitrogenasa y las otras muchas enzimas necesarias para la fijación del N_2 (Figura 20.36) se encuentran muy reguladas.

Genética para la fijación del nitrógeno

Los genes de la dinitrogenasa y la dinitrogenasa-reductasa en *Klebsiella pneumoniae*, un fijador de nitrógeno bien estudiado, son parte de un regulón (una gran red de operones, Sección 9.9) complejo denominado el *regulón nif*. El regulón *nif* de *K. pneumoniae* ocupa 24 kpb en el ADN y contiene 20 genes dispuestos en varias unidades transcripcionales (**Figura 20.40**). Además de los genes estructurales de la nitrogenasa, en el regulón del *nif* también están presentes los genes para la síntesis del FeMo-co, los genes que controlan las proteínas del transporte de electrones, y una serie de genes reguladores.

La dinitrogenasa está compuesta por dos copias de las subunidades α (el producto de la *nifD*) y β (el producto de *nifK*), cada una de las cuales está presente en dos copias en el complejo de la enzima nitrogenasa. La dinitrogenasa-reductasa es una proteína dimérica que consta de dos subunidades idénticas producidas por el gen *nifH*. El FeMo-co se sintetiza con la participación de varios genes,

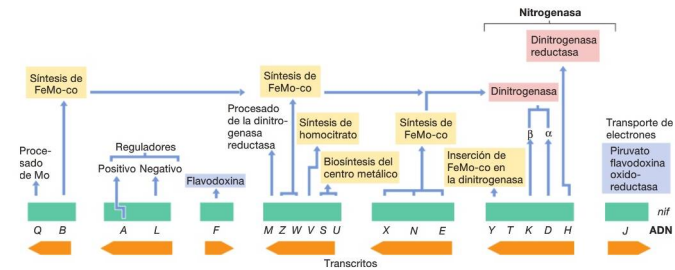


Figura 20.40 El regulón *nif* de *Klebsiella pneumoniae*, la bacteria fijadora de nitrógeno más estudiada. Se desconoce la función del producto del gen *nifT*. Los ARNm que se transcriben se muestran por debajo de los genes; las flechas indican la dirección de la transcripción. Las proteínas que catalizan la síntesis del FeMo-co se muestran en amarillo. Los demás colores corresponden a los de la Figura 20.36.

UNIDAD 4

www.medilibros.com

entre ellos *nifN, V, Z, W, E, y B,* así como *nifQ,* que codifica una enzima procesadora de molibdeno. El gen *nifA* codifica una proteína reguladora positiva que activa la transcripción de otros genes *nif* (Figura 20.40).

La nitrogenasa es una proteína muy conservada y los genes *nifHDK* que la codifican se han utilizado como sondas moleculares para cribar el DNA de varios procariotas para detectar genes homólogos y establecer su capacidad para fijar el nitrógeno. En todos los fijadores de nitrógeno examinados (salvo el caso tan peculiar de *Streptomyces thermoautotrophicus*, Sección 20.24) aparecen genes *nifHDK*, lo que sugiere que los requisitos genéticos para la nitrogenasa son bastante específicos. Las nitrogenasas alternativas (Sección 20.14) están codificadas por su propio conjunto de genes (*vnfHDK* para el sistema con vanadio y *anfHDK* para el sistema sólo con hierro), si bien todos ellos muestran una similitud de secuencia significativa con *nifHDK*.

Regulación de la síntesis de la nitrogenasa

La nitrogenasa tiene una regulación muy estricta. La fijación del nitrógeno se reprime por O_2 y por las formas de nitrógeno fijado, incluidas NH_3, NO_3^- y algunos aminoácidos. La mayor parte de esta regulación se realiza sobre la transcripción, como se muestra en la Figura 20.40. La transcripción de los genes estructurales *nif* se activa por la proteína NifA (regulación positiva, Sección 9.4). En cambio, el NifL es un regulador negativo de la expresión del gen *nif* y contiene una molécula de FAD (recuérdese que el FAD es una coenzima rédox de las flavoproteínas, Sección 5.11) clave para la percepción del O_2. En presencia de una cantidad suficiente de O_2, NifL reprime la síntesis de otros genes *nif*, lo que bloquea la síntesis de la nitrogenasa sensible al oxígeno.

El amoníaco reprime la fijación del N_2 a través de una segunda proteína, llamada NtrC, cuya actividad está regulada por el estado del nitrógeno de la célula. Cuando el amoníaco escasea, se activa NtrC y favorece la transcripción de *nifA*, lo que da lugar a la producción de NifA, la proteína activadora de fijación del nitrógeno, y comienza la transcripción de *nif*.

El amoníaco producido por la nitrogenasa no bloquea la síntesis de la enzima porque, en cuanto aparece, se incorpora en los aminoácidos (Sección 5.16) y se utiliza para la biosíntesis. Pero cuando el amoníaco está en exceso (como en los ambientes naturales o los medios de cultivo con una concentración elevada de amoníaco), se reprime la síntesis de la nitrogenasa. De este modo, no se malgasta ATP en sintetizar amoníaco cuando ya está disponible en grandes cantidades.

Regulación de la actividad de la nitrogenasa

Además de reprimir la *síntesis* de la nitrogenasa, la *actividad* de la nitrogenasa también esta regulada por el amoníaco en muchas bacterias fijadoras de nitrógeno; es decir, que se pueden encender o apagar las proteínas de nitrogenasa que ya existen en la célula. Aunque probablemente existan mecanismos diferentes para apagar la actividad de la nitrogenasa, también parecen funcionar deteniendo el flujo de electrones hacia la dinitrogenasa en respuesta al exceso de amoníaco, lo que inactiva la nitrogenasa.

Se conoce el mecanismo de apagado de la nitrogenasa mediante amoníaco en muchas proteobacterias fotótrofas y algunas fijadoras del nitrógeno quimiótrofas y se denomina el *efecto interruptor del amoníaco*. En este mecanismo, el exceso de amoníaco causa una modificación covalente de la dinitrogenasa-reductasa, que da lugar a la pérdida de la actividad enzimática. Cuando disminuye la concentración de amoníaco, la dinitrogenasa-reductasa modificada se convierte a su forma activa y se reinicia la fijación del N_2. Por lo tanto, el apagado del amoníaco es un método rápido y reversible para controlar el consumo de ATP por la nitrogenasa.

También se ha observado el apagado por amoníaco en las arqueas fijadoras de nitrógeno. En las especies de *Methanococcus*, por ejemplo, el amoníaco inhibe rápidamente la actividad de la nitrogenasa. Aquí, sin embargo, no interviene la modificación covalente de la dinitrogenasa reductasa. En su lugar, existe una proteína celular perceptora de amoníaco que se puede unir a la nitrogenasa o inactivarla de algún otro modo cuando el amoníaco está en exceso en la célula. Resulta interesante que el sistema perceptor del amoníaco no funcione detectando directamente el amoníaco, sino detectando la escasez del compuesto carbonado α-cetoglutarato, un precursor directo del aminoácido glutamato (Sección 5.16). En este modelo para la regulación de la nitrogenasa, una escasez de α-cetoglutarato se percibe como un exceso de glutamato y, por lo tanto, no se necesitaría la actividad de la nitrogenasa debido a que se produciría más amoníaco y conduciría a la síntesis de más glutamato (Sección 9.8 y Figura 9.16). Este interesante sistema regulador también controla la actividad de la nitrogenasa en algunas especies del dominio bacterias, en particular las especies fijadoras de nitrógeno del anaerobio fermentativo *Clostridium* (Sección 16.2).

20.14-20.15 Minirrevisión

La fijación del nitrógeno consiste en la reducción del N_2 a NH_3 y requiere el complejo enzimático nitrogenasa. La mayor parte de las nitrogenasas contienen molibdeno o vanadio más hierro como cofactores metálicos, y el proceso de fijación del nitrógeno requiere una gran cantidad de energía. La nitrogenasa y la mayoría de las proteínas reguladoras asociadas están codificadas por el regulón *nif*. La nitrogenasa también reduce algunas sustancias que son estructuralmente similares a N_2 como el acetileno o el cianuro. La nitrogenasa y la fijación del nitrógeno están muy regulados, y el O_2 y el NH_3 son los dos efectores principales de la regulación.

▮ Escriba una ecuación igualada para la reacción que lleva a cabo la enzima nitrogenasa.

- ¿Qué es el FeMO-co y qué metales contiene?
- ¿Qué utilidad tiene el C_2H_2 para los estudios de fijación del nitrógeno?
- ¿Qué factores químicos y físicos afectan a la síntesis o la actividad de la nitrogenasa? ¿En qué difiere, a este respecto, el sistema de la nitrogenasa de *Streptomyces thermoautotrophicus*?
- ¿En qué se diferencian las nitrogenasas alternativas de la nitrogenasa clásica?

Glosario de términos

Anamox: oxidación anóxica del amoníaco

Autótrofo: organismo que utiliza el CO_2 como única fuente de carbono.

Bacteriocloro filia: el pigmento clorofílico de los fotótrofos anoxigénicos.

Carboxisomas: inclusiones cristalinas de RubisCO.

Carotenoide: pigmento accesorio hidrófobo presente en las membranas fotosintéticas junto a la clorofila.

Centro de reacción: complejo fotosintético que contiene clorofila o bacteriocloro filia y otros varios componentes, dentro del cual se producen las reacciones iniciales de transferencia de electrones en la fotosíntesis.

Ciclo de Calvin: vía metabólica para la fijación del CO_2 en muchos organismos autótrofos.

Ciclo inverso del ácido cítrico: mecanismo para la autotrofia en las bacterias verdes del azufre y unos pocos fotótrofos.

Clorofila: porfirina con Mg sensible a la luz de organismos fotótrofos que inicia el proceso de la fotofosforilación.

Clorosoma: estructuras con forma cilíndrica presentes en la periferia de células de bacterias verdes del azufre y de bacterias verdes no del azufre y que contiene las bacteriocloro filas de antena (*c*, *d* o *e*).

Ficobiliproteína: complejo pigmentario accesorio de las cianobacterias que contiene ficocianina y aloficocianina o ficoeritrina acoplada a las proteínas.

Ficobilisoma: agregados de las ficobiliproteínas.

Fijación de nitrógeno: reducción biológica del N_2 a NH_3 por la nitrogenasa.

Fotofosforilación: producción de ATP en la fotosíntesis.

Fotosíntesis: la serie de reacciones en la que se sintetiza ATP mediante reacciones impulsadas por la luz y se fija CO_2 para producir material celular.

Fotosíntesis anoxigénica: fotosíntesis en la que no se produce O_2.

Fotosíntesis oxigénica: fotosíntesis realizada por las cianobacterias y las plantas verdes, en la que se produce O_2.

Fotótrofo: organismo que utiliza luz como fuente de energía.

Hidrogenasa: enzima ampliamente distribuida en los microorganismos anaerobios que es capaz de tomar o producir H_2.

Mixótrofo: organismo en el que un compuesto inorgánico sirve como donador de electrones en el metabolismo energético y en el que los compuestos orgánicos sirven como fuente de carbono.

Nitrificación: conversión microbiana del NH_3 en NO_3^-.

Nitrogenasa: enzima capaz de reducir el N_2 a NH_3 en el proceso de la fijación del nitrógeno.

Pigmentos antena: clorofilas o bacteriocloro filas captadoras de luz en fotocomplejos que envían la energía al centro de reacción.

Quimiolitótrofo: microorganismo que oxida compuestos inorgánicos como donadores de electrones en el metabolismo energético.

RubisCO: el acrónimo para ribulosa difosfato carboxilasa, una enzima clave del ciclo de Calvin.

Tilacoides: pilas membranosas en las cianobacterias o en el cloroplasto de los fotótrofos eucariotas.

Transporte inverso de electrones: movimiento de electrones con consumo de energía contra el gradiente termodinámico para formar un reductor fuerte a partir de un donador de electrones más débil.

Vía del hidroxipropionato: vía metabólica autótrofa encontrada en *Chloroflexus* y unas pocas arqueas.

Preguntas de repaso

1. ¿Cuáles son las principales diferencias entre los fotótrofos oxigénicos y los fotótrofos anoxigénicos (Secciones 20.1 a 20.5)?
2. ¿Cuáles son las funciones de las clorofilas captadoras de luz y de las del centro de reacción? ¿Por qué un mutante incapaz de fabricar clorofilas captadoras de luz (estos mutantes se pueden aislar fácilmente en el laboratorio) no sería un buen competidor en la naturaleza (Sección 20.2)?
3. ¿Dónde se localizan los pigmentos fotosintéticos en una bacteria púrpura? ¿Y en una cianobacteria? ¿Y en un alga verde? Considerando la función de los pigmentos

www.elibro.com

clorofílicos, ¿por qué no se pueden localizar en cualquier lugar de la célula, por ejemplo, en el citoplasma o en la pared celular (Sección 20.3)?

4. ¿Qué pigmentos accesorios están presentes en los fotótrofos y cuáles son sus funciones? (Sección 20.3)?
5. ¿Cómo se produce ATP a partir de la luz en un fotótrofo anoxigénico? ¿En qué se parecen el flujo de electrones de la fotosíntesis y de la respiración? ¿En qué se diferencian? (Sección 20.4)?
6. ¿Cómo se fabrica el poder reductor para el crecimiento autótrofo de una bacteria púrpura? ¿Y en una cianobacteria (Sección 20.4)?
7. ¿En qué se diferencian el potencial de reducción de la clorofila *a* en PS I y en el PS II? ¿Por qué el potencial de reducción de la clorofila del fotosistema II tiene que ser tan electropositivo (Sección 20.5)?
8. ¿Qué dos enzimas son exclusivas de los organismos que realizan el ciclo de Calvin? ¿Qué reacciones realizan estas enzimas? ¿Cuáles serían las consecuencias si surgiera un mutante que careciera de alguna estas enzimas (Sección 20.6)?
9. ¿Qué organismos emplean el hidroxipropionato o el ciclo inverso del ácido cítrico como vías autótrofas (Sección 20.7)?
10. Compare la utilización del H_2S por una bacteria púrpura fotótrofa y por una bacteria incolora del azufre como *Beggiatoa*. ¿Qué función desempeña el H_2S en el metabolismo de cada organismo (Sección 20.8)?
11. ¿Qué donadores de electrones inorgánicos utilizan los organismos *Ralstonia* y *Thiobacillus* (Secciones 20.9 y 20.10)?
12. ¿Qué tiene de particular el ambiente de *Acidithiobacillus ferrooxidans* que afecta a la energética de su metabolismo (Sección 20.11)?
13. Compare la nitrificación clásica con el anamox en términos de requisitos de oxígeno, los organismos implicados y la necesidad de monooxigenasas (Secciones 20.12 y 20.13).
14. Escriba la reacción catalizada por la enzima *nitrogenasa*. ¿Cuántos electrones se necesitan en esta reacción? ¿Cuántos se utilizan realmente? Explíquelo.
15. ¿En qué se diferencia la nitrogenasa de *Streptomyces thermoautotrophicus* de la de *Azotobacter* (Sección 20.14)?
16. Distinga entre represión por amoníaco de la nitrogenasa y el efecto «interruptor» del amoníaco. ¿Qué ocurre en cada situación (Sección 20.15)?

Ejercicios prácticos

www.medilibros.com

1. Compare el espectro de absorción de la clorofila *a* y la bacterioclorofila *a*. ¿Qué longitudes de onda absorbe con preferencia cada pigmento y cómo se corresponden las propiedades de absorción de estas moléculas con las regiones del espectro visible para nuestro ojo? ¿Por qué la mayoría de las plantas son verdes?
2. La velocidad de crecimiento de la bacteria púrpura fotótrofa *Rhodobacter* es casi el doble cuando el organismo crece *fototróficamente* en un medio con malato como fuente de carbono que cuando crece con CO_2 como fuente de carbono (con H_2 como donador de electrones). Comente las razones por las que esto es cierto e indique la clase nutricional en la que se colocaría a *Rhodobacter* cuando crece en cada una de las condiciones.
3. Aunque sean fisiológicamente distintos, los quimiolitótrofos y los quimioorganótrofos comparten una serie de características en relación con la producción de ATP. Comente estas características comunes junto con las razones por las que el rendimiento del crecimiento (gramos de células por mol de sustrato) de un quimioorganótrofo que respira glucosa es mucho mayor que para un quimiolitótrofo que respire azufre.
4. Le gustaría modificar genéticamente, mediante la biotecnología, el maíz para que fije nitrógeno. Comente qué tipo de nitrogenasa debería introducir en dicha planta y por qué sería la enzima más adecuada para este propósito.

21

Diversidad metabólica: catabolismo de los compuestos orgánicos

I FERMENTACIONES 678

21.1 Fermentaciones: consideraciones energéticas y redox 678

21.2 Diversidad fermentativa: fermentaciones del ácido láctico y ácido-mixta 680

21.3 Diversidad fermentativa: fermentaciones de los clostridios y del ácido propiónico 683

21.4 Fermentaciones sin fosforilación a nivel del sustrato 686

21.5 Sintrofismo 688

II RESPIRACIÓN ANAEROBIA 690

21.6 Respiración anaerobia: principios generales 690

21.7 Reducción del nitrato y desnitrificación 691

21.8 Reducción del sulfato y del azufre 693

21.9 Acetogenesis 696

21.10 Metanogenesis 698

21.11 Reducción de protones 702

21.12 Otros aceptores de electrones 703

21.13 Oxidación anóxica de hidrocarburos asociada a la respiración anaerobia 706

III PROCESOS DE QUIMIOORGANOTROFIA AEROBIA 709

21.14 El oxígeno molecular como reactivo en los procesos bioquímicos 709

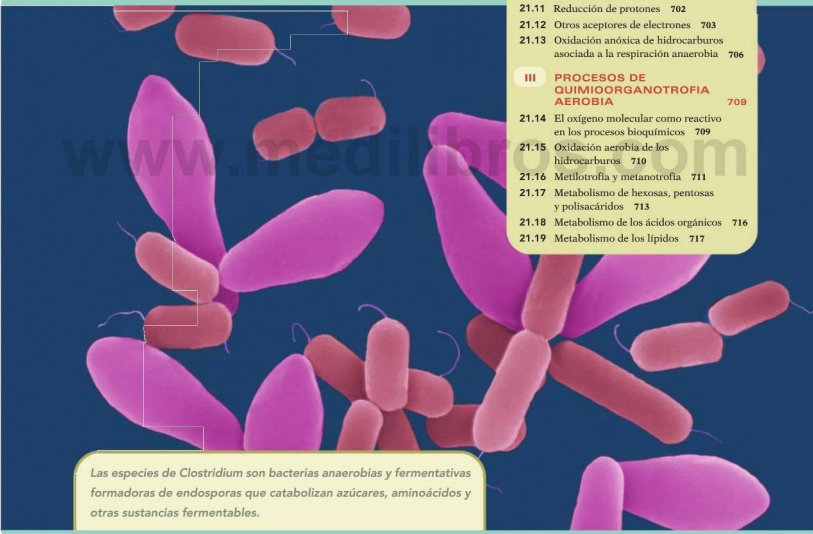
21.15 Oxidación aerobia de los hidrocarburos 710

21.16 Metilotrofia y metanotrofia 711

21.17 Metabolismo de hexosas, pentosas y polisacáridos 713

21.18 Metabolismo de los ácidos orgánicos 716

21.19 Metabolismo de los lípidos 717



Las especies de Clostridium son bacterias anaerobias y fermentativas formadoras de endosporas que catabolizan azúcares, aminoácidos y otras sustancias fermentables.

www.medilibros.com

En el Capítulo 20 explicamos los procesos bioenergéticos diferentes a los que utilizan compuestos orgánicos como reactantes. En este capítulo, nos centraremos en los *compuestos orgánicos* como donadores de electrones y en los diversos modos en los que los microorganismos quimioorganótrofos conservan la energía. Se hará hincapié en las formas anaerobias del metabolismo, ya que las estrategias para el crecimiento en condiciones anóxicas son un distintivo de la diversidad procariota. Terminaremos el capítulo con un repaso al catabolismo aerobio de los compuestos orgánicos clave, principalmente los monómeros que se liberan en la degradación de las moléculas.

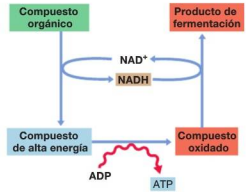


Figura 21.1 La esencia de la fermentación. El producto de fermentación se excreta de la célula y sólo se utiliza para la biosíntesis una cantidad relativamente pequeña del compuesto orgánico original.

I FERMENTACIONES

Dos mecanismos para el catabolismo de los compuestos orgánicos son la *fermentación* y la *respiración*. Estos procesos se diferencian fundamentalmente en términos de oxidorreducción y del mecanismo de síntesis de ATP. En la respiración, tanto si son aerobios como anaerobios, los aceptores exógenos de los electrones están presentes para aceptar los electrones generados por la oxidación de los donadores de electrones. En la fermentación no es así. Por lo tanto, en la respiración, a diferencia de la fermentación, veremos un tema común de transporte de electrones y generación de una fuerza protonmotriz. Además, en comparación con las respiraciones, las fermentaciones rinden poca energía. Sin embargo, veremos que un poco de energía libre puede llevar muy lejos y que la diversidad fermentativa en el mundo procariota resulta asombrosa.

21.1 Fermentaciones: consideraciones energéticas y redox

Muchos hábitats microbianos son **anóxicos** (sin oxígeno). En estos ambientes, la descomposición de un material orgánico se produce por vía anaerobia. Si en los hábitats microbianos anóxicos no se dispone de los suministros adecuados de aceptores de electrones, como SO_4^{2-}, NO_3^- y Fe^{3+} y otros que se verán más adelante, los compuestos orgánicos se catabolizan por la **fermentación** (**Figura 21.1**). Expusimos el proceso global de la fermentación en las Secciones 5.9 y 5.10. Allí vimos cómo la fermentación es un proceso de oxidorreducción (redox) equilibrado internamente en el que el sustrato fermentable se oxida y reduce a la vez.

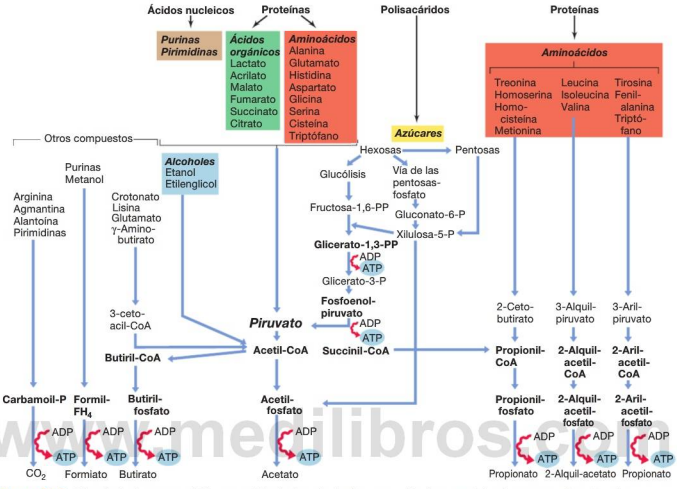
Un organismo se enfrenta a dos problemas principales si tiene que catabolizar compuestos orgánicos en el metabolismo productor de energía: 1) conservación de energía y 2) equilibrio redox. En la fermentación, el ATP lo sintetiza típicamente la *fosforilación a nivel de sustrato*, un mecanismo por el que los enlaces fosfato ricos en energía de intermediarios orgánicos fosforilados se transfieren directamente al ADP para formar ATP (Sección 5.9). El segundo problema, el equilibrio redox, se soluciona con la producción y posterior excreción de los productos de fermentación generados a partir del sustrato original (**Figuras** 21.1 y **21.2**).

Compuestos ricos en energía y fosforilación a nivel de sustrato

Existen muchas maneras diferentes, pero muy relacionadas, de conservar la energía mediante la fosforilación a nivel de sustrato. Sin embargo, el mecanismo central de la síntesis del ATP es la producción de *compuestos de alta energía*. Se trata de compuestos orgánicos que contienen un enlace fosfato rico en energía o una molécula de la coenzima A, cuya hidrólisis es muy exergónica. La **Tabla 21.1** presenta una lista de algunos intermediarios ricos en energía formados durante los procesos bioquímicos. La hidrólisis de la mayor parte de los compuestos presentados se puede acoplar a la síntesis de la ATP (−31,8 kJ/mol). Por lo tanto, si un organismo puede formar uno de estos compuestos durante el metabolismo fermentativo, puede fabricar ATP mediante la fosforilación a nivel de sustrato. En la Figura 21.2 se resumen varias vías metabólicas para la descomposición anaerobia de las sustancias fermentables hasta generar los intermediarios de alta energía.

Equilibrio de oxidación-reducción, H_2 y producción del acetato

En cualquier fermentación, debe existir un equilibrio de oxidación-reducción (redox); el número total de electrones en los productos de la derecha de la ecuación debe equilibrarse con el número en los sustratos de la izquierda de la ecuación. Cuando las fermentaciones se estudian experimentalmente en el laboratorio, es posible calcular un equilibrio de fermentación para asegurar que algunos productos no pasen desapercibidos. El equilibrio de fermentación también se puede calcular teóricamente a par-



www.mediLibros.com

Figura 21.2 **Vías de la descomposición anaerobia de las principales sustancias fermentables.** Se muestran los sitios de fosforilación a nivel del sustrato. Los derivados del CoA y otros compuestos de alta energía se resaltan en negrita. Los términos en negrita y cursiva son nombres de grupo. Remítase a la Tabla 21.1 si fuera necesario.

tir de los estados de oxidación de los sustratos y los productos (el Apéndice 1 explica el procedimiento para calcular los estados de oxidación).

En algunas fermentaciones, el equilibrio de los electrones se mantiene por la producción del hidrógeno molecular: el H_2. La producción del H_2 está asociada a la actividad de una ferrosulfoproteína llamada *ferredoxina*, que es un transportador de electrones de muy bajo potencial. La transferencia de electrones desde la ferredoxina al H^+ la cataliza la enzima **hidrogenasa**, como se ilustra en la **Figura 21.3**. En esta reacción no se conserva la energía y, por lo tanto, la producción de H_2 funciona como una «válvula de seguridad» para mantener el equilibrio redox.

Muchas bacterias anaerobias producen acetato como producto de fermentación principal o minoritario. En la producción de acetato y otros ácidos grasos concretos (Tabla 21.1) se conserva la energía porque permite que el organismo fabrique ATP mediante la fosforilación a nivel del sustrato. El intermediario clave generado en la producción del acetato es acetil-CoA (Tabla 21.1 y Figura 21.2), que es un compuesto rico en energía. El acetil-

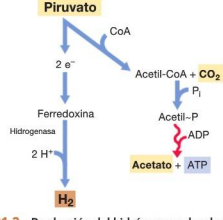


Figura 21.3 **Producción del hidrógeno molecular (H_2) y acetato a partir de piruvato.** Obsérvese cómo, en la producción de acetato, el ATP se sintetiza a partir de la hidrólisis de un intermediario de alta energía, el acetil-fosfato (Tabla 21.1).

CoA se convierte en acetil-fosfato (Tabla 21.1) y el grupo fosfato del acetil-fosfato se transfiere después al ADP mediante la enzima acetato-quinasa, y se produce ATP.

Tabla 21.1 Compuestos ricos en energía que intervienen en la fosforilación a nivel de sustrato[a]

Compuesto	Energía libre de hidrólisis, $\Delta G^{0'}$, (kJ/mol)[b]
Acetil-CoA	−35,7
Propionil-CoA	−35,6
Butiril-CoA	−35,6
Caproil-CoA	−35,6
Succinil-CoA	−35,1
Acetil-fosfato	−44,8
Butiril-fosfato	−44,8
1,3-difosfoglicerato	−51,9
Carbamoil-fosfato	−39,3
Fosfoenolpiruvato	−51,6
Adenosina-fosfosulfato (APS)	−88,0
N^{10}-formil-tetrahidrofolato	−23,4
Energía de la hidrólisis del ATP (ATP → ADP +P)	−31,8

[a] Datos tomados de Thauer, R.K., K. Jungermann y K. Decker, 1977. «Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria». *Bacteriol. Rev.* 41: 100-180.

[b] Los valores de $\Delta G^{0'}$ mostrados aquí son para «condiciones estándares», que no son necesariamente las de las células. Además de la pérdida de calor, los costes de energía para fabricar un ATP se aproxima más a 60 kJ que 32 kJ, y, por lo tanto, la energía de la hidrólisis de los compuestos de alta energía que se muestran aquí es probablemente mayor. Pero por simplicidad y a efectos comparativos, los valores en la tabla se tomarán como la energía real liberada por reacción.

Uno de los principales precursores del acetil-CoA es el piruvato, el producto principal de la glucólisis. La conversión de piruvato en acetil-CoA es una reacción de oxidación clave, y los electrones generados se deben utilizar para formar productos de fermentación o liberarse como H_2 (Figura 21.3)

21.1 Minirrevisión

En ausencia de los aceptores de electrones externos, los compuestos orgánicos se pueden catabolizar de manera anaerobia sólo mediante la fermentación. Sólamente algunos compuestos son fermentables de por sí, y un requisito para la mayor parte de las fermentaciones es que se genere un intermediario orgánico de alta energía que produzca ATP mediante la fosforilación a nivel de sustrato. En las fermentaciones también se debe alcanzar el equilibrio redox, y la producción del H_2 es una de las maneras de deshacerse del exceso de electrones.

- ¿Qué es la fosforilación a nivel de sustrato?
- ¿Por qué resulta beneficiosa, en términos energéticos, la formación de acetato en la fermentación?

21.2 Diversidad fermentativa: fermentaciones del ácido láctico y ácido-mixta

Se conocen muchas fermentaciones diferentes, que se clasifican bien por el sustrato fermentado o bien por los productos de fermentación que se forman. La **Tabla 21.2** resume algunos de los principales tipos de fermentaciones clasificadas sobre la base de los productos formados. Algunas de las categorías son amplias, como la alcohólica, la del ácido láctico, la del ácido propiónico, la ácido-mixta, la del ácido butírico y la del ácido acético. En cambio, numerosas fermentaciones se clasifican según el sustrato fermentado en vez del producto de fermentación. Por ejemplo, algunas de las bacterias anaerobias formadoras de endosporas (género *Clostridium*) fermentan aminoácidos, mientras que otras fermentan purinas y pirimi-

Tabla 21.2 Fermentaciones bacterianas frecuentes y algunos de los organismos que las realizan

Tipo	Reacción	Organismos
Alcohólica	Hexosa → 2 Etanol + $2CO_2$	*Levaduras, Zymomonas*
Homoláctica	Hexosa → 2 Lactato$^-$ + $2H^+$	*Streptococcus*, algunos *Lactobacillus*
Heteroláctica	Hexosa → Lactato$^-$ + Etanol + CO_2 + H^+	*Leuconostoc*, algunos *Lactobacillus*
Ácido propiónico	3 Lactato$^-$ → 2 Propionato$^-$ + Acetato$^-$ + CO_2 + H_2O	*Propionibacterium, Clostridium propionicum*
Ácido mixta[a]	Hexosa → Etanol + 2,3-Butanodiol + Succinato^{2-} + Lactato$^-$ + Acetato$^-$ + Formiato$^-$ + H_2 + CO_2	*Bacterias entéricas*[b] *Escherichia, Salmonela, Shigella, Klebsiella, Enterobacter*
Ácido butírico[b]	Hexosa → Butirato$^-$ + $2H_2$ + $2CO_2$ + H^+	*Clostridium butyricum*
Butanol[b]	2 Hexosa → Butanol + Acetona + 5 CO_2 + 4 H_2	*Clostridium acetobutylicum*
Caproato/Butirato	6 Etanol + 3 Acetato$^-$ → 3Butirato$^-$ + Caproato$^-$ + $2H_2$ + $4H_2O$ + H^+	*Clostridium kluyveri*
Acetogénica	Fructosa → 3 Acetato$^-$ + $3H^+$	*Clostridium aceticum*

[a] No todos los organismos producen todos los productos. En particular, la producción de butanodiol se limita sólo a algunas bacterias entéricas. La reacción no está equilibrada.

[b] La estequiometría muestra los productos principales. Otros productos incluyen algo de acetato y un poco de etanol (sólo la fermentación del butanol).

dinas. Otros anaerobios fermentan compuestos aromáticos (**Tabla 21.3**). Claramente, se pueden fermentar una amplia gama de compuestos orgánicos.

Algunas fermentaciones las realizan sólo unos pocos anaerobios; en algunos casos, puede ser una única bacteria conocida. En la Tabla 21.3 se indican algunos ejemplos. Muchas de estas bacterias se pueden considerar especialistas metabólicos que han desarrollado la capacidad bioquímica de catabolizar un sustrato o sustratos que otras bacterias no son capaces de catabolizar. Sin embargo, para todas las fermentaciones, el catabolismo de los sustratos requiere que el organismo sea capaz de sintetizar un intermediario de alta energía como los que aparecen en la Tabla 21.1, que conserva parte de la energía liberada en forma de ATP.

A continuación, consideramos dos fermentaciones de azúcares muy frecuentes en las que el ácido láctico es el producto principal.

Fermentación del ácido láctico

Las bacterias del ácido láctico son organismos grampositivos que producen ácido láctico como un producto principal o único de la fermentación (Sección 16.1). Se observan dos estructuras fermentativas. Una, denominada **homofermentativa,** produce un único producto de fermentación: el ácido láctico. La otra, denominada **heterofermentativa**, genera otros productos además del lactato, principalmente etanol más CO_2.

La **Figura 21.4** resume las vías metabólicas para la fermentación de la glucosa en las bacterias homofermentativas y heterofermentativas del ácido láctico. Las diferencias observadas en los patrones de fermentación se pueden rastrear por la presencia o ausencia de la enzima *aldolasa***,** una enzima clave de la glucólisis (Figura 5.15). Las bacterias homofermentativas del ácido láctico contienen aldolasa y producen dos lactatos a partir de glucosa mediante la vía glucolítica (Figura 21.4*a*). Las heterofermentativas carecen de aldolasa y, por lo tanto, no pueden descomponer la fructosa-difosfato en triosa-fosfato. En su lugar, oxidan la glucosa-6-fosfato a 6-fosfogluconato y luego descarboxilan ésta a pentosa-fosfato, que se convierte en triosa-fosfato y acetil-fosfato mediante la enzima clave *fosfocetolasa* (Figura 21.4*b*). Las etapas iniciales del catabolismo de las bacterias heterofermentativas del ácido láctico son las de la vía de las pentosas-fosfato (*véase* Figura 21.39).

En las heterofermentativas, la triosa-fosfato se convierte por último en ácido láctico con la producción de ATP (Figura 21.4). Sin embargo, para conseguir un equilibrio redox, el acetil-fosfato producido se reduce con NADH (generado durante la producción de pentosas-fosfato) y se convierte en etanol sin que se sintetice ATP, ya que el enlace con el CoA de alta energía se pierde durante esta reducción. Por ello, las heterofermentativas producen sólo *un* ATP/glucosa en vez de los *dos* ATP/glucosa que se producen en las homofermentativas. Además, como las heterofermentativas descarboxilan el 6-fosfogluconato, producen CO_2 como producto de fermentación; las homofermentativas no producen CO_2. Por lo tanto, un modo sencillo de detectar una heterofermentativa consiste en observar la producción de CO_2 en los cultivos de laboratorio.

Vía de Entner-Doudoroff

Una variante de la vía glucolítica, llamada *vía de Entner-Doudoroff*, es una vía ampliamente distribuida para el catabolismo de los azúcares en las bacterias, especialmente entre las especies del grupo de las pseudomonas. En esta vía, la glucosa-6-fosfato se oxida a ácido 6-fosfoglucónico y NADPH; el ácido 6-fosfoglucónico se deshidrata y se escinde en piruvato y gliceraldehído-3-fosfato (G-3-P), un intermediario clave de la vía glucolítica. A continuación, el G 3-P se cataboliza como en la glucólisis, lo que genera NADH y 2 ATP, y se utiliza como un aceptor de electrones para equilibrar las reacciones redox (Figura 21.4*a*).

Resulta interesante que como el piruvato se forma directamente en la vía de Entner-Doudoroff y no puede producir ATP de la forma que lo hace el G-3-P (Figura 21.4), la vía de Entner-Doudoroff produce sólo la mitad de ATP que la vía glucolítica. Por lo tanto, los organismos que utilizan la vía de Entner-Doudoroff comparten esta característica

Tabla 21.3 Algunas fermentaciones bacterianas poco frecuentes

Tipo	*Reacción*	*Organismos*
Acetileno	$2C_2H_2 + 3H_2O \rightarrow$ Etanol + Acetato$^-$ + H+	*Pelobacter acetylenicus*
Glicerol	4 Glicerol + $2HCO_3^- \rightarrow$ 7 Acetato$^-$ + 5H$^+$ + $4H_2O$	*Especies de Acetobacterium*
Resorcinol (aromático)	$2C_6H_4(OH)_2 + 6H_2O \rightarrow$ 4 Acetato$^-$ + Butirato$^-$ + 5H$^+$	*Especies de Clostridium*
Floroglucinol (aromático)	$C_6H_6O_3 + 3H_2O \rightarrow$ 3 Acetato$^-$ + 3H$^+$	*Pelobacter massilensis, Pelobacter acidigallici*
Putrescina	$10C_4H_{12}N_2 + 26H_2O \rightarrow$ 6 Acetato$^-$ + 7 Butirato$^-$ + $20NH_4^+$ + $16H_2$ + 13H$^+$	*Anaerobios grampositivos no esporulados sin clasificar*
Citrato	Citrato^{3-} + $2H_2O \rightarrow$ Formiato$^-$ + 2 Acetato$^-$ + HCO_3^- + H$^+$	*Especies de Bacteroides*
Aconitato	Aconitato^{3-} + H$^+$ + $2H_2O \rightarrow 2CO_2$ + 2 Acetato$^-$ + H_2	*Acidaminococcus fermentans*
Glioxilato	4 Glioxilato$^-$ + 3H$^+$ + $3H_2O \rightarrow 6CO_2$ + $5H_2$ + Glicolato$^-$	*Bacteria gramnegativa sin clasificar*
Benzoato	2 Benzoato$^- \rightarrow$ Ciclohexano-carboxilato$^-$ + 3 Acetato$^-$ + HCO_3^- + 3H$^+$	*Syntrophus acidotrophicus*

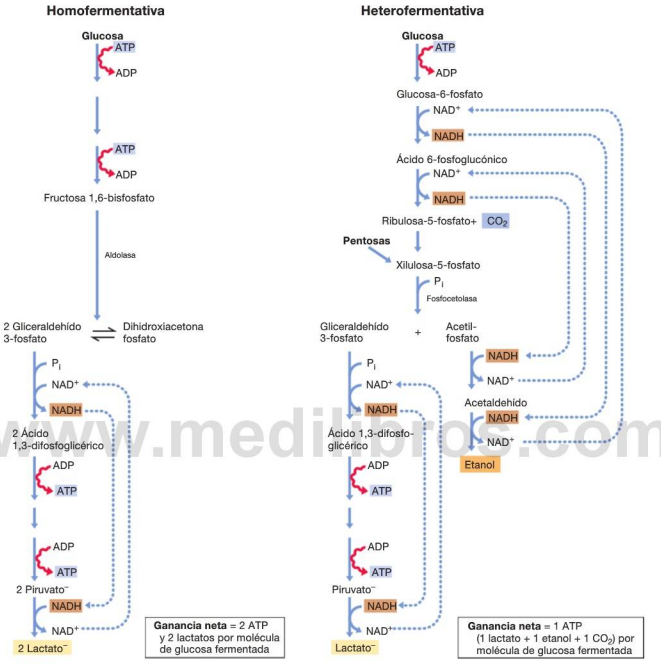


Figura 21.4 **La fermentación de la glucosa en las bacterias del ácido láctico homofermentativas y heterofermentativas.** Obsérvese que no se fabrica ATP en las reacciones que conducen a la formación del etanol en los organismos heterofermentativos.

www.medilibros.com

fisiológica con las bacterias heterofermentativas del ácido láctico que también utilizan una variante de la vía glucolítica (Figura 21.4*b*). Las *Zymomonas*, una pariente fermentativa obligada de las pseudomonas, y las especies del género *Pseudomonas*, una bacteria no fermentativa, son los principales géneros con la vía de Entner-Doudoroff (Sección 15.7).

Fermentaciones ácido-mixtas

En la fermentación ácido-mixta, característica de las bacterias entéricas (Sección 15.11), se forman tres ácidos diferentes (*acético*, *láctico* y *succínico*) en cantidades significativas a partir de la fermentación de la glucosa u otros azúcares. También se genera etanol, CO_2 y H_2 en distintas cantidades. La glucólisis es la vía utilizada por los organismos fermentativos ácido-mixtos, como *Escherichia coli*, y en la Figura 5.15 se esquematizan las etapas de esta vía.

Algunas bacterias entéricas producen productos ácidos en menor cantidad que *E. coli* y equilibran sus fermentaciones al producir más cantidad de productos neutros. Un producto neutro clave es el alcohol de cuatro

carbonos *butanodiol*. En esta variante de la fermentación ácido-mixta, los productos principales que se encuentran son el butanodiol, el etanol, el CO_2 y el H_2 (**Figura 21.5**). En la fermentación ácido-mixta de *E. coli* se generan cantidades iguales de CO_2 y H_2, mientras que en la fermentación del butanodiol se produce bastante más CO_2 que H_2 porque los fermentadores ácido-mixtos producen CO_2 sólo a partir del ácido fórmico por medio de la enzima hidrogenil-liasa-fórmica:

$$HCOOH \rightarrow H_2 + CO_2$$

En cambio, los productores de butanodiol, como *Enterobacter aerogenes*, producen CO_2 y H_2 a partir del ácido fórmico, pero también producen dos moléculas adicionales de CO_2 durante la formación de cada molécula de butanodiol (Figura 21.5). Como producen menos productos ácidos, los fermentadores de butanodiol no acidifican su ambiente tanto como lo hacen los fermentadores ácido-mixtos, lo que, supuestamente, reflejaría las diferencias de tolerancia a los ácidos de los dos grupos de organismos que serán relevantes para su éxito competidor en la naturaleza.

21.2 Minirrevisión

La fermentación del ácido láctico la realizan especies homofermentativas y heterofermentativas. La fermentación ácido-mixta da lugar a ácidos o ácidos más productos neutros, según el organismo.

- ¿Cómo se pueden diferenciar las bacterias del ácido láctico homofermentativas de las heterofermentativas por la producción de CO_2?
- La producción del butanodiol conduce a una mayor producción de etanol que la fermentación ácido-mixta de *Escherichia coli*. ¿Por qué?

21.3 Diversidad fermentativa: fermentaciones de los clostridios y del ácido propiónico

Las especies del género *Clostridium* son anaerobios fermentativos clásicos (Sección 16.2). Los diferentes clostridios fermentan azúcares, aminoácidos, purinas y pirimidinas y otros pocos compuestos. En todos los casos, la síntesis de ATP está acoplada a las fosforilaciones a nivel del sustrato bien en la vía glucolítica o a partir de la hidrólisis de un intermediario con CoA (Tabla 21.1 y Figura 21.2). Comenzamos con los clostridios que fermentan azúcares (sacarolíticos).

Fermentación de azúcares por las especies de *Clostridium*

Numerosos clostridios fermentan azúcares, produciéndose ácido butírico como producto final principal. Algunas especies también producen por fermentación los productos neutros acetona y butanol. *Clostridium acetobutylicum* es un ejemplo clásico de este tipo de bacterias. Las etapas bioquímicas en la formación del ácido butírico y los productos neutros a partir de los azúcares se muestran en la **Figura 21.6.**

La glucosa se convierte en piruvato a través de la vía glucolítica, y el piruvato se escinde en acetil-CoA, CO_2 y H_2 (mediante la ferredoxina reducida) a través de la reacción fosforoclástica (Sección 21.1 y Figura 21.2). A continuación, parte del acetil-CoA se reduce a butirato u otros productos de fermentación mediante el NADH obtenido de las reacciones glucolíticas como donador de electrones. Los productos de fermentación observados están influidos por la duración y las condiciones de la fermentación. Durante las primeras etapas de la fermentación butírica se produce butirato y una pequeña cantidad de

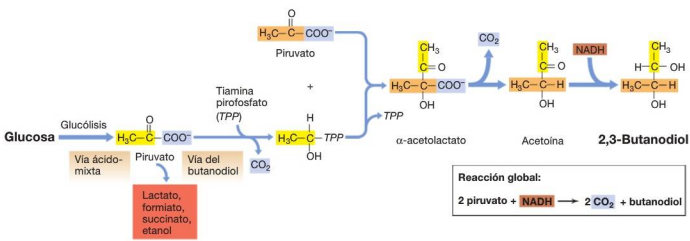


Figura 21.5 Producción de butanodiol en las fermentaciones ácido-mixtas. Vía para la formación del butanodiol a partir de dos moléculas de piruvato. Obsérvese cómo se necesitan 1 NADH y 2 piruvatos para fabricar 1 butanodiol.

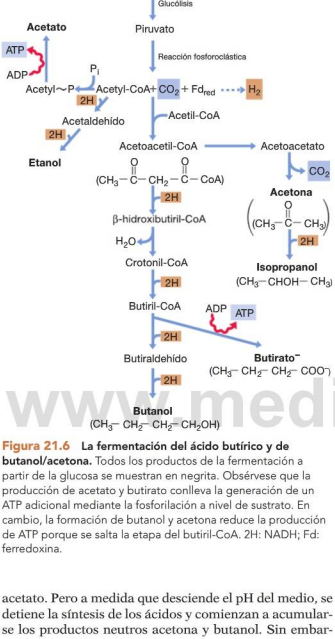


Figura 21.6 La fermentación del ácido butírico y de butanol/acetona. Todos los productos de la fermentación a partir de la glucosa se muestran en negrita. Obsérvese que la producción de acetato y butirato conlleva la generación de un ATP adicional mediante la fosforilación a nivel de sustrato. En cambio, la formación de butanol y acetona reduce la producción de ATP porque se salta la etapa del butiril-CoA. 2H: NADH; Fd: ferredoxina.

acetato. Pero a medida que desciende el pH del medio, se detiene la síntesis de los ácidos y comienzan a acumularse los productos neutros acetona y butanol. Sin embargo, si el pH del medio se mantiene neutro mediante tampones, se generan pocos productos neutros y la fermentación continúa principalmente sintetizando ácido butírico.

Producción de disolventes y consecuencias energéticas

El butanol y la acetona son los principales disolventes industriales, que actualmente se obtienen del petróleo. Cuando escaseó el petróleo durante la Primera Guerra Mundial, estos disolventes se fabricaron a partir de la fermentación del butanol utilizando *C. acetobutylicum*. La importancia histórica de *C. acetobutylicum* como un organismo modelo productor de disolventes ha conducido a secuenciar su genoma y, gracias a esto y a experimentos fisiológicos, sabemos mucho sobre la estrategia fermentativa de este organismo.

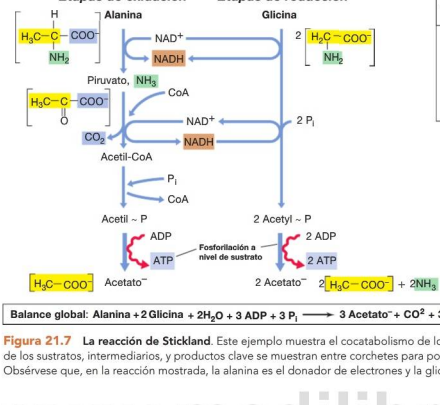
La acumulación de los productos ácidos en la fermentación de *C. acetobutylicum* disminuye el pH y esto desencadena la represión de los genes responsables de la producción de los disolventes. La producción de butanol es realmente una consecuencia de la producción de acetona. Por cada acetona que se fabrica, no se vuelven a oxidar los dos NADH producidos durante la glucólisis, como ocurriría si se produjera butirato (Figura 21.6). Dado que se necesita el equilibrio redox para proseguir cualquier fermentación, la célula utiliza butirato como aceptor de electrones. Por lo tanto, se producen butanol y acetona en cantidades iguales. Aunque la formación de los productos neutros ayuda a evitar que el organismo acidifique demasiado su ambiente, esto tiene un coste energético: la producción de butanol implica perder la capacidad de convertir el butiril-CoA en butirato y ATP (Figura 21.6).

Fermentación de aminoácidos por las especies de *Clostridium* y la reacción de Stickland

Algunas especies *Clostridium* consiguen energía al fermentar aminoácidos. Se trata de los clostridios «proteolíticos» que degradan proteínas, cuyos aminoácidos liberan y catabolizan posteriormente. Algunas especies fermentan aminoácidos individuales, normalmente glutamato, glicina, alanina, cisteína, histidina, serina o treonina. La bioquímica de estas fermentaciones es realmente compleja, pero la estrategia metabólica no. En prácticamente todos los casos, los aminoácidos se metabolizan para finalmente producir un acil-CoA derivado de ácidos grasos, típicamente acetilo (C_2), butirilo (C_4) o caproílo (C_6), produciéndose el ATP por la fosforilación a nivel del sustrato a partir de ellos (Tabla 21.1). Otros productos de la fermentación de aminoácidos son el NH_3 y el CO_2.

Algunos clostridios fermentan solamente un par de aminoácidos. En esta situación, un aminoácido funciona como el *donador* de electrones y se oxida, mientras que el otro es el *aceptor* de electrones y se reduce. Esta fermentación acoplada de aminoácidos se conoce como **reacción de Stickland**. Por ejemplo, *Clostridium sporogenes* cataboliza una mezcla de glicina y alanina; en esta reacción, la alanina es el donador de electrones y la glicina es el aceptor (**Figura 21.7**). En la Figura 21.7 se presentan los distintos aminoácidos que pueden funcionar como donadores o aceptores de electrones en las reacciones de Stickland. Los productos de la reacción de Stickland son NH_3, CO_2 y un ácido carboxílico con un carbono menos que el aminoácido que se oxidó (Figura 21.7).

Muchos de los productos de la fermentación de aminoácidos generados por los clostridios son sustancias de olor nauseabundo, por lo que el resultado de la actividad de los clostridios es el principal responsable del olor característico de la putrefacción. Además de los ácidos gra-



Aminoácidos que participan en fermentaciones acopladas (reacción de Stickland)

Aminoácidos oxidados:	Aminoácidos reducidos:
Alanina	Glicina
Leucina	Prolina
Isoleucina	Hidroxiprolina
Valina	Triptófano
Histidina	Arginina

Figura 21.7 **La reacción de Stickland**. Este ejemplo muestra el cocatabolismo de los aminoácidos alanina y glicina. Las estructuras de los sustratos, intermediarios, y productos clave se muestran entre corchetes para poder seguir el fundamento de la reacción. Obsérvese que, en la reacción mostrada, la alanina es el donador de electrones y la glicina es el aceptor de electrones.

www.medilibros.com

sos, otros compuestos olorosos producidos incluyen sulfuro de hidrógeno (H_2S), metilmercaptano (de aminoácidos azufrados), cadaverina (de la lisina), putrescina (de la ornitina) y amoníaco. Las purinas y las pirimidinas, liberadas de la degradación de los ácidos nucleicos, conducen esencialmente a los mismos productos de fermentación y generan ATP a partir de la hidrólisis de los distintos acil-CoA (Tabla 21.1) obtenidos en sus respectivas vías fermentativas.

Fermentación de *Clostridium kluyveri*

Otra especie de *Clostridium* también fermenta una mezcla de sustratos en los que uno es el donador y el otro es el aceptor, como en la reacción de Stickland, Sin embargo, *C. kluyveri* no fermenta aminoácidos sino el *etanol* más *acetato*, siendo el etanol el donador de electrones y el acetato el aceptor. La reacción es la fermentación de caproato/butirato mostrada en la Tabla 21.2.

La producción de ATP en la fermentación caproato/butirato es baja: 1 ATP por cada 6 etanoles fermentados. Sin embargo, *C. kluyveri* presenta una ventaja selectiva sobre todos los otros organismos por su exclusiva capacidad para oxidar un producto de fermentación muy reducido (etanol) y acoplarlo a la reducción de otro producto habitual de fermentación (acetato), reduciéndolo incluso a ácidos grasos de cadena más larga. El único ATP generado en esta reacción procede de la fosforilación a nivel del sustrato cuando el acil-CoA formado en esta vía se convierte en el ácido graso libre. La fermentación de *C. kluyveri* es un ejemplo de una **fermentación secundaria**, que es esencialmente una fermentación de productos de fermentación. Veremos otro ejemplo de esto a continuación.

Fermentación del ácido propiónico

La bacteria del ácido propiónico *Propionibacterium* y algunos procariotas relacionados producen *ácido propiónico* como principal producto de fermentación, comenzando con la glucosa o el lactato como sustrato. Sin embargo, el lactato, un producto de fermentación de las bacterias del ácido láctico, es probablemente el producto principal de las bacterias del ácido propiónico en la naturaleza, donde estos dos grupos conviven estrechamente. *Propionibacterium* es un componente importante en la maduración del queso suizo (Emmental), al que el ácido propiónico y el ácido acético producidos le confieren su exclusivo sabor amargo y picante, y el CO_2 generado forma burbujas que dejan los agujeros característicos de este queso.

La **Figura 21.8** muestra las reacciones que conducen del lactato al propionato. Cuando la glucosa es el sustrato de partida, primero se cataboliza a piruvato por la vía glucolítica y luego, el piruvato producido a partir de glucosa o de la oxidación del lactato, se carboxila para formar el metilmalonil-CoA, lo que conduce a la formación de oxaloacetato y, finalmente, propionil-CoA (Figura 21.8). Éste último reacciona con el succinato en una etapa catalizada por la enzima CoA-transferasa, que produce succinil-CoA y propionato. Esto hace perder la capacidad de producir ATP, pero evita los costes energéticos de

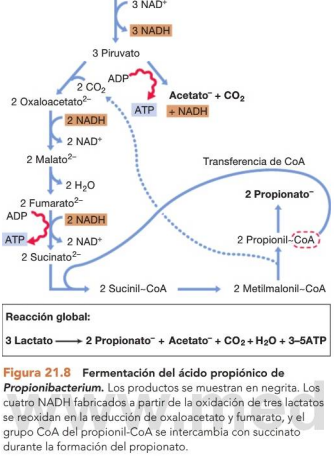


Figura 21.8 Fermentación del ácido propiónico de *Propionibacterium*. Los productos se muestran en negrita. Los cuatro NADH fabricados a partir de la oxidación de tres lactatos se reoxidan en la reducción de oxaloacetato y fumarato, y el grupo CoA del propionil-CoA se intercambia con succinato durante la formación del propionato.

tener que activar el succinato con ATP para formar succinil-CoA, el cual se isomeriza a metilmalonil-CoA, con lo que se completa el ciclo: se forma el propionato y se regenera el CO_2 (Figura 21.8).

El NADH se oxida en las etapas entre el oxaloacetato y el succinato. En particular, la reacción en la que el fumarato se reduce a succinato está acoplada al transporte de electrones y a la formación de una fuerza protonmotriz que produce ATP mediante la fosforilación oxidativa (Figura 21.8). La vía del propionato también convierte algo de lactato en acetato más CO_2, lo que permite sintetizar un ATP más (Figura 21.8). Por lo tanto, en el metabolismo de las bacterias del ácido propiónico intervienen tanto la fosforilación a nivel del sustrato como la fosforilación oxidativa.

El propionato también se forma en la fermentación del succinato por la bacteria *Propionigenium*, pero mediante un mecanismo completamente diferente al descrito aquí para *Propionibacterium*. *Propionigenium*, que se verá más adelante, no está relacionada ni desde el punto de vista filogenético ni ecológico con *Propionibacterium*, si bien los aspectos energéticos de su metabolismo resultan muy interesantes desde el punto de vista de la bioenergética.

21.3 Minirrevisión

Los clostridios fermentan azúcares, aminoácidos y otros compuestos orgánicos. *Propionibacterium* produce propionato y acetato en una fermentación secundaria del lactato.

- Compare el mecanismo de conservación de energía en *C. acetobutylicum* y *Propionibacterium*.
- ¿Cuáles son los sustratos de la fermentación de *C. kluyveri*?

21.4 Fermentaciones sin fosforilación a nivel del sustrato

La fermentación de algunos compuestos no produce energía suficientemente para sintetizar ATP mediante la fosforilación a nivel del sustrato (es decir, menos de −32 kJ, Tabla 21.1), aunque se mantenga la conservación de la energía que conduce a la síntesis de ATP. En estos casos, el catabolismo del compuesto está unido a bombas de iones que establecen una fuerza protonmotriz o una fuerza sodiomotriz a través de la membrana citoplasmática. La fermentación del succinato, un ácido dicarboxílico C_4 intermediario del ciclo del ácido cítrico, por *Propionigenium modestum*, y la del oxalato, un ácido dicarboxílico C_2, por *Oxalobacter formigenes*, son ejemplos de este tipo de reacciones.

Propionigenium modestum

Propionigenium modestum se aisló inicialmente de cultivos enriquecidos anóxicos que carecen de aceptores de electrones y se alimentaron con succinato como donador de electrones. *Propionigenium* habita en sedimentos marinos y de agua dulce, y también se puede encontrar en la cavidad oral humana. El organismo es un pequeño bacilo gramnegativo y, filogenéticamente, es una especie de actinobacteria (Sección 16.4). Durante los estudios de la fisiología de *P. modestum* se demostró que catabolizaba succinato en condiciones estrictamente anóxicas:

$$\text{Succinato}^{2-} + H_2O \rightarrow \text{propionato}^- + HCO_3^-$$
$$\Delta G^{0\prime} = -20{,}5 \text{ kJ}$$

Esta reacción no produce suficiente energía libre para acoplarse directamente a la síntesis de ATP por fosforilación a nivel del sustrato (Tabla 21.1) pero, sin embargo, sirve para que crezca el microorganismo. La conservación de energía en *Propionigenium* está ligada a la descarboxilación del succinato en propionato mediante una descarboxilasa unida a la membrana. Esta reacción libera suficiente energía libre para impulsar la salida de un ion de sodio (Na^+) a través de la membrana citoplasmática, lo que establece una fuerza protonmotriz. Una ATPasa transportadora de sodio utiliza la fuerza sodiomotriz para impulsar la síntesis de ATP (**Figura 21.9a**).

En una reacción parecida, *Malonomonas* (una deltaproteobacteria, Secciones 15.17 y 15.18) descarboxila el

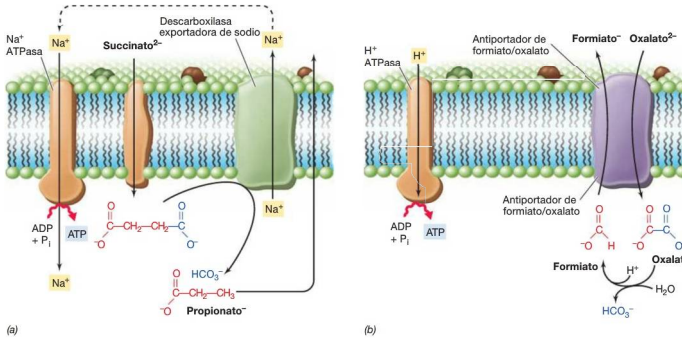


Figura 21.9 Fermentaciones exclusivas de succinato y oxalato. (a) Fermentación de succinato por *Propionigenium modestum*. La exportación del sodio está acoplada a la energía liberada por la descarboxilación del succinato y una ATPasa transportadora de sodio que produce ATP. (b) Fermentación de oxalato por *Oxalobacter formigenes*. La entrada de oxalato y la salida de formiato a través de un antiportador formiato-oxalato consume protones citoplásmicos. La síntesis de ATP está acoplada a una ATPasa impulsada por protones. Todos los sustratos y productos se muestran en negrita.

www.medilibros.com

malonato, un ácido dicarboxílico C_3, y forma acetato más CO_2. Al igual que para *Propionigenium*, el metabolismo energético en *Malonomonas* está acoplado a una bomba de sodio y a una ATPasa impulsada por sodio. Sin embargo, el mecanismo de la descarboxilación del malonato es más complejo que el de *Propionigenium* y utiliza muchas más proteínas. Sin embargo, resulta interesante que el rendimiento energético de la fermentación del malonato por *Malonomonas* sea incluso menor que el de *P. modestum*: −17,4 kJ por malonato oxidado. *Sporomusa*, una bacteria formadora de endosporas (Sección 16.2) y también un acetogénico (Sección 21.9), así como otras pocas bacterias, también son igualmente capaces de fermentar el malonato.

Oxalobacter formigenes

Oxalobacter formigenes es una bacteria presente en el tubo digestivo de los animales, incluidos los humanos. Cataboliza el oxalato y produce formiato. Se piensa que la degradación del oxalato por *O. formigenes* es importante en los humanos para prevenir la acumulación de oxalato en el cuerpo, una sustancia que puede desencadenar la formación de cálculos renales de oxalato de calcio. Al igual que *P. modestum*, *O. formigenes* es un anaerobio estricto gramnegativo que pertenece a las betaproteobacterias. *O. formigenes* realiza la reacción siguiente:

$$\text{Oxalato}^{2-} + H_2O \rightarrow \text{formiato}^- + HCO_3^-$$

$$\Delta G^{0\prime} = -26{,}7 \text{ kJ}$$

Al igual que en el catabolismo del succinato por *P. modestum*, con esta reacción se libera poca energía, insuficiente para impulsar la síntesis de ATP por fosforilación a nivel del sustrato (Tabla 21.1). Sin embargo, la reacción permite el crecimiento del organismo porque la descarboxilación del oxalato es exergónica y genera formiato, que se excreta de la célula. El consumo interno de los protones durante la oxidación del oxalato y la producción de formiato es, en efecto, una bomba de protones. Es decir, una molécula divalente (oxalato) entra en la célula mientras sale una molécula monovalente (formiato). El intercambio continuo de oxalato por formiato establece un potencial de membrana que está acoplado a la síntesis de ATP mediante la ATPasa transportadora de protones en la membrana (Figura 21.9*b*).

Energética de *P. modestum* y *O. formigenes*

La singularidad de las fermentaciones de *Propionigenium*, *Malonomonas* y *Oxalobacter* reside en que la síntesis de ATP se produce sin la fosforilación a nivel del sustrato *o* el transporte de electrones. Sin embargo, se puede sintetizar ATP porque la pequeña cantidad de energía liberada se puede acoplar al bombeo de iones a través de la membrana. Por lo tanto, estos organismos nos enseñan una lección importante sobre la bioenergética microbiana: no hay que descartar ninguna reacción que produzca menos de los 32 kJ necesarios (en condiciones estándares) para fabricar un ATP (Tabla 21.1) porque se crea que no va a permitir el crecimiento de una bacteria. Si la

reacción se puede acoplar a una bomba de iones, sigue siendo posible la síntesis de ATP.

Un requisito mínimo para una reacción conservadora de energía consiste en que debe producir suficiente energía libre para bombear un único ion a través de la membrana, lo que se estima que cuesta unos 15 kJ. Las reacciones que producen menos de 15 kJ, en teoría, no pueden alimentar las bombas de iones y, por lo tanto, no deberían ser posibles reacciones conservadoras de energía. Sin embargo, como veremos en el próximo apartado, se conocen ejemplos que hacen disminuir más este límite teórico y cuya energética todavía no se comprenden bien: se trata de los sintróficos, procariotas que viven al borde energético de la vida.

21.4 Minirrevisión

La fisiología de *Propionigenium*, *Oxalobacter* y *Malonomonas* está ligada a las reacciones de descarboxilación que bombean iones de sodio o protones a través de la membrana. Las reacciones catalizadas por estos organismos no producen suficiente energía para fabricar ATP por fosforilación a nivel del sustrato.

- ¿Por qué se requiere sodio para el crecimiento de *P. modestum*?
- ¿En qué sentido puede ser beneficioso *Oxalobacter* para los humanos?

21.5 Sintrofismo

En la microbiología, existen numerosos ejemplos de **sintrofismo,** una situación en la que dos organismos diferentes se unen para degradar una sustancia —y conservar energía al hacerlo— que no podrían degradar por separado. La mayor parte de las reacciones sintróficas son fermentaciones secundarias (Sección 21.3), en las que los organismos fermentan los productos de fermentación de otros anaerobios. Veremos en la Sección 24.2 cómo la sintrofia es una clave para el catabolismo anóxico que conduce a la producción de metano. En esta sección trataremos la microbiología y los aspectos energéticos del sintrofismo.

Consumo de hidrógeno en las reacciones sintróficas

El centro de la mayor parte de la reacción sintrófica es la producción del H_2 por un miembro de la relación sintrófica ligado al consumo de H_2 por el otro. El consumidor de H_2 puede ser cualquiera entre una serie de organismos fisiológicamente diferentes: bacterias desnitrificantes, bacterias reductoras de hierro ferroso, bacterias reductoras de sulfato, acetogénicas, metanogénicas o incluso bacterias fotótrofas anoxigénicas. Estos tipos de reacciones sintróficas también se podrían denominar de *transferencia interespecífica de* H_2 para resaltar el hecho de que el metabolismo del H_2 es la clave de todo el proceso.

Considérese que el sintrofismo implica la fermentación de etanol a acetato con la producción final de metano (**Figura 21.10**). Como hemos visto, el fermentador de etanol realiza una reacción que tiene un cambio de energía libre estándar desfavorable (es decir, positivo) ($\Delta G^{0'}$). Sin embargo, el H_2 producido por el fermentador de etanol se puede utilizar como donador de electrones para la metanogenesis en un microorganismo metanógeno. Cuando se suman las dos reacciones, la reacción global es exergónica (Figura 21.10) y suministra la energía necesaria para que crezcan ambos miembros en la mezcla sintrófica.

Otro ejemplo de sintrofismo consiste en la oxidación del butirato a acetato más H_2 por el sintrófico oxidador de ácidos grasos *Syntrophomonas* (**Figura 21.11**):

$$\text{Butirato}^- + 2H_2O \rightarrow 2 \text{ acetato}^- + H^+ + 2\ H_2$$

$$\Delta G^{0\prime} = +48{,}2 \text{ kJ}$$

El cambio de energía libre de esta reacción es muy desfavorable y *Syntrophomonas* no crecerá sobre butirato en un cultivo axénico. Pero si el H_2 lo consume el organismo asociado, *Syntrophomonas* crecerá sobre butirato en cocultivo con el consumidor del H_2. ¿Cómo se puede mantener el crecimiento de un organismo mediante reacciones químicas que producen energía libre positiva? La respuesta es que el H_2 debe mantenerse a una presión parcial muy baja para que la reacción sea exergónica. Esto se consigue mediante la relación sintrófica con el consumidor de H_2.

www.medilibros.com

Fermentación de etanol:

$2CH_3CH_2OH + 2\ H_2O \rightarrow 4H_2 + 2CH_3COO^- + 2H^+$

$\Delta G^0\Delta = +19{,}4$ kJ/reacción

Metanogenia:

$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$

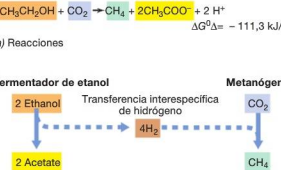
$\Delta G^0\Delta = -130{,}7$ kJ/reacción

Reacción acoplada:

$2CH_3CH_2OH + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2CH_3COO^- + 2\ H^+$

$\Delta G^0\Delta = -111{,}3$ kJ/reacción

(a) Reacciones



(b) Transferencia sintrófica de H_2

Figura 21.10 Sintrofismo: transferencia interespecífica del H_2. Se muestra la fermentación del etanol a metanol y acetato mediante la relación sintrófica de una bacteria oxidadora de etanol y una bacteria asociada consumidora de H_2 (metanógena). (a) Reacciones implicadas. De esta manera, los dos organismos comparten la energía liberada en la reacción acoplada. (b) Naturaleza de la transferencia sintrófica de H_2.

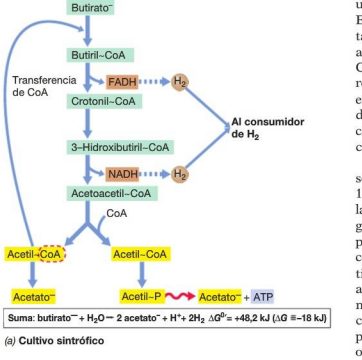


Figura 21.11 Energética de crecimiento de *Syntrophomonas* en cultivo sintrófico y en cultivo puro. (*a*) En el cultivo sintrófico, el crecimiento requiere la presencia de un organismo consumidor de H_2, como un metanógeno. La producción de H_2 está impulsada por el flujo inverso de electrones porque los E'_0 de los pares FAD/FADH y NAD^+/NADH son más electropositivos que el de 2 H^+/H_2. (*b*) En el cultivo puro, la conservación de la energía está ligada a la respiración anaerobia con la reducción del crotonato a butirato.

cas cuyos cambios de energía libre estándares son positivos? Examinaremos este rompecabezas a continuación.

Energética de la transferencia del H_2

En una relación sintrófica, la retirada del H_2 por el organismo asociado altera la energética de la reacción y, dado que el H_2 se puede consumir en tan poca cantidad, los cálculos energéticos necesitan tener en cuenta estos niveles tan bajos de H_2. Una revisión de los principios de energía libre que aparecen en el Apéndice 1 indica que la concentración real de los reactantes y los productos en una reacción puede cambiar radicalmente la energética. En muchas reacciones no se trata de una cuestión importante porque los productos se eliminan en cantidades aproximadamente iguales, aunque no es el caso del H_2. Como es un donador de electrones tan potente para las respiraciones anaerobias, el H_2 se consume rápidamente en los hábitats anóxicos, con lo que el H_2 se mantiene por debajo de 10^{-4} atm (Tabla 24.2). A estas concentraciones casi inexistentes de H_2, los cálculos energéticos se ven considerablemente afectados.

Por conveniencia, la $\Delta G^{0\prime}$ de una reacción se calcula sobre la base de condiciones estándares: concentración a 1 M de productos y reactantes. En cambio, el término relacionado ΔG se utiliza para calcular los cambios de energía libre sobre la base de las concentraciones reales de productos y reactantes presentes (el apéndice 1 explica cómo calcular ΔG). A niveles muy bajos de H_2, la energética de la oxidación del etanol o de los ácidos grasos a acetato más H_2, una reacción endergónica en condiciones estándares, se vuelve exergónica. Por ejemplo, si la concentración de H_2 se mantiene extremadamente baja para el consumo por el organismo asociado, la ΔG para la oxidación del butirato por *Syntrophomonas* produce aproximadamente −18 kJ/mol (Figura 21.11*a*).

Energética en los sintróficos

Probablemente, la síntesis de ATP en los sintróficos se produce por fosforilaciones oxidativas y a nivel del sustrato. La fosforilación a nivel del sustrato se puede producir teóricamente durante la conversión de acetil-CoA (generada por la β-oxidación del etanol o del ácido graso) a acetato (Figura 21.11*a*), aunque los −18 kJ de energía liberados (ΔG) no son suficientes para esto. Sin embargo, la energía liberada es suficiente para producir una fracción de un ATP, por lo que es posible que se necesiten dos ciclos de oxidación de butirato (Figura 21.11*a*) para producir un ATP mediante la fosforilación a nivel del sustrato.

Syntrophomonas tiene también otras capacidades metabólicas, ya que el organismo es capaz de respirar de forma anaerobia (Sección 21.6) por la dismutación de ácidos grasos insaturados. (La dismutación es un proceso por el que algunas moléculas de un sustrato se oxidan mientras que otras se reducen). Por ejemplo, el crotonato, un intermediario en el metabolismo sintrófico del butirato (Figura 21.11*a*) permite el crecimiento de *Syntrophomonas* en un cultivo axénico. En estas condiciones, parte del crotonato se oxida a acetato y parte se reduce a butirato (Figura 21.11*b*). Ya que la reducción de crotonato por *Syntrophomonas* está acoplada a la formación de una fuerza protonmotriz, como ocurre en otras respiraciones anaerobias que utilizan aceptores de electrones orgánicos (como la reducción del fumarato a succinato, Sección 21.12), es posible que en algún lugar durante el metabolismo sintrófico (Figura 21.11*a*) también se acople una reacción a la formación de una fuerza protonmotriz.

Independientemente de cómo se obtiene el ATP durante el crecimiento sintrófico, existen cargas energéti-

www.medil

cas adicionales para los organismos en este modo de crecimiento porque el H_2 ($E'_0 = -0{,}42$ V) se produce a partir de donadores de electrones más electropositivos, tales como FADH ($E'_0 = -0{,}22$ V) y NADH ($E'_0 = -0{,}32$ V), que se generan durante las reacciones de oxidación de los ácidos grasos (Figura 21.11*a*). Por lo tanto, parte de la fracción de ATP generada por *Syntrophomonas* durante el crecimiento sintrófico se debe consumir para impulsar las reacciones del flujo inverso de electrones (Sección 20.4) que producen el H_2 para el consumidor de hidrógeno. Cuando esta fuga de energía se suma a los malos rendimientos energéticos inherentes a las reacciones sintróficas, está claro que las bacterias sintróficas oxidadoras de alcohol y de ácidos grasos viven en el «borde de la existencia» desde el punto de vista del balance bioenergético global. Todavía hoy, estos organismos siguen desafiando nuestra comprensión acerca de los requisitos mínimos para la conservación energética en las bacterias.

Ecología de los sintróficos

Ecológicamente, las bacterias sintróficas son conexiones clave en las porciones anóxicas del ciclo del carbono. Los sintróficos utilizan los productos de la fermentación de los fermentadores primarios y liberan un producto clave para los metanogénicos, acetogénicos y otros consumidores de H_2. Sin los síntrofos, se generaría un cuello de botella en los ambientes anóxicos en los que los aceptores de electrones alternativos al CO_2 fueran escasos. En cambio, cuando las condiciones son óxicas o abundan los aceptores de electrones alternativos, no se necesitan las relaciones sintróficas. Por ejemplo, si estuvieran disponibles el O_2 o el NO_3^- como aceptores de electrones, la energética de la oxidación ácido graso o un alcohol es tan favorable que no son necesarias las disposiciones cooperativas con otros organismos para la degradación de estos sustratos. Por lo tanto, el sintrofismo es característico de los procesos anóxicos en los que 1) la energía disponible es muy pequeña, 2) uno o más productos se elimina continuamente y 3) los organismos están muy especializados para explotar energéticamente las reacciones marginales.

9.10 Minirrevisión

En el sintrofismo, dos organismos degradan juntos algún compuesto que ninguno podría degradar por separado. En este proceso, el H_2 producido por un organismo lo consume su compañero. El consumo de H_2 puede afectar la energética de la reacción realizada por el productor de H_2, lo que permite generar ATP donde de otro modo sería imposible.

- Dé un ejemplo de transferencia interespecífica de H_2. En este ejemplo, ¿por qué se puede decir que se benefician ambos organismos?
- Prediga cómo se fabrica ATP durante la degradación sintrófica del etanol mostrada en la Figura 21.10.

II RESPIRACIÓN ANAEROBIA

En las siguientes secciones, revisaremos la respiración anaerobia así como los procesos relacionados y veremos los diversos modos mediante los cuales los procariotas conservan la energía utilizando aceptores de electrones *diferentes* al O_2.

21.6 Respiración anaerobia: principios generales

En el capítulo 5 examinamos el proceso de la respiración *aerobia* en detalle. Como ya se indicó, el oxígeno molecular (O_2) funciona como un aceptor terminal de electrones, aceptando electrones a través de transportadores de electrones mediante la cadena de transporte de electrones. Sin embargo, también se indicó que se podían utilizar otros aceptores de electrones distintos del O_2, en cuyo caso el proceso se llama **respiración anaerobia**. Aquí se verán algunos de estos procesos.

Las bacterias que realizan la respiración anaerobia emplean sistemas de transporte de electrones con citocromos, quinonas, ferrosulfoproteínas y otras proteínas típicas del transporte de electrones. Por lo tanto, sus sistemas respiratorios son similares a los de los aerobios. En algunos organismos, como las bacterias desnitrificantes, que son en su mayor parte aerobios facultativos, la respiración anaerobia compite con la respiración aerobia. En tales casos, si el O_2 está presente, las bacterias respiran de forma aerobia, y los genes que codifican los procesos anaerobios están reprimidos. Sin embargo, cuando se agota el O_2 del ambiente, las bacterias respiran de forma anaerobia y se reduce el aceptor de electrones alternativo. Otros organismos que realizan la respiración anaerobia son anaerobios estrictos y son incapaces de utilizar el O_2.

Aceptores de electrones alternativos y la torre redox

La energía liberada por la oxidación de un donador de electrones utilizando O_2 como aceptador de electrones es mayor que si el mismo compuesto se oxidara con un aceptor de electrones alternativo (Figura 5.10). Estas diferencias de energía son claras si se examinan los potenciales de reducción de cada aceptor (**Figura 21.12**). Dado que el par O_2/H_2O es el más electropositivo, se generará más energía con O_2 que con otro aceptor de electrones. Otros aceptores de electrones que están cerca del par O_2/H_2O son Fe^{3+}, NO_3^- y NO_2^-. Entre los aceptores más electronegativos encontramos SO_4^{2-}, S^0 y CO_2. En la Figura 21.12 se encuentra un resumen de los tipos de respiración anaerobia más frecuentes.

Metabolismo asimilador y desasimilador

Muchos organismos reducen compuestos inorgánicos tales como NO_3^-, SO_4^{2-} y CO_2 para obtener fuentes del ni-

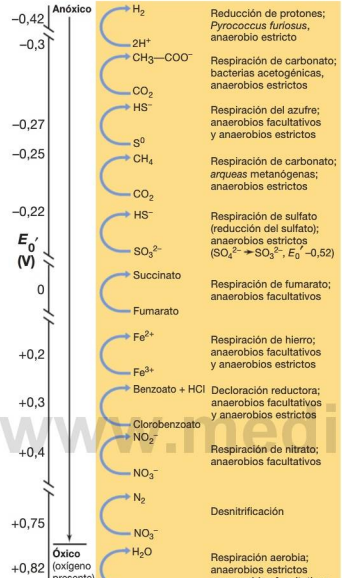


Figura 21.12 Formas principales de respiración anaerobia. Los pares redox están ordenados desde el E_0' más electronegativo (arriba) hasta el E_0' más electropositivo (abajo). *Véase* la Figura 5.10 para comparar cómo varían los rendimientos energéticos de estas respiraciones anaerobias.

trógeno, azufre y carbono celular, respectivamente. Los productos finales de tales reducciones son principalmente grupos amino (—NH_2), grupos sulfhidrilo (—SH) y compuestos carbonados orgánicos, respectivamente. Cuando se reduce un compuesto inorgánico como el NO_3^-, SO_4^{2-} o CO_2 para utilizarlo en la biosíntesis, se dice que se *asimila* y el proceso de reducción se denomina metabolismo *asimilador*. El metabolismo asimilador de NO_3^-, SO_4^{2-} y CO_2 se diferencia conceptual y fisiológicamente bastante de la reducción de estos aceptores de electrones para el metabolismo energético de la respiración anaerobia. Para distinguir estas dos clases de procesos reductores, la utilización de estos compuestos como aceptores de electrones en el metabolismo energético se llama metabolismo *desasimilador*.

Los metabolismos asimilador y desasimilador difieren notablemente. En el metabolismo asimilador, sólo se reduce una cantidad suficiente del compuesto (NO_3^-, SO_4^{2-} o CO_2) para satisfacer las necesidades biosintéticas. Finalmente, los productos se convierten en material celular en forma de macromoléculas. En el metabolismo desasimilador se reduce una gran cantidad del aceptor de electrones y el producto reducido se excreta al ambiente. Muchos organismos llevan a cabo un metabolismo asimilador de compuestos como NO_3^-, SO_4^{2-} y CO_2, mientras que sólo unos pocos organismos, principalmente procariotas, realizan el metabolismo desasimilador. Más adelante volveremos sobre esto.

21.6 Minirrevisión

Aunque el oxígeno es el aceptor de electrones más utilizado en el metabolismo productor de energía, se pueden utilizar otros compuestos como aceptores de electrones. La respiración anaerobia es menos eficaz en términos energéticos que la respiración aerobia pero puede realizarse en ambientes donde el oxígeno está ausente.

- ¿Qué es la respiración anaerobia?
- Con el H_2 como donador de electrones, ¿por qué la reducción de NO_3^- es una reacción más favorable que la reducción de $S^{0\prime}$ (Ayúdese con la Figura 5.10).

21.7 Reducción del nitrato y desnitrificación

Los compuestos nitrogenados inorgánicos son algunos de los aceptores de electrones más frecuentes en la respiración anaerobia. La **Tabla 21.4** resume las diferentes formas de nitrógeno inorgánico con sus estados de oxidación. Uno de los aceptores de electrones alternativo más

Tabla 21.4 Estados de oxidación de los compuestos nitrogenados clave

Compuesto	*Estado de oxidación del átomo N*
N orgánico (—NH_2)	−3
Amoníaco (NH_3)	−3
Nitrógeno gaseoso (N_2)	0
Óxido nitroso (N_2O)	+1 (promedio por N)
Óxido de nitrógeno (NO)	+2
Nitrito (NO_2^-)	+3
Dióxido de nitrógeno (NO_2)	+4
Nitrato (NO_3^-)	+5

www.medilibros.com

habitual es el nitrato, NO_3^-, que se puede reducir a N_2O, NO y N_2. Como todos estos productos de reducción del nitrato son gaseosos, se pueden perder con facilidad del ambiente en un proceso que se denomina **desnitrificación** (Figura 21.13).

La desnitrificación es el principal proceso por el cual se forma N_2 gaseoso biológicamente. El N_2 es una fuente de nitrógeno mucho peor que el nitrato para las plantas y los microorganismos, por lo que la desnitrificación es un proceso perjudicial al menos en agricultura. Sin embargo, es beneficiosa para el tratamiento de las aguas residuales (Sección 36.2) porque convierte el NO_3^- a N_2, y se disminuye la carga de nitrógeno fijado en los vertidos de las aguas residuales tratadas que de otra forma estimularía el crecimiento de algas en las aguas receptoras (Sección 23.6).

Bioquímica de la reducción desasimiladora del nitrato

La enzima que inicia la reducción desasimiladora del nitrato, la nitrato-reductasa, es una enzima de membrana que contiene molibdeno cuya síntesis está reprimida por el oxígeno molecular. Todas las enzimas posteriores de la vía (Figura 21.14) están reguladas coordinadamente y, por lo tanto, también se reprimen por el O_2. Pero, además de las condiciones anóxicas, el nitrato también debe estar presente antes de que estas enzimas se hayan expresado totalmente.

El primer producto de la reducción del nitrato es el nitrito (NO_2^-), y la enzima nitrito-reductasa lo reduce a óxido nítrico (NO) (Figura 21.14*c*). Algunos organismos pueden reducir el NO_2^- a amoníaco (NH_3) en un proceso desasimilador, pero la formación de gases (desnitrificación) es lo que tiene más importancia globalmente porque consume una forma fijada de nitrógeno (NO_3^-) y produce compuestos nitrogenados gaseosos, algunos de los cuales tiene importancia medioambiental. Por ejemplo, el N_2O se puede convertir en NO por acción de la luz solar y el NO reacciona con el ozono (O_3) en las capas superiores de la atmósfera para dar nitrito (NO_2^-) que regresa a la Tierra como lluvia ácida (ácido nitroso, HNO_2). Las demás etapas bioquímicas en la desnitrificación se muestran en la Figura 21.15*c*.

La bioquímica de la reducción desasimiladora del nitrato se ha estudiado en detalle en varios organismos, incluido *Escherichia coli*, en el que el NO_3^- sólo se reduce a NO_2^-, y *Paracoccus denitrificans* y *Pseudomonas stutzeri*, en los que se produce la desnitrificación. La nitrato-reductasa de *E. coli* acepta electrones de un citocromo de tipo *b*. En la Figura 21.14*a,b* se comparan las cadenas del transporte de electrones de *E. coli* en las células aerobias frente a células que respiran nitrato.

Debido al potencial de reducción del par NO_3^-/NO_2^- (+0,43 V), sólo se producen dos etapas de transporte de protones durante la reducción del nitrato, mientras que se bombean tres protones en la respiración aerobia ($\frac{1}{2}$ O_2/H_2O, +0,82 V). En *P. denitrificans* y *P. stutzeri*, los óxidos del nitrógeno se forman a partir de nitrito por las enzimas nitrito-reductasa, óxido-nítrico-reductasa y óxido-nitroso-reductasa, como se resume en la Figura 21.14*c*. Durante el transporte de electrones se establece una fuerza protonmotriz, y la ATPasa funciona generando ATP de la forma usual. Se genera más ATP cuando el NO_3^- se reduce a N_2 porque la NO-reductasa está acoplada a la extrusión de los protones (Figura 21.14*c*). **www.microbiologyplace.com. Tutorial online 21.1: Procesos del transporte de electrones en condiciones aerobias y anaerobias.**

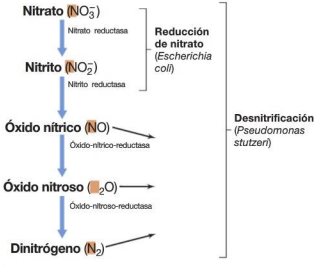


Figura 21.13 Etapas en la reducción desasimiladora de nitrato. Algunos organismos realizan sólo la primera etapa. Todas las enzimas implicadas dejan de estar reprimidas en condiciones anóxicas, También se sabe que algunos procariotas reducen NO_3^- a NH_4^+ en el metabolismo desasimilador.

Otras propiedades de los procariotas desnitrificantes

La mayor parte de los procariotas desnitrificantes son miembros, filogenéticamente, de las proteobacterias (Capítulo 15) y, fisiológicamente, son anaerobios facultativos. La respiración aerobia se produce cuando hay aire, incluso aunque también haya nitrato en el medio. Muchas bacterias desnitrificantes reducen también otros aceptores de electrones de forma anaerobia, como el hierro férrico (Fe^{3+}) y algunos aceptores de electrones orgánicos (Sección 21.12). Además, algunas bacterias desnitrificantes crecen por fermentación, de modo que las bacterias desnitrificantes presentan una gran diversidad metabólica en relación con los mecanismos alternativos de generación de energía. Resulta interesante que se haya demostrado que existe al menos un eucariota desnitrificante. El protista *Globobulimina pseudospinescens*, una ameba con teca o concha (foraminíferos, Sección 18.11), es capaz de desnitrificar y probablemente emplea esta forma de metabolismo para sobrevivir en este hábitat de sedimentos marinos anóxicos.

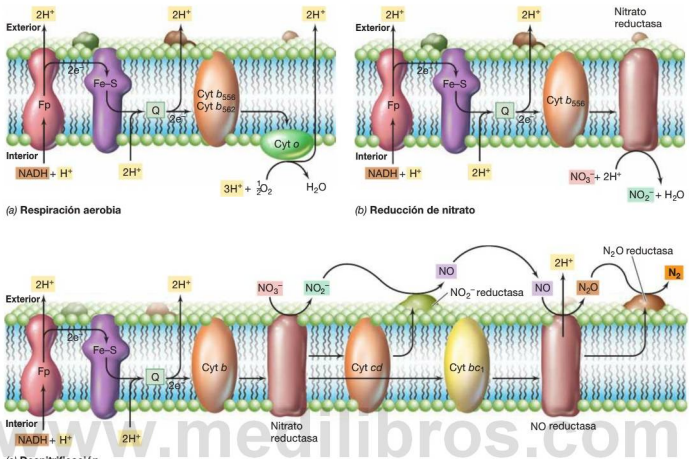


Figura 21.14 **Respiración y respiración anaerobia**. Los procesos del transporte de electrones en la membrana de *Escherichia coli* cuando se utiliza (a) O_2 o (b) NO_3^- como aceptor de electrones y NADH como donador de electrones. Fp: flavoproteína; Q: ubiquinona. En condiciones de abundante oxígeno, la secuencia de los transportadores es Cyt $b_{562} \rightarrow$ Cyt $o \rightarrow O_2$. Sin embargo, cuando escasea el oxígeno (no se muestra), la secuencia es Cyt $b_{556} \rightarrow$ Cyt $d \rightarrow O_2$. Obsérvese que se transportan más protones por cada dos electrones oxidados aerobiamente que anaerobiamente durante las reacciones del transporte de electrones cuando el nitrato es el aceptor de electrones porque la oxidasa terminal aerobia (Cyt *o*) bombea un protón. (c) Esquema del transporte de electrones en las membranas de *Pseudomonas stutzeri* durante la desnitrificación. La nitrato-reductasa y la óxido nítrico (NO)-reductasa son proteínas integrales de la membrana, mientras que la nitrito (NO_2^-)-reductasa y la óxido nitroso (N_2O)-reductasa son enzimas periplásmicas.

www.medilibros.com

21.7 Minirevisión

El nitrato es un aceptor de electrones muy utilizado en la respiración anaerobia. Su reducción la cataliza la enzima nitrato-reductasa, que reduce el nitrato a nitrito. Muchas bacterias que utilizan nitrato en la respiración anaerobia acaban produciendo N_2, un proceso denominado *desnitrificación*.

- En *Escherichia coli*, ¿por qué se libera más energía en la respiración aerobia que durante la reducción de NO_3^-?
- ¿Dónde se localiza en la célula la nitrato-reductasa desasimiladora? ¿Qué metal, poco frecuente, contiene?
- ¿Por qué *Pseudomonas stutzeri* obtiene más energía de la respiración del NO_3^- que *Escherichia coli*?

21.8 Reducción del sulfato y del azufre

Varios compuestos azufrados inorgánicos son aceptores de electrones importantes en la respiración anaerobia. En la **Tabla 21.5** se ofrece un resumen de los estados de oxidación de los compuestos azufrados clave. El sulfato, la forma más oxidada del azufre, es uno de los aniones mayoritarios en el agua del mar y lo reducen las bacterias reductoras de sulfato, un grupo ampliamente distribuido en la naturaleza. El producto final de la reducción del sulfato es el sulfuro de hidrógeno (H_2S), un compuesto natural importante que participa en muchos procesos bioquímicos (Sección 24.4). La reducción del sulfato se ha estudiado con profusión en las especies en el género *Desulfovibrio*.

Tabla 21.5 Compuestos azufrados y donadores de electrones para la reducción del sulfato

Compuesto	*Estado de oxidación del átomo S*
Estados de oxidación de los compuestos azufrados clave	
S orgánico (R—SH)	−2
Sulfuro (H_2S)	−2
Azufre elemental (S^0)	0
Tiosulfato ($S_2O_3^{2-}$)	+2 (promedio por S)
Dióxido de azufre (SO_2)	+4
Sulfito (SO_3^{2-})	+4
Sulfato(SO_4^{2-})	+6
Algunos donadores de electrones utilizados para la reducción del sulfato	
H_2	Acetato
Lactato	Propionato
Piruvato	Butirato
Etanol y otros alcoholes	Ácidos grasos de cadena larga
Fumarato	Benzoato
Malato	Indol
Colina	Varios hidrocarburos

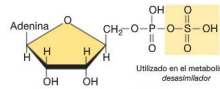
Reducción asimiladora y desasimiladora del sulfato

Al igual que con el nitrógeno, hay que distinguir entre el metabolismo asimilador y el desasimilador. Muchos organismos, entre ellos plantas, algas, hongos, y la mayor parte de los procariotas, utilizan el sulfato como fuente de azufre para las necesidades biosintéticas. Sin embargo, la capacidad de utilizar el sulfato como aceptor de electrones para los procesos que generan de energía implica la reducción a gran escala del SO_4^{2-} y se limita a las bacterias reductoras de sulfato. En la reducción asimiladora de sulfato, el H_2S formado se convierte inmediatamente en azufre orgánico en forma de aminoácidos y otros compuestos azufrados orgánicos, pero en la reducción desasimiladora del sulfato se excreta H_2S.

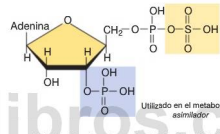
Bioquímica y energética de la reducción del sulfato

Tal y como muestran los potenciales de reducción en la Tabla A1.2 y la Figura 21.12, el sulfato es un aceptor de electrones mucho menos favorable que el O_2 o el NO_3^-. Sin embargo, cuando se oxida un donador de electrones que produce NADH o FADH, se genera suficiente energía libre para sintetizar ATP a partir de la reducción del sulfato. La Tabla 21.5 contiene algunos de los donadores de electrones utilizados por las bacterias reductoras de sulfato. El H_2, el lactato y el piruvato se utilizan con frecuencia en las bacterias reductoras de sulfato, mientras que los otros tienen un uso más restringido. Se conocen muchos tipos morfológicos y fisiológicos de bacterias reductoras de sulfato y, con la excepción de *Archaeoglobus* (Sección 17.7), una especie de arquea, todos los reductores de sulfato conocidos pertenecen al dominio bacterias (Sección 15.18).

La reducción del SO_4^{2-} a H_2S requiere ocho electrones (Tabla 21.5) y transcurre a través de una serie de etapas intermedias. El sulfato es muy estable desde el punto de vista químico y no se puede reducir si no se ha activado antes con ATP. La enzima ATP-sulfurilasa cataliza la unión del ion del sulfato a un fosfato del ATP, lo que conduce a la formación de *adenosina fosfosulfato* (APS), como se muestra en la **Figura 21.15**. En la reducción des-

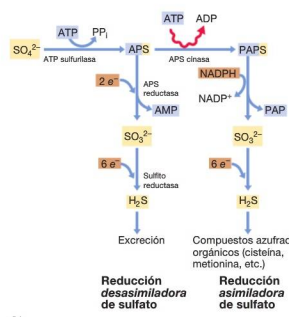


APS (Adenosina 5′-fosfosulfato)



PAPS (Fosfoadenosina 5′-fosfosulfato)

(a)



(b)

Figura 21.15 Bioquímica de la reducción del sulfato: sulfato activado. (a) Se pueden sintetizar dos formas de sulfato activo: adenosina-5′-fosfosulfato (APS) y fosfoadenosina-5′-fosfosulfato (PAPS). Ambos se obtienen de la adenosina-difosfato (ADP) al reemplazar el segundo fosfato del ADP por sulfato. (b) Esquemas de la reducción asimiladora y desasimiladora del sulfato.

www.medilibros.com

asimiladora de sulfato, el sulfato de la APS se reduce directamente a sulfito (SO_3^{2-}) por la enzima APS-reductasa con la liberación de AMP. En la reducción asimiladora, se añade otro fosfato a la APS para formar *fosfoadenosina fosfosulfato* (PAPS) (Figura 21.15*a*) y sólo entonces se reduce el sulfato. Sin embargo, en ambos casos, el producto de la reducción del sulfato es sulfito (SO_3^{2-}). Una vez que se forma SO_3^{2-}, se forma sulfuro mediante la enzima sulfito-reductasa (Figura 21.15*b*).

Durante la reducción desasimiladora del sulfato, las reacciones del transporte de electrones conducen a la formación de la fuerza protonmotriz que impulsa la síntesis de ATP mediante la ATPasa. Un importante transportador de electrones es el citocromo c_3, un citocromo periplásmico de bajo potencial (**Figura 21.16**). El citocromo c_3 acepta electrones de una hidrogenasa localizada en el periplasma y los transfiere a un complejo proteico asociado a la membrana llamado *Hmc*, que los transporta a través de la membrana citoplasmática y los pone a disposición de la APS-reductasa y la sulfito-reductasa, que son enzimas citoplasmáticas (Figura 21.16).

La enzima hidrogenasa desempeña un papel central en la reducción del sulfato si *Desulfovibrio* crece en H_2, *per se*, o en un compuesto orgánico como el lactato porque éste se convierte en acetato a través de piruvato (la mayor parte del acetato se excreta porque el *Desulfovibrio* es un reductor de sulfato que no oxida acetato; Sección 15.18) con la producción de H_2. El H_2 producido atraviesa la membrana citoplasmática y lo oxida la hidrogenasa periplásmica para iniciar una fuerza protonmotriz (Figura 21.16). El rendimiento del crecimiento de las bacterias reductoras de sulfato indican que se produce un ATP por cada SO_4^{2-} reducido a HS^-. Con el H_2 como donador de electrones, la reacción es

$$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$$

$$\Delta G^{0\prime} = -152 \text{ kJ}$$

Cuando el lactato o el piruvato es el donador de electrones, no sólo se produce ATP a partir de la fuerza protonmotriz, sino que se produce ATP extra durante la oxidación de piruvato a acetato más CO_2 a través del acetil-CoA y el acetil-fosfato (Figura 21.3).

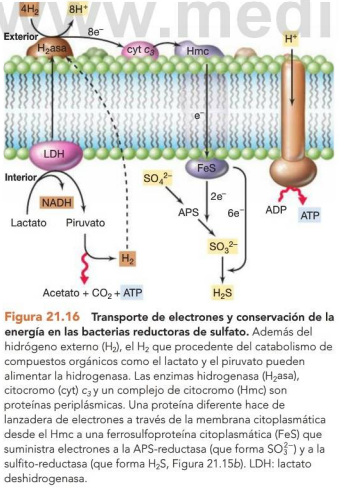


Figura 21.16 Transporte de electrones y conservación de la energía en las bacterias reductoras de sulfato. Además del hidrógeno externo (H_2), el H_2 que procedente del catabolismo de compuestos orgánicos como el lactato y el piruvato pueden alimentar la hidrogenasa. Las enzimas hidrogenasa (H_2asa), citocromo (cyt) c_3 y un complejo de citocromo (Hmc) son proteínas periplásmicas. Una proteína diferente hace de lanzadera de electrones a través de la membrana citoplasmática desde el Hmc a una ferrosulfoproteína citoplasmática (FeS) que suministra electrones a la APS-reductasa (que forma SO_3^{2-}) y a la sulfito-reductasa (que forma H_2S, Figura 21.15*b*). LDH: lactato deshidrogenasa.

Utilización de acetato y autotrofia

Muchas bacterias reductoras de sulfato pueden oxidar acetato a CO_2 para obtener electrones para la reducción del sulfato (Sección 15.18):

$$CH_3COO^- + SO_4^{2-} + 3H^+ \rightarrow 2CO_2 + H_2S + 2H_2O$$

$$\Delta G^{0\prime} = -57{,}5 \text{ kJ}$$

El mecanismo de oxidación del acetato es la *vía del acetil-CoA*, una serie de reacciones reversibles utilizadas por muchos anaerobios para sintetizar acetato u oxidarlo. Esta vía metabólica emplea la enzima clave *monóxido de carbono-deshidrogenasa* (Sección 21.9). Un pequeño número de bacterias reductoras de sulfato también pueden crecer de forma autótrofa con H_2 utilizando la vía del acetil-CoA para incorporar CO_2 al material celular. *Desulfobacter*, una bacteria reductora de sulfato que oxida acetato, carece de las enzimas de la vía del acetil-CoA y oxida acetato a través del ciclo del ácido cítrico (Figura 5.22), pero parece ser una excepción más que una regla.

Dismutación del azufre

Algunas bacterias reductoras de sulfato pueden dismutar compuestos azufrados de un estado de oxidación intermedio. El proceso de dismutación se trató en la Sección 21.5. Por ejemplo, *Desulfovibrio sulfodismutans* puede dismutar el tiosulfato el siguiente modo:

$$S_2O_3^{2-} + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + H_2S$$

$$\Delta G^{0\prime} = -21{,}9 \text{ kJ/reacción}$$

Obsérvese que, en esta reacción, uno de los átomos de azufre del $S_2O_3^{2-}$ se oxida más (forma SO_4^{2-}), mientras que el otro se reduce más (forma H_2S). La oxidación del tiosulfato por *D. sulfodismutans* está acoplada a la formación de la fuerza protonmotriz que el organismo utiliza para fabricar ATP mediante la ATPasa. Otros compuestos azufrados reducidos, como el sulfito (SO_3^{2-}) y el azu-

www.medilibros.com

fre (S^0) también se pueden dismutar. Estas formas de metabolismo permiten que las bacterias reductoras de sulfato extraigan energía de los intermediarios azufrados producidos por la oxidación del H_2S debida a los quimiolitótrofos del azufre que coexisten con ellos en la naturaleza (Secciones 20.10 y 24.4) y también de los intermediarios generados por su propio metabolismo durante la reducción del sulfato.

Oxidación de fosfito

Al menos una bacteria reductora de sulfato es capaz de acoplar la oxidación del fosfito (HPO_3^-) a la reducción del sulfato. Se trata de una reacción quimiolitótrofa con producción de fosfato y sulfuro:

$$4\ HPO_3^- + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow 4HPO_4^{2-} + HS^-$$

$$\Delta G^{0\prime} = -364\ \text{kJ}$$

Esta bacteria, *Desulfotignum phosphitoxidans,* sólo requiere CO_2 para sus necesidades de carbono (por lo tanto, es un autótrofo). Es un anaerobio estricto porque el fosfito se oxida espontáneamente en el aire. Se desconocen las fuentes naturales del fosfito, aunque, como *D. phosphitoxidans* puede utilizar fosfito como el único donador de electrones, probablemente se produce en ambientes anóxicos en la naturaleza, seguramente por la degradación de los fosfatos orgánicos. Junto con la dismutación del azufre (que también es un proceso quimiolitótrofo) y la utilización del H_2, la oxidación del fosfito destaca la diversidad de las reacciones quimiolitótrofas realizadas por las bacterias reductoras de sulfato.

Reducción del azufre

Algunos organismos generan H_2S en la respiración anaerobia, pero son incapaces de reducir el sulfato: son reductores de azufre elemental. Las bacterias reductoras de azufre llevan a cabo la reacción

$$S^0 + 2H \rightarrow H_2S$$

Los electrones de este proceso pueden venir del H_2 o de distintos compuestos orgánicos. El primer organismo reductor del azufre que se descubrió fue *Desulfuromonas acetoxidans* (Sección 15.18). Este organismo oxida acetato, etanol y otros pocos compuestos a CO_2, a la vez que reduce el S^0 a H_2S. La fisiología de las bacterias reductoras de azufre desasimiladoras no se conoce tanto como la de las bacterias reductoras de sulfato, pero se sabe que los reductores de azufre son incapaces de activar el sulfato a APS y seguramente esto les impide utilizar el sulfato como un aceptor de electrones. *Desulfuromonas* contiene una gran cantidad de tipos de citocromos, incluido un análogo del citocromo c_3, un transportador de electrones clave en las bacterias reductoras de sulfato. Como la oxidación de acetato a CO_2 libera menos energía de la que se necesita para sintetizar ATP mediante la fosforilación a nivel del sustrato, está claro que la fosforilación oxidativa desempeña una función importante en la energética de estos organismos. Otras bacterias pueden utilizar azufre como un aceptor de electrones, incluidas algunas especies del género *Wolinella* y *Campylobacter*.

21.8 Minirrevisión

Las bacterias reductoras de sulfato reducen el sulfato a sulfuro de hidrógeno. Este proceso requiere la activación del sulfato con ATP para formar el compuesto adenosina-fosfosulfato (APS). Los donadores de electrones para la reducción del sulfato incluyen H_2, distintos compuestos orgánicos e incluso fosfito. La dismutación de los compuestos de azufre es una estrategia productora de energía extra para determinados miembros de este grupo.

- ¿Cuáles son los nombres de los siguientes compuestos azufrados: S^0, SO_4^{2-}, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, H_2S?
- ¿Cómo se convierte el sulfato en sulfito durante la reducción desasimiladora del sulfato?
- ¿Por qué el H_2 es importante para las bacterias reductoras de sulfato?
- Ofrezca un ejemplo de dismutación de los compuestos azufrados.

ilibros.com

21.9 Acetogenesis

El dióxido de carbono (CO_2) abunda en la naturaleza y especialmente en los hábitats anóxicos porque es uno de los productos principales del metabolismo energético de los quimioorganótrofos. Dos grandes grupos de procariotas anaerobios estrictos utilizan el CO_2 como aceptor de electrones en el metabolismo energético. Uno de los grupos son los *acetógenos* (a veces llamados *homoacetógenos* para indicar que sólo producen acetato). Trataremos el otro grupo, los metanógenos, en el próximo apartado. El H_2 es un importante donador de electrones para ambos tipos de organismos y en la **Figura 21.17** se muestra una visión general de sus metabolismos energéticos:

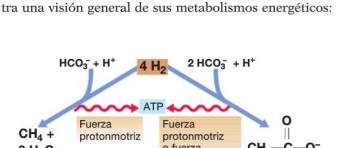


Figura 21.17 Comparación de la metanogenesis y la acetogenesis. Obsérvese la diferencia de energía libre de las reacciones.

acetogenesis y **metanogenesis**. Ambos procesos están unidos a las bombas de iones, H^+ o Na^+, transportados por ATPasas en la membrana. La acetogenesis también conserva la energía en las reacciones de fosforilación a nivel del sustrato.

Organismos y vía metabólica

Los acetógenos pueden realizar la reacción:

$$4H_2 + H^+ + 2HCO_3^- \rightarrow CH_3COO^- + 4H_2O$$
$$\Delta G^{0\prime} = -105 \text{ kJ}$$

Además del H_2, los donadores de electrones para la acetogénesis incluyen compuestos C_1, azúcares, ácidos orgánicos y aminoácidos, alcoholes y algunas bases nitrogenadas, según el organismo. Muchos acetógenos también reducen el NO_3^- y el $S_2O_3^{2-}$, si bien la reducción de CO_2 es probablemente la principal reacción con significado ecológico.

Una hebra unificadora importante entre los acetógenos es la vía de reducción del CO_2: los acetógenos reducen el CO_2 a acetato mediante la **vía del acetil-CoA**. La **Tabla 21.6** aparecen los principales grupos de organismos que producen u oxidan acetato por la vía del acetil-CoA. Los acetógenos como *Acetobacterium woodii* y *Clostridium aceticum* pueden crecer de manera quimioorganótrofa y autótrofa con la reducción del CO_2 a acetato con H_2 (reacción 2) como donador de electrones. En cualquier caso, sólo se produce acetato:

$$(1)\quad C_6H_{12}O_6 \rightarrow 3CH_3COO^- + 3H^+$$
$$(2)\quad HCO_3^- + 4H_2 + H^+ \rightarrow CH_3COO^- + 4H_2O$$

Los acetógenos fermentan la glucosa por la vía glucolítica, que convierte la glucosa en dos moléculas de piruvato y dos moléculas de NADH (el equivalente de 4 H). A partir de aquí, se obtienen dos moléculas de acetato:

$$(3)\quad 2 \text{ piruvato}^- \rightarrow 2 \text{ acetato}^- + 2CO_2 + 4H$$

El tercer acetato de la reacción (1) viene de la reacción (2), que utiliza las dos moléculas de CO_2 generadas en la reacción (3), más los cuatro electrones generados en la glucólisis y los cuatro electrones generados por la oxidación de dos piruvatos a dos acetatos (reacción [3]). Por tanto, la producción global de acetato a partir de piruvato se puede escribir como:

$$2 \text{ piruvato}^- + 4H \rightarrow 3 \text{ acetato}^- + H^+$$

La mayor parte de las bacterias acetógenas que producen y excretan acetato en el metabolismo energético son grampositivas, y muchas son especies de los géneros *Clostridium* o *Acetobacterium* (Tabla 21.6). Otras pocas bacterias grampositivas y muchas gramnegativas y arqueas utilizan la vía del acetil-CoA para la autotrofia, lo que reduce el CO_2 a acetato para tener carbono celular.

La vía del acetil-CoA funciona en el crecimiento autótrofo de determinadas bacterias reductoras de sulfato y también la utilizan los metanógenos, la mayor parte de los cuales crecen de forma autótrofa con H_2 + CO_2 (Secciones 17.4 y 21.10). En cambio, algunas bacterias emplean las reacciones de la vía del acetil-CoA principalmente en dirección inversa para oxidar el acetato a CO_2, como los metanógenos acetótrofos (Sección 17.4) y las bacterias reductoras de sulfato (Secciones 15.18 y 21.8).

Tabla 21.6 Organismos que utilizan la vía del acetil-CoA de fijación de CO_2

I. Síntesis del acetato como resultado del metabolismo energético
- *Acetoanaerobium noterae*
- *Acetobacterium woodii*
- *Acetobacterium wieringae*
- *Acetogenium kivui*
- *Acetitomaculum ruminis*
- *Clostridium aceticum*
- *Clostridium formicaceticum*
- *Moorella thermoacetica*
- *Desulfotomaculum orientis*
- *Sporomusa paucivorans*
- *Eubacterium limosum* (también produce butirato)
- *Treponema primitia* (del intestino de las termitas)

II. Síntesis de acetato en el metabolismo autótrofo
- Bacterias homoacetógenas autótrofas
- Metanógenos autótrofos
- Bacterias autótrofas reductoras de sulfato

III. Oxidación del acetato en el metabolismo energético
- Reacción: Acetato + $2H_2O \rightarrow 2CO_2 + 8H$
  Reductores de sulfato del grupo II (distintos de *Desulfobacter*)
- Reacción: Acetato $\rightarrow CO_2 + CH_4$
  Metanógenos acetótrofos (*Methanosarcina, Methanosaeta*)

Reacciones de la vía del acetil-CoA

A diferencia de otras vías autótrofas como el ciclo de Calvin (Sección 20.6) o el ciclo inverso del ácido cítrico o el ciclo del hidroxipropionato (Sección 20.7), la vía del acetil-CoA de fijación del CO_2 no es un ciclo. En su lugar, cataliza la reducción del CO_2 a lo largo de dos vías lineales: una molécula de CO_2 se reduce al grupo metilo del acetato, y la otra se reduce al grupo carbonilo. Luego, las dos unidades C_1 se ensamblan al final para formar el acetil-CoA (**Figura 21.18**).

Una enzima clave de la vía del acetil-CoA es la *monóxido de carbono (CO)-deshidrogenasa*, una enzima compleja que contiene los metales Ni, Zn y Fe como cofactores. La CO deshidrogenasa cataliza la reacción:

$$CO_2 + H_2 \rightarrow CO + H_2O$$

y el CO producido termina en la posición *carbonilo* del acetato (Figura 21.18). El grupo metilo del acetato se origina a partir de la reducción del CO_2 por una serie de

www.medi

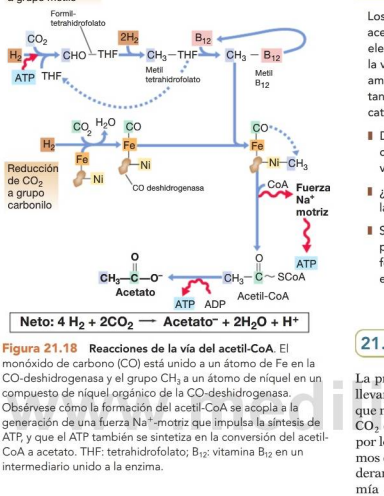


Figura 21.18 **Reacciones de la vía del acetil-CoA**. El monóxido de carbono (CO) está unido a un átomo de Fe en la CO-deshidrogenasa y el grupo CH_3 a un átomo de níquel en un compuesto de níquel orgánico de la CO-deshidrogenasa. Obsérvese cómo la formación del acetil-CoA se acopla a la generación de una fuerza Na^+-motriz que impulsa la síntesis de ATP, y que el ATP también se sintetiza en la conversión del acetil-CoA a acetato. THF: tetrahidrofolato; B_{12}: vitamina B_{12} en un intermediario unido a la enzima.

reacciones que requieren la coenzima *tetrahidrofolato* (Figura 21.18). El grupo metilo se transfiere desde el tetrahidrofolato a una enzima que contiene vitamina B_{12} como cofactor (Figura 21.18). En la última etapa de la vía, el CH_3 se combina con CO mediante la CO-deshidrogenasa para formar acetil-CoA. La conversión de acetil-CoA a acetato más ATP completa la serie de reacciones (Figura 21.18).

Conservación de energía en la acetogenesis

La conservación de la energía en la acetogenesis se consigue tanto por fosforilación a nivel del sustrato como por fosforilación oxidativa (Figura 21.18). El ATP se sintetiza durante la conversión de acetil-CoA a acetato más ATP (Sección 21.3). También existen etapas de conservación de la energía cuando se establece una fuerza sodiomotriz a través de la membrana citoplasmática durante la acetogenia. Este estado energetizado de la membrana permite conservar la energía con una Na^+-ATPasa. Se encuentra una situación similar en el fermentador de succinato *Propionigenium*, en el que la descarboxilación del succinato estaba acoplada a la exportación de Na^+ (Sección 21.4).

21.9. Minirrevisión

Los acetógenos son anaerobios que reducen el CO_2 a acetato, normalmente con el H_2 como donador de electrones. El mecanismo de la formación del acetato es la vía del acetil-CoA, una serie de reacciones ampliamente distribuidas entre los anaerobios estrictos tanto como mecanismo de autotrofia como para el catabolismo del acetato.

- Dibuje la estructura del acetato e identifique el grupo carbonilo y el grupo metilo. ¿Qué enzima clave de la vía acetil-CoA produce el grupo carbonilo del acetato?
- ¿Cómo fabrican ATP los homoacetógenos a partir de la síntesis del acetato?
- Si el catabolismo de la fructosa mediante la glucólisis produce sólo dos moléculas de acetato, ¿cómo puede fermentar *Clostridium aceticum* la fructosa mediante esta vía y producir tres moléculas de acetato?

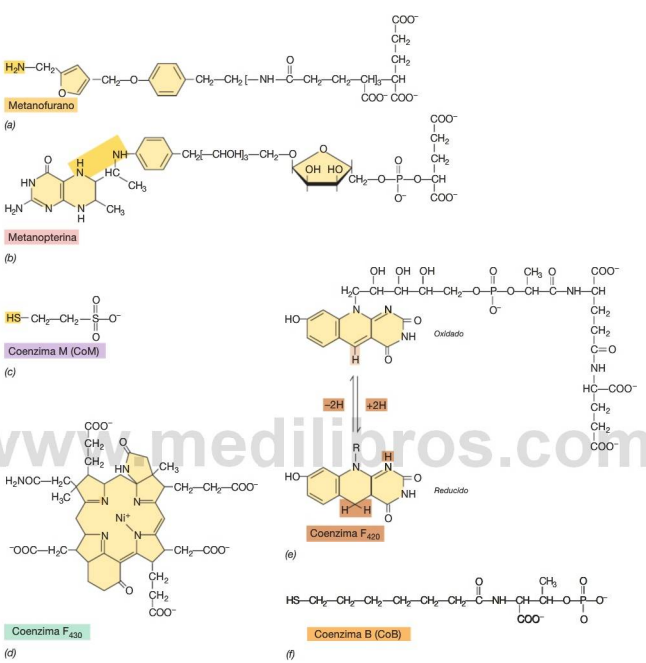
21.10 Metanogenesis

La producción biológica del metano (metanogenesis) la llevan a cabo un grupo de arqueas anaerobias estrictas que reciben el nombre de **metanógenos**. La reducción de CO_2 con el H_2 es la vía principal de la metanogenesis y por lo tanto nos centramos en este proceso y lo compararemos con otras formas de respiración anaerobia. Ya consideramos las propiedades básicas, la filogenia y la taxonomía de los metanógenos en la Sección 17.4; aquí nos centraremos en su bioquímica y bioenergética. La metanogenesis es una serie compleja de reacciones bioquímicas que emplean coenzimas nuevas, y por eso comenzamos con una reflexión sobre de las coenzimas y luego nos fijaremos en la producción real de metano.

Portadores de C_1 en la metanogenesis

Las coenzimas clave de la metanogenia se pueden dividir en dos clases: 1) las que transportan la unidad C_1 desde el sustrato inicial, el CO_2, hasta el producto final, y 2) las que suministran los electrones necesarios para la reducción del CO_2 a CH_4 (**Figura 21.19**, *y véase* la Figura 21.21).

La coenzima metanofurano se necesita en la primera etapa de la metanogenia. El metanofurano contiene el anillo de furano de cinco átomos y un átomo de nitrógeno amínico que se une al CO_2 (Figura 21.9*a*). La metanopterina (Figura 21.19*b*) es una coenzima metanógena que se parece a la vitamina ácido fólico (Figura 27.6*c*) y desempeña una función análogo al tetrahidrofolato (una coenzima que cataliza las transformaciones C_1, Tabla 5.3), transportando la unidad C_1 en las etapas intermedias de la reducción del CO_2 a CH_4. La coenzima M (CoM) (Figura 21.19*c*) es una pequeña molécula necesaria en la última etapa de la metanogenia: la conversión



www.medilibros.com

Figura 21.19 **Coenzimas de la metanogenia**. Los átomos sombreados en marrón o amarillo son los sitios de las reacciones de oxidación-reducción (F_{420}: marrón) o la posición en la que el resto C_1 se une durante la reducción de CO_2 a CH_4 (metanofurano, metanopterina y coenzima M: amarillo). Los colores utilizados para destacar una coenzima determinada (CoB es naranja, por ejemplo) son los mismos que en las Figuras 21.21 a 21.23 y ayudan a seguir las reacciones en cada figura.

de un grupo metilo (CH_3) en CH_4. Aunque no es un portador de C_1, la coenzima F_{430}, un tetrapirrol con níquel (Figura 21.9*d*), también se necesita para la última etapa de la metanogenia como parte del complejo enzimático metil-reductasa (que se tratará más adelante).

Coenzimas redox

Las coenzimas F_{420} y 7-mercaptoheptanoil-treonina-fosfato, también llamada coenzima B (CoB), son donadores de electrones en la metanogenia. La coenzima F_{420} (Figura 21.19*e*) es un derivado de la flavina, que se parece estructuralmente a la coenzima de flavina FMN (Figura 5.16). La F_{420} desempeña es importante en la metanogenia como donador de electrones en varias etapas de la reducción del CO_2 (Figura 21.21). La forma oxidada de F_{420} absorbe luz a 420 nm y emite fluorescencia verdeazulada que resulta útil para la identificación al microscopio de un metanógeno (**Figura 21.20**). La CoB se necesita en la etapa final de la metanogenia, catalizada por el *complejo enzimático metil-reductasa*. Tal y como se muestra en la

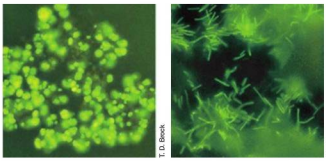


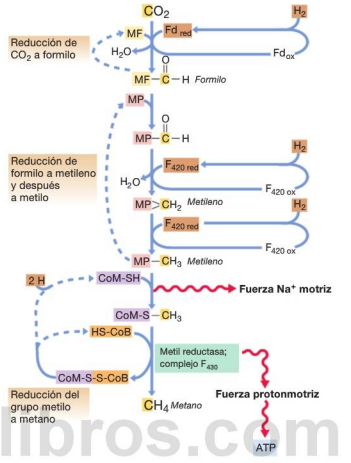
Figura 21.20 **Fluorescencia debida a la coenzima metanógena F_{420}.** (a) Autofluorescencia de las células del metanógeno *Methanosarcina barkeri* debida a la presencia del portador de electrones exclusivo F_{420}. Cada célula mide aproximadamente 1,7 μm de diámetro. Los organismos se ven con luz azul en un microscopio de fluorescencia. (b) Fluorescencia de la F_{420} en células del metanógeno *Methanobacterium formicicum*. Cada célula mide aproximadamente 0,6 μm de diámetro.

Figura 21.19*f*, la estructura de CoB se parece a la vitamina ácido pantoténico (que es parte del acetil-CoA) (Figura 5.13).

Metanogenesis a partir de CO_2 más H_2

Los electrones para la reducción del CO_2 a CH_4 proceden principalmente del H_2, pero en algunos metanógenos el formiato, el monóxido de carbono e incluso algunos compuestos orgánicos como los alcoholes también pueden proporcionar los electrones necesarios para la reducción del CO_2. La **Figura 21.21** muestra las etapas de la reducción del CO_2 por el H_2:

1. El CO_2 se activa con una enzima que contiene metanofurano y se reduce a nivel de formilo. El donador de electrones inmediato es la ferredoxina, una proteína redox con un potencial de reducción muy bajo (Sección 5.11).
2. El grupo formilo se transfiere del metanofurano a una enzima que contiene metanopterina (MP en la Figura 21.21). Posteriormente, se deshidrata y se reduce en dos etapas diferentes a los niveles de metileno y metilo. El donador de electrones inmediato es la F_{420} reducida.
3. El grupo metilo se transfiere desde la metanopterina a una enzima que contiene CoM.
4. El metil-CoM se reduce a metano con la metil-reductasa mediante una reacción en la que intervienen la F_{430} y la CoB. La coenzima F_{430} elimina el grupo CH_3 de la CH_3–CoM, y forma un complejo Ni^{2+}–CH_3 que se reduce mediante la CoB para generar CH_4 y un complejo disulfuro de CoM y CoB (CoM-S—S-CoB).
5. Las CoM y CoB libres se regeneran mediante la reducción de CoM-S—S-CoB con H_2. Como veremos, esta reacción está acoplada a la conservación de energía en la metanogenia.

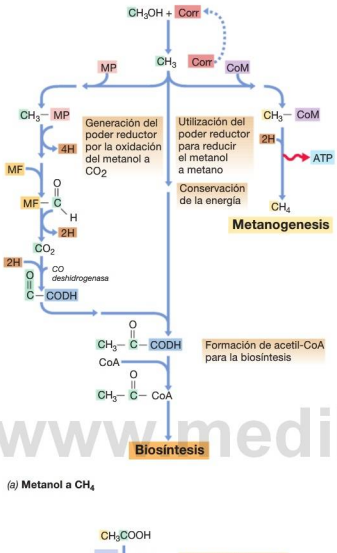


www.edilibros.com

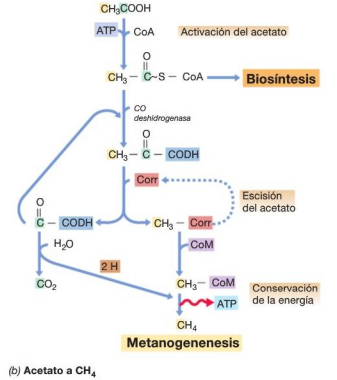
Figura 21.21 **Metanogenesis a partir de CO_2 más H_2.** El átomo de carbono reducido se muestra en amarillo y la fuente de electrones se resalta en marrón. Véase la Figura 21.19 para las estructuras de las coenzimas y *véase* el texto para la explicación de la bomba de Na^+ reversible. MF: metanofurano; MP: metanopterina; CoM: coenzima M; F_{420red}: coenzima F_{420} reducida; F_{430}: coenzima F_{430}; Fd: ferredoxina; CoB: coenzima B.

Metanogenesis a partir de compuestos metílicos y acetato

En el apartado 17.4 vimos que el metano se puede formar a partir de compuestos metilados así como de H_2 + CO_2. Los compuestos metilados como el metanol se catabolizan donando los grupos metilo a una proteína corrinoide para formar CH_3-corrinoide (**Figura 21.22**). Los corrinoides son las estructuras de las que derivan compuestos como la vitamina B_{12} y contiene un anillo de corrina porfirinoide con un átomo de cobalto en el centro (Figura 25.12*a*). A continuación, el complejo CH_3-corrinoide transfiere el grupo metilo a la CoM, lo que produce CH_3-CoM a partir de la cual se forma metano del mismo modo que en la etapa final de la reducción del CO_2 que se acaba de describir (compárense las Figuras 21.21 y 21.22*a*). Si no se dispone de poder reductor (como el H_2) para impulsar la etapa final, parte del metanol se debe oxidar a CO_2 para producir los electrones necesarios gracias a la inversión de las etapas de la metanogenia (Figura 21.22*a*).



(a) **Metanol a CH_4**



(b) **Acetato a CH_4**

Figura 21.22 **Metanogenesis a partir de metanol y acetato.** Ambas series de reacciones contienen partes de la vía del acetil-CoA. Para el crecimiento en el metanol, la mayor parte del carbono del metanol se convierte en CH_4 y una cantidad más pequeña se convierte o bien en CO_2 o bien, mediante la formación de acetil-CoA, se asimila como el material celular. Las abreviaturas y código de colores son los mismos que los de las Figuras 21.19 y 21.21: Corr: proteína que contiene corrinoide; CODH: monóxido de carbono-deshidrogenasa.

Cuando el sustrato para la metanogenesis es el acetato, primero se activa a acetil-CoA, que interacciona con la monóxido de carbono-deshidrogenasa de la vía del acetil-CoA (Sección 21.9). Entonces, el grupo metilo del acetato se transfiere a la enzima corrinoide para producir CH_3-corrinoide, que después pasa a la etapa final de la metanogenia, en la que interviene la CoM. Simultáneamente, el grupo CO se oxida para producir los productos finales del catabolismo del acetato: CH_4 más CO_2 (Figura 21.22*b*).

Autotrofismo

El autotrofismo en los metanógenos se produce a través de la vía del acetil-CoA tratada en el apartado 21.9. Tal y como hemos visto, partes de esta vía están integradas en el catabolismo del metanol y el acetato (Figura 21.22). Sin embargo, los metanógenos carecen de la serie de reacciones de la vía del acetil-CoA impulsadas por el tetrahidrofolato que conducen a la producción de un grupo metilo (Figura 21.18). Esto no es ningún problema porque los metanógenos o bien obtienen los grupos metilo directamente de sus donadores de electrones (Figura 21.22), o bien fabrican grupos metilo durante la metanogenia a partir de H_2 + CO_2 (Figura 21.21). Por lo tanto, los grupos metilo son abundantes y la retirada de algunos para la biosíntesis no genera tensiones bioenergéticas. El grupo carbonilo del acetato producido durante el crecimiento autotrófico de los metanógenos se obtiene de la enzima CO-deshidrogenasa y la etapa final de la síntesis de acetato se produce tal y como se describió para los acetógenos (Sección 21.9 y Figura 21.18).

Conservación de la energía en la metanogenesis

En condiciones estándares, el cambio de energía libre en la reducción del CO_2 a CH_4 con H_2 es −131 kJ/mol. Esto es suficiente para sintetizar al menos un ATP. Como ya se ha comentado, la conservación de la energía en la metanogenesis está ligada a la etapa final: la etapa de la metil-reductasa (Figura 21.21). La interacción de la CoB con la CH_3—CoM en esta etapa forma CH_4 y un heterodisulfuro, CoM-S—S-CoB, que se reduce con la F_{420} para regenerar la forma activa de las coenzimas, CoM-SH y CoB-SH (Figura 21.21). Esta reducción, realizada por la enzima heterodisulfuro-reductasa, es exergónica y está acoplada al bombeo de protones a través de la membrana, que crea una fuerza protonmotriz (**Figura 21.23**). En el flujo de electro-

www.medil

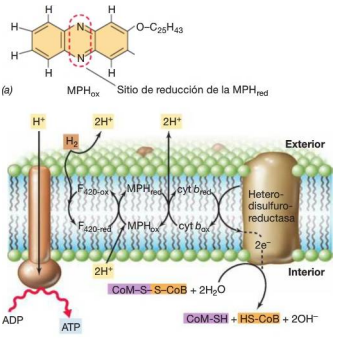


Figura 21.23 Conservación de energía en la metanogenia. (a) Estructura de metanofenazina (MPH en la parte b), un portador de electrones en la cadena de transporte de electrones que impulsa la síntesis de ATP. El anillo central de la molécula se puede reducir y oxidar alternativamente. (b) Etapas del transporte de electrones. Los electrones que proceden del H_2 reducen la F_{420} y después la metanofenazina. La última, a través de un citocromo del tipo *b*, reduce la heterodisulfuro-reductasa con la extrusión de protones hacia el exterior de la membrana. En la última etapa, la heterodisulfuro-reductasa reduce Co-M-S-S-CoB a HS-CoM y HS-CoB. Véanse las estructuras de CoM y CoB en la Figura 21.19.

nes hacia la heterodisulfuro-reductasa interviene un portador de electrones exclusivo integrado en la membrana, un compuesto llamado *metanofenazina* (Figura 21.23). Durante el transporte de electrones, la metanofenazina se reduce alternativamente por la F_{420} y después se oxida por un citocromo de tipo *b* que es el donador de electrones para la heterodisulfuro-reductasa (Figura 21.23).

Desde un punto de vista conceptual, la síntesis de ATP en la metanogenesis es simplemente otro ejemplo de una respiración anaerobia: lo que ocurre en la membrana conduce a la formación de una fuerza protonmotriz. No obstante, una diferencia importante consiste en que el aceptor de electrones, el CO_2 en la metanogenesis de $H_2 + CO_2$, se reduce en una serie de reacciones diferentes a las del transporte de electrones. Es decir, ninguna «oxidasa terminal» de membrana reduce al CO_2 como ocurría cuando, por ejemplo, el nitrato se reducía en la desnitrificación (Sección 21.7).

La metanogenesis a partir de grupos metilo también está acoplada a la bomba de protones de la heterodisulfuro-reductasa, pero con un factor adicional. Tal y como se mencionó previamente, en ausencia de H_2, la metanogenesis a partir de compuestos como el CH_3OH requiere que algunos de los CH_3OH se oxiden a CO_2 para generar los electrones necesarios para la reducción del metilo a metano (Figura 21.22). Al menos una etapa en esta serie de reacciones requiere un aporte energético y está impulsada por la energía de una fuerza sodiomotriz que se forma durante la conversión de la CH_3-MP en CH_3-CoM, que es una reacción exergónica (Figura 21.21).

Por lo tanto, en los metanógenos se distinguen dos mecanismos de conservación de la energía: 1) una fuerza protonmotriz unida a la reacción de la metil-reductasa que se utiliza para impulsar la síntesis de ATP y 2) una fuerza sodiomotriz formada durante la metanogenesis que se utiliza para impulsar la oxidación del grupo metilo durante el crecimiento en compuestos metilados.

21.10 Minirrevisión

La metanogenesis es la producción biológica de CH_4 a partir de CO_2 más H_2 o de compuestos metilados. La metanogenia requiere unas coenzimas únicas y el proceso es estrictamente anaerobio. La conservación de energía en la metanogenia está ligada a las fuerzas protonmotriz y sodiomotriz.

- ¿Qué coenzimas funcionan como portadoras de C_1 en la metanogenesis? ¿Y como donadores de electrones?
- ¿Por qué las etapas del catabolismo del CH_3OH durante la metanogenesis son diferentes cuando el H_2 está presente y cuando no?
- ¿Cómo se produce la fuerza protonmotriz en la metanogenesis?

21.11 Reducción de protones

Quizás la más sencilla de las respiraciones anaerobias es la realizada por el hipertermófilo *Pyrococcus furiosus*, un miembro de las arqueas que crece óptimamente a 100 °C (Sección 17.11) utilizando azúcares y péptidos pequeños como donadores de electrones. Se pensó originalmente que *P. furiosus* utilizaba la vía glucolítica porque se producían a partir de la glucosa los productos de fermentación típicos como el acetato, CO_2 y H_2. Sin embargo, los análisis del metabolismo glucídico en este organismo reveló una situación inusual y enigmática.

Durante una etapa clave de la glucólisis, la oxidación del gliceraldehído-3-fosfato, *P. furiosus* se salta la síntesis del ácido 1,3-difosfoglicérico, un intermediario con dos enlaces de fosfato de alta energía que pueden producir un ATP cada uno y lo que produce es ácido 3-fosfoglicérico directamente a partir del gliceraldehído-3-fosfato (**Figura 21.24**). Esto impide que *P. furiosus* fabrique ATP mediante la fosforilación a nivel del sustrato durante la etapa en la que el ácido 1,3-difosfoglicérico se convierte en ácido 3-fosfoglicérico, uno de los dos sitios de conser-

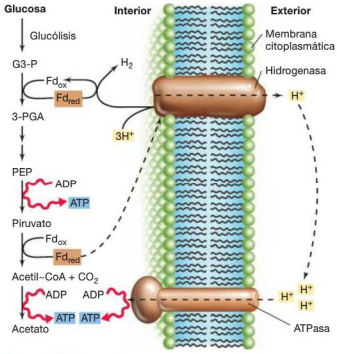


Figura 21.24 Glucólisis modificada y reducción de protones en la respiración anaerobia en el hipertermófilo *Pyrococcus furiosus*. La producción de hidrógeno (H_2) está acoplada al bombeo de protones mediante una hidrogenasa que recibe electrones a partir de la ferredoxina reducida (Fd_{red}). Todos los intermediarios desde el G3-P en adelante están presentes en dos copias. Compárese esta figura con la glucólisis clásica en la Figura 5.15. G3-P: gliceraldehído-3-fosfato; 3-PGA: 3-fosfoglicerato; PEP: fosfoenolpiruvato

vación de energía en la vía glucolítica (Figura 5.15). Esto produce en *P. furiosus*, un balance neto de 0 ATP a partir de las etapas glucolíticas que normalmente producen 2 ATP. ¿Cómo puede *P. furiosus* fermentar glucosa e ignorar las etapas productoras de energía más importantes?

Protones como aceptores de electrones

El enigma de la conservación de energía en *P. furiosus* se solucionó al descubrirse que el aceptor de electrones para la oxidación del ácido 3-fosfoglicérico en la glucólisis no era el aceptor usual, el NAD^+, sino la proteína ferredoxina (Figura 21.24). La ferredoxina tiene un $E^{0\prime}$ mucho menor que el de NAD^+/NADH, aproximadamente el mismo que el del par $2\ H^+/H_2$: −0,42 V. La ferredoxina reducida se vuelve a oxidar al transferir electrones a los protones para formar H_2 en una reacción que está acoplada a la conservación de energía de las bombas de protones (Figura 21.24).

Resulta insólito que los anaerobios fermentativos produzcan H_2 porque éste se produce durante la oxidación del piruvato a acetato más CO_2. Esto permite sintetizar ATP por fosforilación a nivel del sustrato, lo que también se produce en *P. furiosus* (Figura 21.24). Pero además, el H_2 liberado de la ferredoxina está acoplado al bombeo de protones a través de la membrana por una hidrogenasa integral membranaria. Esto establece una fuerza protonmotriz que impulsa la síntesis de ATP mediante la ATPasa (Figura 21.24).

Aunque la reducción de protones por *P. furiosus* no involucra a una cadena de transporte de electrones *per se*, también se puede considerar una forma de respiración anaerobia porque los protones son el aceptor de electrones neto. Por lo tanto, en esto difiere del bombeo de protones asociado a las reacciones de descarboxilación, como las de *Oxalobacter*, donde la energía libre liberada durante la descarboxilación está acoplada directamente al transporte de protones (Figura 21.9*b*). En *P. furiosus*, durante la actividad de la hidrogenasa se bombea un protón, de forma análoga a cómo se bombean los electrones en los procesos aerobio y de otro tipo mediante los portadores de electrones finales, como los citocromos (Figuras 5.20 y 21.14).

Rendimiento del crecimiento y evolución

Las mediciones de rendimiento del crecimiento de *P. furiosus* en glucosa indican que, a pesar de ser incapaz de conservar energía en las principales reacciones en la glucólisis, el organismo realmente es capaz de sintetizar más ATP a partir de la glucosa que muchos otros fermentadores de glucosa. Se producen dos ATP por la fosforilación a nivel del sustrato durante la conversión de dos acetil-CoA a acetato, y se produce aproximadamente un ATP extra a partir de la producción de H_2 por la hidrogenasa (Figura 21.24).

Se desconoce si la reducción de protones en los procariotas está más generalizada que este caso especial. Sin embargo, un ancestro filogenético de *Pyrococcus* (Figura 17.1), acoplado a su hábitat anóxico y caliente similar al de los comienzos de la Tierra (Sección 14.1) sugiere que la reducción de protones, un mecanismo bioenergético que solo requiere una única proteína de membrana diferente a la ATPasa, podría haber sido una forma muy temprana de respiración anaerobia, quizás incluso una primera bomba de protones de la naturaleza.

21.11 Minirrevisión

Pyrococcus furiosus fermenta la glucosa de una forma insólita, reduciendo los protones en una respiración anaerobia acoplada a la actividad ATPasa.

▮ Desde el punto de vista energético, ¿qué ventaja tiene *P. furiosus* sobre otros organismos que fermentan glucosa y producen H_2?

21.12 Otros aceptores de electrones

Además de los aceptores de electrones para la respiración anaerobia tratados hasta ahora, el hierro férrico (Fe^{3+}), el ion manganico (Mn^{4+}), el clorato (ClO_3^-) y varios com-

UNIDAD 4

puestos orgánicos son aceptores de electrones importantes para las bacterias en la naturaleza (**Figura 21.25**). Muchas bacterias son capaces de reducir estos aceptores, especialmente el Fe^{3+}, y otras son capaces de reducir también otros aceptores, como NO_3^- y S^0 (Secciones 21.7 y 21.8).

Reducción del hierro férrico

El hierro férrico es un aceptor de electrones para el metabolismo energético en algunos procariotas quimioorganótrofos y quimiolitótrofos. Como el Fe^{3+} abunda en la naturaleza, su reducción es una forma importante de respiración anaerobia. El potencial de reducción del par Fe^{3+}/Fe^{2+} es algo electropositivo ($E^{0\prime} = +0{,}2$ V a pH 7) y, por lo tanto, la reducción del Fe^{3+} se puede acoplar a la oxidación de varios donadores de electrones orgánicos e inorgánicos. Se pueden oxidar de forma anaerobia una serie de compuestos orgánicos, incluidos los compuestos aromáticos, mediante los reductores del hierro férrico: los electrones se desplazan a través de una cadena de transporte de electrones que termina en un sistema hierro férrico-reductasa, que reduce el Fe^{3+} a Fe^{2+}. El flujo de electrones establece una fuerza protonmotriz que impulsa la síntesis de ATP mediante la ATPasa.

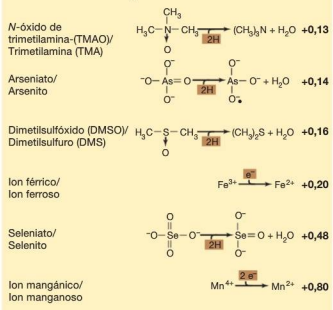


Figura 21.25 Algunos aceptores de electrones alternativos para las respiraciones anaerobias. Obsérvese la reacción y el $E^{0\prime}$ de cada par redox.

Se ha investigado mucho sobre la energética de la reducción del hierro férrico con la bacteria gramnegativa *Shewanella putrefaciens*, en la que el crecimiento anaerobio dependiente de Fe^{3+} se produce con diferentes donadores de electrones orgánicos. Otros reductores importantes de Fe^{3+} incluyen *Geobacter, Geospirillum* y *Geovibrio*, y varias arqueas hipertermófilas (Capítulo 17). *Geobacter metallireducens* se ha utilizado de modelo para el estudio de la fisiología de la reducción del Fe^{3+}. Este organismo oxida el acetato utilizando el Fe^{3+} como aceptor de la siguiente forma:

$$\text{Acetato}^- + 8Fe^{3+} + 4H_2O \rightarrow 2HCO_3^- + 8Fe^{2+} + 9H^+$$
$$\Delta G^{0\prime} = +48{,}2 \text{ kJ}$$

También puede utilizar H_2 o donadores de electrones orgánicos, incluido el hidrocarburo aromático tolueno. Esto tiene importancia medioambiental porque el tolueno procedente de fugas o vertidos accidentales de tanques de almacenamiento de hidrocarburos a menudo contaminan los acuíferos anóxicos ricos en hierro, y los organismos como *Geobacter* pueden ser descontaminantes naturales en tales ambientes.

Reducción de manganeso (Mn^{4+}) y otras sustancias inorgánicas

El manganeso tiene numerosos estados de oxidación, de los cuales el Mn^{4+} y el Mn^{2+} son los más relevantes desde el punto de vista biológico. La reducción desasimiladora del Mn^{4+} a Mn^{2+} la catalizan diferentes bacterias, en su mayor parte quimioorganótrofos. *Shewanella putrefaciens* y otras pocas bacterias crecen en anaerobiosis en acetato u otras varias fuentes de carbono no fermentables con Mn^{4+} como aceptor de electrones. El potencial de reducción del par Mn^{4+}/Mn^{2+} es extremadamente elevado (Figura 21.25), por lo que varios compuestos pueden donar electrones para la reducción del Mn^{4+}. Este es también el caso del clorato (ClO_3^-) (Figura 21.25): se han aislado varias bacterias reductoras de clorato y reductoras de perclorato (ClO_4^-), y la mayoría son facultativas y, por tanto, capaces de crecer en condiciones aerobias.

Otras sustancias inorgánicas pueden funcionar como aceptores de electrones para la respiración anaerobia, entre las que se encuentran compuestos de selenio y arsénico (Figura 21.25). Aunque normalmente no son abundantes en los sistemas naturales, los derivados del arsénico y del selenio son contaminantes ocasionales y pueden permitir el crecimiento anóxico de varias bacterias. La reducción del SeO_4^{2-} a SeO_3^{2-} y finalmente a Se^0 (selenio metálico) es un método importante de eliminación del selenio del agua y se ha utilizado como un medio de limpieza —un proceso llamado *biorremediación* (Sección 24.9)— de los suelos contaminados por selenio. En cambio, la reducción del arseniato a arsenito puede crear realmente un problema de toxicidad. Algunas aguas subterráneas fluyen a través de estratos que contienen minerales de arseniato insolubles. Sin embargo, si

www.medi

las bacterias reducen el arseniato a arsenito por bacterias, éste gana en movilidad y puede contaminar las aguas subterráneas. Esto ha causado un problema grave de contaminación arsénica de las aguas subterráneas en algunos países en vías de desarrollo, como Bangladesh, en los últimos años.

Otras formas de reducción del arseniato resultan beneficiosas. Por ejemplo, la bacteria reductora del sulfato *Desulfotomaculum* puede reducir el arseniato (AsO_4^{3-}) a arsenito (AsO_3^{3-}), junto con SO_4^{2-} (a HS^-). Durante este proceso precipita espontáneamente un complejo mineral de arsénico y sulfuro (As_2S_3) (Figura 21.26). El mineral se forma tanto dentro como fuera de la célula, y el proceso es un ejemplo de *biomineralización:* la formación de un mineral por la acción bacteriana. En este caso, la formación del As_2S_3 (**Figura 21.26**) también constituye un método para detoxificar lo que de otro modo sería un compuesto tóxico (arsénico), lo que puede tener aplicaciones prácticas para la descontaminación microbiana de residuos tóxicos y aguas subterráneas que contienen arsénico.

Aceptores de electrones orgánicos

Algunos compuestos orgánicos son aceptores de electrones en las respiraciones anaerobias. De los presentados en la Figura 21.25, el compuesto que se ha estudiado más extensamente es el *fumarato*, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, que se reduce a succinato. La función del fumarato como un aceptor de electrones en la respiración anaerobia deriva del hecho de que el par fumarato-succinato tiene un potencial de reducción cercano a 0 V (Figura 21.25), que permite el acoplamiento de la reducción del fumarato a la oxidación de NADH, FADH o H_2. Las bacterias capaces de utilizar el fumarato como aceptor de electrones incluyen *Wolinella succinogenes* (que puede crecer con H_2 como donador de electrones utilizando el fumarato como aceptor), *Desulfovibrio gigas* (una bacteria reductora de sulfato que también puede crecer en condiciones no reductoras de sulfato), algunos clostridios, *Escherichia coli* y muchas otras bacterias.

El óxido de trimetilamina (TMAO) (Figura 21.25) es un importante aceptor orgánico de electrones. El TMAO es un producto de los peces del mar, donde hace de excretor del exceso de nitrógeno. Diversas bacterias pueden reducir el TMAO a trimetilamina (TMA), que tiene un fuerte olor y sabor (el olor de pescado en descomposición se debe principalmente a la TMA producida por la acción bacteriana). Algunas bacterias anaerobias facultativas son capaces de utilizar el TMAO como aceptor de electrones alternativo. Además, varias bacterias fotótrofas púrpuras no del azufre son capaces de utilizar el TMAO como aceptor de electrones para el metabolismo anaerobio en la oscuridad.

Un compuesto similar al TMAO es el dimetil-sulfóxido (DMSO), que las bacterias reducen a dimetil-sulfuro (DMS). El DMSO es un producto natural muy común y se encuentra en ambientes de aguas saladas y dulces. El DMS tiene un fuerte olor picante y la reducción bacteriana del DMSO a DMS se delata por este olor característico. Las bacterias, incluidas *Campylobacter, Escherichia* y muchas bacterias púrpuras fotótrofas, son capaces utilizar el DMSO como aceptor de electrones para generar energía.

Los potenciales de reducción de los pares TMAO/TMA y DMSO/DMS son similares, cercanos a +0,15 V. Esto significa que cualquier cadena del transporte de electrones que termine con la reducción de TMAO o DMSO tiene que ser más bien corta. Como en la reducción del fumarato, en muchos casos de reducción de TMAO y DMSO, se ha identificado que las oxidasas terminales son los citocromos del tipo *b* (potenciales de reducción cercanos a 0 V).

Compuestos halogenados como aceptores de electrones: decloración reductora

Numerosos compuestos clorados funcionan como aceptores de electrones para la respiración anaerobia en el proceso denominado **decloración reductora** (también llamada *deshalorrespiración*). Por ejemplo, la bacteria reductora de sulfato *Desulfomonile* crece de forma anaerobia con H_2 o compuestos orgánicos como donadores de electrones y con el clorobenzoato como aceptor de electrones:

$$\underset{\text{3-Clorobenzoato}}{C_7H_4O_2Cl^-} + 2H \rightarrow \underset{\text{Benzoato}}{C_7H_5O_2^-} + HCl$$

Además de *Desulfomonile*, que es también una bacteria reductora de sulfato (Tabla 21.5), otras bacterias decloran por reducción y algunas de ellas sólo utilizan como aceptores de electrones los compuestos clorados (**Tabla 21.7**). Muchos de los compuestos clorados reducidos son tóxicos para los peces y otros animales,

Figura 21.26 Biomineralización durante la reducción de arseniato por la bacteria reductora de sulfato *Desulfotomaculum auripigmentum*. Izquierda: aspecto de un frasco de cultivo tras la inoculación. Derecha: después de crecer durante dos semanas y de la biomineralización del trisulfuro de arsénico, As_2S_3. Centro: muestra de As_2S_3 sintético.

Tabla 21.7 Características de los principales géneros de las bacterias que realizan decloración reductora

	Género			
Propiedad	***Dehalobacter***	***Desulfomonilo***	***Desulfitobacterium***	***Dehalococcoides***
Donadores de electrones	H_2	H_2, formiato, piruvato, lactato y benzoato	H_2, formiato, piruvato y lactato	H_2, lactato
Aceptores de electrones	Tricloroetileno y tetracloroetileno	Metaclorobenzoatos, tetracloroetileno, SO_4^{2-}, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$	Orto-, meta- o para-clorofenoles, NO_3^-, fumarato, SO_3^{2-}, $S_2O_3^{2-}$, S^0	Tricloroetileno, tetracloroetileno
Producto de la reducción del tetracloroetileno	icloroetileno	Dicloroetileno	Tricloroetileno	Eteno
Otras propiedades[a]	Contiene el citocromo *b*	Contiene citocromo c_3; requiere una fuente de carbono orgánico; puede crecer mediante la fermentación del piruvato	También puede crecer mediante fermentación	Carece de peptidoglucano
Filogenia[b]	Relacionado con las bacterias grampositivas	Relacionado con *deltaproteobacteria*	Relacionado con las bacterias grampositivas	Relacionado con las bacterias verdes no del azufre (grupo *Chloroflexus*)

[a] Todos los organismos son anaerobios estrictos.
[b] Véanse los Capítulos 14 a 16.

mientras que muchos de los productos de la decloración reductora son menos tóxicos o incluso nada tóxicos. Por ejemplo, la bacteria *Dehalococcoides* reduce el tri- y el tetra-cloroetileno al gas eteno, que resulta inofensivo (Tabla 21.7).

El organismo deshalorrespirador *Dehalobacterium* convierte el compuesto tóxico diclorometano (CH_2Cl_2) en los ácidos grasos acetato y formiato. De esta forma, la decloración reductora no sólo es una forma de metabolismo energético, sino también un proceso de biorremediación con significado medioambiental. Muchos decloradores reductores también son capaces de reducir el nitrato o distintos compuestos azufrados reducidos (Tabla 21.7) y, por lo tanto, el grupo consta de especies especialistas y oportunistas.

21.12 Minirrevisión

Además de los compuestos inorgánicos nitrogenados y azufrados, y del CO_2, otras sustancias, orgánicas e inorgánicas, pueden funcionar como aceptores de electrones para la respiración anaerobia. En particular, estas incluyen Fe^{3+}, Mn^{4+}, fumarato y algunos compuestos clorados.

- Con el H_2 como donador de electrones, ¿por qué la reducción del Fe^{3+} es una reacción más favorable que la del fumarato?
- Dé un ejemplo de biomineralización.
- ¿En qué lugar de la naturaleza podrían abundar las bacterias que degradan del TMAO? ¿Por qué?

21.13 Oxidación anóxica de hidrocarburos asociada a la respiración anaerobia

www.medilibros.com

Los hidrocarburos son compuestos orgánicos que contienen sólo carbono e hidrógeno y resultan muy insolubles en el agua. Más adelante en este capítulo, veremos que la oxidación *aerobia* de los hidrocarburos es un proceso frecuente en la naturaleza (Sección 21.15). Sin embargo, los hidrocarburos alifáticos y los aromáticos también se pueden oxidar a CO_2 en condiciones anóxicas. La oxidación anóxica de los hidrocarburos la catalizan bacterias que respiran de forma anaerobia, incluidas, en particular, las bacterias desnitrificantes y las reductoras de sulfato.

Hidrocarburos alifáticos

Los hidrocarburos alifáticos son compuestos saturados o insaturados de cadena lineal, y muchos son sustrato para las bacterias desnitrificantes y las reductoras de sulfato. Se ha demostrado que los hidrocarburos alifáticos saturados de hasta C_{20} sirven para hacer crecer la bacterias, pero los de cadenas más cortas se catabolizan con más facilidad. Se ha estudiado bien el mecanismo de la degradación anóxica de los hidrocarburos con el metabolismo del hexano (C_6H_{14}) en las bacterias desnitrificantes. Probablemente, en las bacterias desnitrificantes, el mecanismo es el mismo para el catabolismo de los hidrocarburos que contienen más de seis átomos de carbono, y probablemente también será el mecanismo para la degradación de los hidrocarburos alifáticos en las bacterias reductoras de sulfato.

pecie de *proteobacterias*, el hexano se une por el átomo de carbono 2 mediante una enzima que le une una molécula de fumarato, un intermediario del ciclo del ácido cítrico, y forma un intermediario llamado *1-metilpentilsuccinato* (**Figura 21.27**). Ahora, este compuesto contiene átomos de oxígeno y se puede catabolizar adicionalmente de forma anaerobia (Figura 21.27). Después de añadir la coenzima A, se producen una seria de reacciones que incluyen la oxidación (*véase* la Figura 21.43) y la regeneración del fumarato. Los electrones generados durante la oxidación, se desplazan a través de una cadena de transporte de electrones y generan una fuerza protonmotriz. Al final de la cadena, se reduce nitrato (en las bacterias desnitrificantes) o sulfato (en las bacterias reductoras de sulfato) (Secciones 21.7 y 21.8, respectivamente).

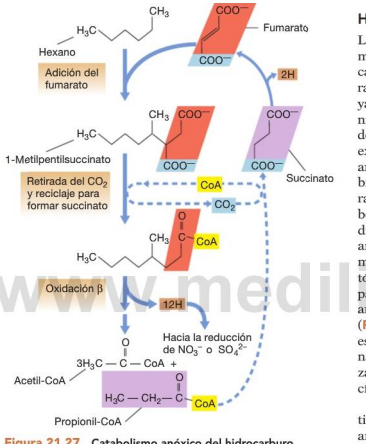


Figura 21.27 Catabolismo anóxico del hidrocarburo alifático hexano. La adición del fumarato proporciona los átomos de oxígeno necesarios para formar un derivado de ácido graso que se puede catabolizar por la oxidación (*véase* la Figura 21.43) para producir acetil-CoA. Los electrones (H) generados a partir del catabolismo del hexano se utilizan para reducir el sulfato o el nitrato en las respiraciones anaerobias.

Hidrocarburos aromáticos

Los hidrocarburos aromáticos lo pueden degradar de forma anaerobia un grupo reducido de bacterias desnitrificantes, fotótrofas, reductoras de hierro férrico y reductoras de sulfato. Sin embargo, si el compuesto aromático ya tiene un átomo de oxígeno en él, muchos otros organismos pueden catabolizarlo de forma anaerobia, incluidos los organismos fermentativos (Tabla 21.3). Cuando examinemos el catabolismo aerobio de los compuestos aromáticos (Sección 21.15), veremos que el mecanismo bioquímico emplea la oxidación del anillo (*véase* la Figura 21.31). No obstante, en condiciones anóxicas, el catabolismo de los compuestos aromáticos transcurre mediante la reducción del anillo en vez de la oxidación del anillo. El catabolismo del benzoato ha sido el centro de mucho del trabajo en este área, y la bacteria púrpura fotótrofa *Rhodopseudomonas palustris*, un organismo capaz de catabolizar una amplia variedad de compuestos aromáticos, ha sido un organismo modelo experimental (**Figura 21.28**). La reducción del anillo prosigue con la escisión del anillo para producir un ácido graso de cadena lineal o un ácido dicarboxílico que se puede catabolizar posteriormente en intermediarios del ciclo del ácido cítrico (Figura 21.28).

Para el catabolismo anóxico del hidrocarburo aromático tolueno, el oxígeno hay que añadirlo al compuesto antes de continuar con las reacciones de reducción del anillo. Esto se produce con la adición de fumarato, tal como se hace en el catabolismo de los hidrocarburos alifáticos (Figura 21.27). Finalmente, la serie de reacciones acaban produciendo benzoil-CoA, que además se cataboliza por la reducción del anillo tal como se muestra en la Figura 21.28. El benceno (C_6H_6) también se puede cata-

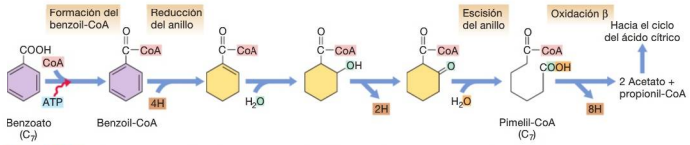


Figura 21.28 Degradación anóxica del benzoato por la vía del benzoil-CoA. Esta vía funciona en la bacteria púrpura fotótrofa *Rhodopseudomonas palustris* y muchas otras bacterias fotótrofas y quimiótrofas facultativas. Obsérvese que todos los intermediarios de la vía están unidos a la coenzima A. El acetato producido se cataboliza en el ciclo del ácido cítrico.

UNIDAD 4

bolizar por las bacterias reductoras del nitrato, probablemente por un mecanismo similar al del tolueno. A los hidrocarburos aromáticos de varios anillos como el naftaleno ($C_{10}H_8$) lo pueden degradar determinadas bacterias reductoras de sulfato y desnitrificantes. El crecimiento en estos sustratos es muy lento, y la oxigenación del hidrocarburo se produce por la adición de una molécula de CO_2 al anillo para formar un derivado del ácido carboxílico.

Oxidación anóxica del metano

El metano (CH_4) es el hidrocarburo más sencillo. En los ecosistemas de agua dulce, los metanótrofos oxidan el metano, producido en los sedimentos anóxicos, a CO_2 cuando alcanza las zonas óxicas. Estos metanótrofos requieren O_2 para el catabolismo del metano porque la primera etapa en la oxidación del metano emplea una enzima monooxigenasa (Sección 21.16 y Figura 21.32). Sin embargo, el metano también se puede oxidar en condiciones *anóxicas* en sedimentos marinos por agregados celulares llamados *consorcios* que contienen bacterias reductoras de sulfato y arqueas relacionadas filogenéticamente con los metanógenos (**Figura 21.29**). Sin embargo, el componente arquea no funciona en el consorcio como un metan*ógeno*, sino como un metan*ótrofo*, que oxida el metano como donador de electrones. Los electrones generados en la oxidación del metano se transfieren presumiblemente de algún modo al reductor de sulfato, que los utiliza para reducir el sulfato a H_2S (Figura 21.29).

Se desconocen los detalles del mecanismo de la oxidación anóxica del metano (OAM) pero parece ser que el metanótrofo primero activa el metano de algún modo y luego lo oxida a CO_2 invirtiendo las etapas de la metanogenesis, una serie de reacciones que serían muy exergónicas (Sección 21.10). Los electrones se generan durante las etapas de oxidación, pero se desconoce de qué forma se liberan hacia el reductor de sulfato. Los electrones no se liberan como H_2. En cambio, los electrones de la oxidación del metano se lanzan desde el metanótrofo al reductor de sulfato como un compuesto orgánico, como acetato o formiato, o posiblemente algún tipo de portador de electrones difusible (Figura 21.29*b*). Alternativamente, es posible que la arquea del consorcio sea a la vez metanótrofa y reductora de sulfato, y complete ella sola el proceso entero de la OAM. En este caso, la bacteria reductora de sulfato existiría en el consorcio por razones diferentes a las del consumo de electrones de la OAM.

Independientemente del mecanismo, la OAM produce sólo una pequeña cantidad de energía y se desconoce cómo se reparte esta energía entre el metanótrofo y el reductor de sulfato (suponiendo que el consorcio es obligatorio). Los estudios bioquímicos de los consorcios han demostrado que el componente metanótrofo contiene una forma modificada de la coenzima metanógena F_{430}. Recuérdese que F_{430} desempeña una función clave en la etapa final de la metanogenesis (Figuras 21.19 y 21.21). La F_{430} modificada probablemente funciona al revés durante la OAM. Se desconoce si el compuesto metanótrofo de los consorcios también es capaz de generar metano (es decir, si funciona como un metanógeno).

La OAM no se limita a los consorcios de bacterias reductoras de sulfato/metanógenas. Los consorcios desnitrificantes oxidadores de metano aparecen en ambientes anóxicos donde el CH_4 y el nitrato coexisten en cantidades significativas. Se puede concebir entonces que la OAM también podría estar acoplada a otras formas de respiración anaerobia, como la reducción del hierro férrico. La conexión a la reducción del sulfato fue lo primero que se descubrió y predominaría de forma natural en los sedimentos marinos porque la reducción del sulfato es la forma dominante de la respiración anaerobia que se produce en ellos (Sección 24.4).

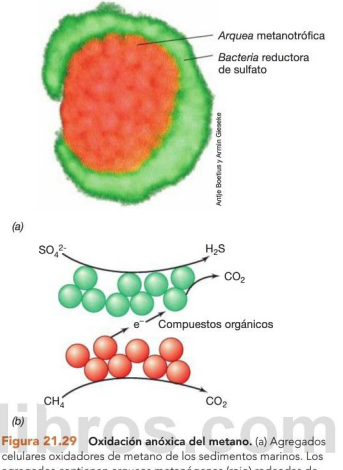


Figura 21.29 Oxidación anóxica del metano. (a) Agregados celulares oxidadores de metano de los sedimentos marinos. Los agregados contienen arqueas metanógenas (rojo) rodeadas de bacterias reductoras de sulfato (verde). Se ha teñido cada tipo celular por una sonda de FISH diferente. El agregado mide unos 30 μm de diámetro. (b) Posible mecanismo para la degradación cooperativa del metano. El mecanismo de la transferencia de electrones de los metanótrofos a los reductores de sulfato probablemente se produzca mediante un compuesto orgánico o algún otro portador de poder reductor.

Libros.com

21.13 Minirrevisión

Las bacterias oxidan los hidrocarburos en condiciones anóxicas. Si el reactante de partida es un hidrocarburo aromático o alifático, hay que añadir oxígeno a la molécula. Esto se consigue con la adición de fumarato. Los compuestos aromáticos se catabolizan por la reducción y escisión del anillo. Posteriormente, los dos tipos de moléculas se oxidan en los intermediarios que se pueden catabolizar en el ciclo del ácido cítrico. El metano se puede oxidar en condiciones anóxicas mediante consorcios que contienen bacterias reductoras de sulfato y arqueas de tipo metanógeno.

- ¿Por qué el tolueno es un hidrocarburo mientras que el benzoato no lo es?
- ¿Cómo se oxigena el hexano durante el catabolismo anóxico?
- ¿Qué es la OAM y qué organismos participan en el proceso?

III PROCESOS DE QUIMIOORGANOTROFIA AEROBIA

Muchos compuestos orgánicos se catabolizan de forma aerobia y aquí revisaremos algunos de los principales procesos aerobios. Comenzamos teniendo en cuenta los requisitos de O_2 para algunas de estas reacciones.

21.14 El oxígeno molecular como reactivo en los procesos bioquímicos

Ya se ha tratado la importancia del oxígeno molecular (O_2) como *aceptor de electrones* en reacciones que generan energía (Secciones 5.11 y 5.12). Aunque se trata de la función más importante del O_2 en el metabolismo celular, el O_2 también es clave como un *reactivo directo* en algunos tipos de procesos anabólicos y catabólicos.

Oxigenasas

Las **oxigenasas** son enzimas que catalizan la incorporación de átomos de oxígeno desde el O_2 en los compuestos orgánicos. Hay dos clases de oxigenasas: las *dioxigenasas*, que catalizan la incorporación de ambos átomos de oxígeno en la molécula, y *las monooxigenasas*, que catalizan la incorporación de sólo uno de los dos átomos del O_2 en un compuesto orgánico; el segundo átomo del O_2 se reduce a agua. Para la mayor parte de las monooxigenasas, el donador de electrones es NADH o NADPH (**Figura 21.30**).

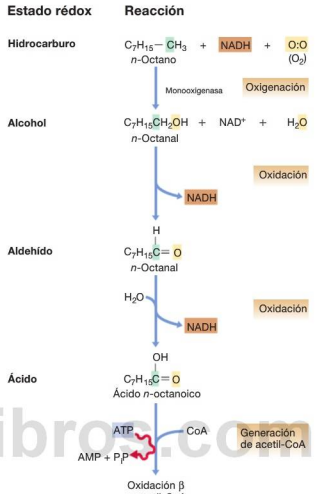


Figura 21.30 Actividad de la monooxigenasa. Etapas en la oxidación de un hidrocarburo alifático, la primero de las cuales la cataliza una monooxigenasa. Algunas bacterias reductoras de sulfato y desnitrificantes pueden degradar los hidrocarburos alifáticos en condiciones anóxicas. Para una descripción de la oxidación, *véase* la Figura 21.43.

En el ejemplo del amoníaco-monooxigenasa tratado anteriormente (Sección 20.12), el donador de electrones era el citocromo *c*.

Muchos tipos de reacciones en los organismos vivos requieren O_2 como un reactivo. Uno de los mejores ejemplos es la biosíntesis del esterol. La formación del sistema de anillos fusionados del esterol (Figura 4.6*a*) requiere O_2. Obviamente, tal reacción no puede tener lugar en condiciones anóxicas, por lo que los organismos que crecen de forma anaerobia deben prescindir de los esteroles u conseguirlos ya hechos de su ambiente. La necesidad de O_2 en la biosíntesis tiene gran relevancia evolutiva, ya que el O_2 estaba ausente de la atmósfera de la Tierra cuando comenzó a evolucionar la vida. El oxígeno estuvo disponible en la Tierra sólo después de la proliferación de las cianobacterias, hace unos 2700 millones de años (Sección 14.3).

www.medilibros.com

21.14 Minirrevisión

Además de aceptor de electrones, el oxígeno también es un reactivo químico en determinados procesos bioquímicos. Las enzimas denominadas oxigenasas introducen el O_2 en un compuesto bioquímico.

▮ ¿En qué difieren las monooxigenasas de las dioxigenasas respecto a su función?

21.15 Oxidación aerobia de los hidrocarburos

En el apartado 21.13 vimos como los hidrocarburos se podían degradar en condiciones anóxicas. Aquí, consideramos su oxidación aerobia. Los hidrocarburos de bajo peso molecular son gases mientras que los de mayor peso molecular son líquidos o sólidos. El consumo de hidrocarburos puede ser un proceso natural o puede ser un proceso dirigido a la limpieza de hidrocarburos vertidos por las actividades humanas (biorremediación de petróleo, Sección 24.8). De cualquier modo, el catabolismo aerobio de los hidrocarburos es un proceso muy rápido debido a la ventaja metabólica de disponer de O_2 como aceptor de electrones.

Metabolismo de hidrocarburos alifáticos

Una serie de bacterias y muchos mohos y levaduras utilizan los hidrocarburos como donadores de electrones para permitir el crecimiento en condiciones aerobias. La etapa inicial de la oxidación de los hidrocarburos alifáticos saturados por estos organismos requiere oxígeno molecular (O_2) como reactivo, uno de cuyos átomos se incorpora en el hidrocarburo oxidado, normalmente en un átomo de carbono terminal. Esta reacción la lleva a cabo una monooxigenasa (Sección 21.14) y una secuencia de reacción típica es la mostrada en la Figura 21.30. El producto final de la secuencia de reacción es acetil-CoA, que se cataboliza en el ciclo del ácido cítrico junto con la producción de electrones para la cadena de transporte de electrones. La secuencia se repite para degradar progresivamente las cadenas de hidrocarburos y en muchos casos el hidrocarburo se oxida completamente a CO_2.

Hidrocarburos aromáticos

Se pueden utilizar muchos hidrocarburos aromáticos como donadores de electrones en condiciones aerobias por los microorganismos, entre los cuales las bacterias del género *Pseudomonas* han sido las mejor estudiadas. El metabolismo de estos compuestos, algunos de los cuales son moléculas realmente grandes, suele iniciarse con la formación de catecol o un compuesto relacionado estructuralmente a través del ataque de las oxigenasas, como se muestra en la Figura 21.31.

Los compuestos de un único anillo, como el catecol se denominan *sustratos de partida* porque el catabolismo oxidativo sólo continúa después de que las grandes moléculas poliaromáticas se hayan convertido a estas formas más simples. Una vez que se forma un compuesto como el catecol, se puede degradar después a compuestos que entrar en el ciclo del ácido cítrico: succinato, acetil-CoA y piruvato. Varias etapas en el catabolismo aerobio de los hidrocarburos aromáticos requieren oxigenasas. Las Figuras 21.3*a-c* muestran cuatro reacciones diferentes catalizadas por oxigenasas, una que utiliza una monooxige-

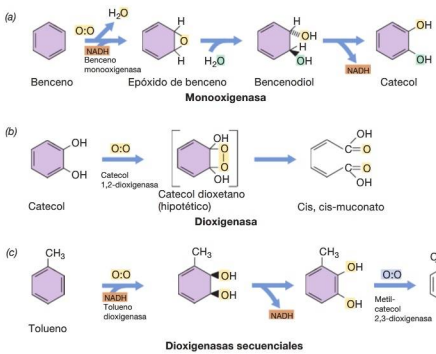


Figura 21.31 Funciones de las oxigenasas en el catabolismo de los compuestos aromáticos. Las monooxigenasas introducen un átomo de oxígeno desde el O_2 en un sustrato, mientras que las dioxigenasas introducen ambos átomos de oxígeno. (a) Hidroxilación del benceno a catecol mediante una monooxigenasa en la que el NADH es el donador de electrones. (b) Escisión del catecol en *cis,cis*-muconato mediante una dioxigenasa de escisión del anillo intradiólico. (c) Las actividades de una dioxigenasa que hidroxila el anillo y una dioxigenasa que rompe el anillo de estradiol en la degradación del tolueno. Los átomos de oxígeno que introduce cada enzima se diferencian con colores diferentes. El catecol y los compuestos relacionados son intermediarios habituales del catabolismo aromático aerobio.

nasa, dos que utilizan una dioxigenasa de escisión del anillo y otra que usa un dioxigenasa que hidroxila el anillo. Al igual que en el catabolismo de los hidrocarburos alifáticos aerobios, los compuestos aromáticos, bien con uno o varios anillo, se oxidan normalmente por completo a CO_2.

21.15 Minirrevisión

El metabolismo aerobio de los hidrocarburos está muy extendido en la naturaleza y las enzimas oxigenasas son la clave de estas catálisis. A diferencia del catabolismo aromático anaerobio, la degradación aromática aerobia transcurre por vías de oxidación del anillo.

- Dibuje la estructura química del benceno. Haga lo mismo con el benzoato. ¿Estos compuestos son alifáticos o aromáticos?
- ¿Qué diferencia fundamental existe en la degradación anaerobia de un compuesto aromático en comparación con su metabolismo aerobio? Dé un ejemplo.

21.16 Metilotrofia y metanotrofia

El metano y muchos otros compuestos C_1 se pueden catabolizar por los **metilótrofos**, microorganismos que utilizan compuestos C_1 u otros compuestos orgánicos que carecen de enlaces C—C como donadores de electrones y también como fuentes de carbono (Sección 15.6). Aquí, nos centramos en la fisiología de este proceso y utilizaremos el metano como ejemplo.

Bioquímica de la oxidación del metano

Las etapas en la oxidación del metano a CO_2 se pueden resumir así:

$$CH_4 \rightarrow CH_3OH \rightarrow CH_2O \rightarrow HCOOO^- \rightarrow CO_2 \text{ (metano} \rightarrow \text{metanol} \rightarrow \text{formaldehído} \rightarrow \text{formiato} \rightarrow CO_2\text{)}$$

Los **metanótrofos** son aquellos metilótrofos que pueden utilizar el CH_4. Los metanótrofos asimilan todo o la mitad de su carbono (según la vía utilizada) en el estado de oxidación de formaldehído. Más tarde veremos que esto proporciona un mayor ahorro energético en comparación con la asimilación de carbono de los autótrofos, que también asimilan unidades C_1 pero desde el CO_2 en vez de compuestos orgánicos.

Reacciones y bioenergética de la metanotrofia aerobia

La etapa inicial de la oxidación del metano en condiciones óxicas requiere una enzima llamada *metano-monooxigenasa* (MMO). Tal y como expusimos en el Sección 21.14, las oxigenasas catalizan la incorporación de oxígeno desde el O_2 en los compuestos carbonados (y en algunos compuestos nitrogenados, Sección 20.12) y ayudan a metabolizar los hidrocarburos. La metanotrofia se ha estudiado bien en *Methylococcus capsulatus*. Este organismo contiene dos MMO, una citoplasmática y otra integrada en la membrana. El donador de electrones para la MMO citoplasmática es el NADH, y el NADH es probablemente el donador de electrones también para la MMO membranaria (**Figura 21.32**).

En la reacción de la MMO, se introduce un átomo de oxígeno en el CH_4, y se forman CH_3OH y H_2O. El poder reductor de la primera etapa viene de las últimas etapas oxidativas de la vía, que incluyen la oxidación de CH_3OH, CH_2O y $HCOO^-$ con dos electrones cada uno. El CH_3OH se oxida con una deshidrogenasa periplásmica para producir formaldehído y NADH. Una vez que se forma CH_2O, se oxida a CO_2 por alguna de las dos vías posibles. Una mediante enzimas que utilizan la coenzima tetrahidrofolato, una coenzima ampliamente implicada en las transformaciones C_1 (Sección 5.1). La segunda vía, que es totalmente independiente, emplea la coenzima metanopterina. Recuérdese que la metanopterina es un portador de C_1 durante la metanogenesis, la reducción de CO_2 a CH_4, y que los metanógenos pertenecen al dominio arqueas (Sección 21.19). Resulta interesante que la metanopterina también la empleen los metanótrofos, que filogenéticamente son bacterias, para realizar la reacción inversa: la oxidación del formaldehído al formiato. Esto es probablemente un ejemplo del transferencia horizontal de genes (Sección 13.11), en la que los metanógenos y los metanótrofos comparten genes que codifican proteínas comunes desde el punto de vista bioquímico. Sin

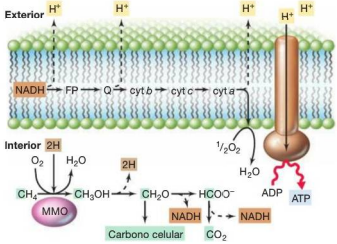


Figura 21.32 Oxidación del metano por las bacterias metanótrofas. El metano (CH_4) se convierte en metanol (CH_3OH) por la enzima metano-monooxigenasa (MMO). Se establece una fuerza protonmotriz en la membrana a partir del flujo de electrones, que alimenta la ATPasa. Obsérvese que el carbono para la biosíntesis viene del formaldehído (CH_2O). Aunque no se describe como tal, la MMO es realmente una enzima asociada a la membrana y la metanol-deshidrogenasa es periplásmica. FP: flavoproteína; Cyt: citocromo; Q: quinona.

UNIDAD 4

embargo, independientemente de la vía de oxidación empleada para el CH_2O, los electrones de la oxidación del CH_2O al CO_2 entran en la cadena del transporte de electrones para generar una fuerza protón motriz que permitirá sintetizar ATP (Figura 21.32).

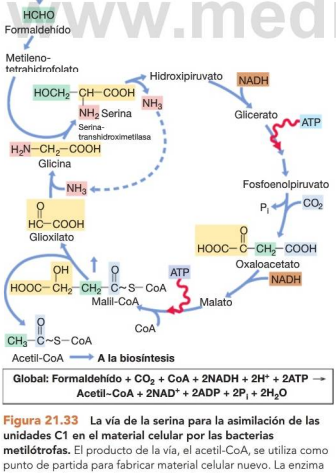
Asimilación de C_1 en el material celular

Tal y como se indicó en el Sección 15.6, se conocen dos grupos fisiológicos de metanótrofos, el tipo I y el tipo II, y cada grupo emplea su propia vía específica para la incorporación de C_1 en el material celular. La **vía de la serina**, utilizada por los metanótrofos de tipo II, se esquematiza en la **Figura 21.33**. En esta vía, se sintetiza una unidad de dos carbonos, el acetil-CoA, a partir de una molécula de formaldehído (producida por la oxidación del CH_3OH, Figura 21.32) y una molécula de CO_2. La vía de la serina requiere poder reductor y energía en forma de dos moléculas de NADH y otras dos de ATP para sintetizar el acetil-CoA. La vía de la serina emplea varias enzimas del ciclo del ácido cítrico y una enzima, la *serina-transhidroximetilasa*, exclusiva para la vía (Figura 21.33).

La **vía de la ribulosa monofosfato**, utilizada por los metanótrofos de tipo 1, se muestra en la **Figura 21.34**. Esta vía es más eficaz que la vía de la serina porque todo el carbono del material celular procede del formaldehído. Dado que éste se encuentra en el mismo nivel de oxidación que el material celular, no se necesita poder reductor. La vía de la ribulosa-monofosfato requiere una molécula de ATP por cada molécula de gliceraldehído-3-fosfato sintetizada (Figura 21.34). En consonancia con la poca energía requerida por la vía de la ribulosa-monofosfato, el rendimiento celular (gramos de célula producidos por mol de CH_4 oxidado) de los metanótrofos de tipo I es mayor que para los metanótrofos de tipo II.

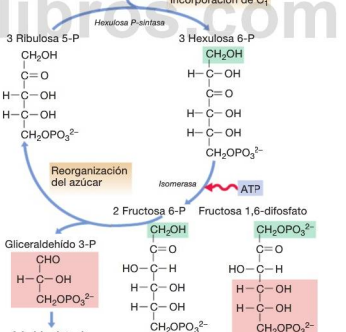
Las enzimas *hexulosafosfato-sintasa*, que condensa una molécula de formaldehído con una molécula de ribulosa 5-P, y la *hexulosa-6-P-isomerasa* (Figura 21.34) son exclusivas de la vía de la ribulosa-monofosfato mientras que el resto de enzimas son las de las transformaciones de azúcares en muchos organismos diferentes. También hay que señalar que el sustrato para la reacción inicial en esta vía, la ribulosa-5-P, es muy similar al aceptor de C_1 en el ciclo de Calvin, la ribulosa-1,5-difosfato (Sec-

www.medilibros.com



Global: Formaldehído + CO_2 + CoA + 2NADH + $2H^+$ + 2ATP → Acetil-CoA + 2NAD$^+$ + 2ADP + 2P_i + $2H_2O$

Figura 21.33 La vía de la serina para la asimilación de las unidades C1 en el material celular por las bacterias metilótrofas. El producto de la vía, el acetil-CoA, se utiliza como punto de partida para fabricar material celular nuevo. La enzima clave de la vía es la serina transhidroximetilasa.



Global: 3 Formaldehído + ATP → Gliceraldehído 3-P + ADP

Figura 21.34 La vía de la ribulosa monofosfato para la asimilación de las unidades C_1 por las bacterias metilótrofas. Se necesitan tres moléculas de formaldehído para completar el ciclo, con el resultado neto de una molécula de gliceraldehído-3-P. La enzima clave de esta vía es la hexulosa-P-sintasa. La reorganización del azúcar requiere enzimas de la vía de las pentosas-fosfato (Figura 21.39).

ción 20.6), una indicación de que estos dos ciclos probablemente comparten raíces evolutivas.

21.16 Minirrevisión

La metanotrofia consiste en el uso de CH_4 como fuente de carbono y de electrones. La enzima metano-monooxigenasa es una enzima clave en el catabolismo del metano. En los metanótrofos, las unidades C_1 se asimilan en material celular a nivel de oxidación del formaldehído, ya sea por la vía de la ribulosa monofosfato o de la serina.

- ¿Cuáles son los requisitos energéticos y de poder reductor para la vía de la ribulosa-monofosfato? ¿Y para la vía de la serina? Escriba una frase que explique por qué son diferentes los requisitos energéticos de las dos vías.
- ¿Por qué la oxidación de CH_4 a CH_3OH requiere poder reductor?
- ¿Cuál de las vías, el ciclo de Calvin o la vía de la ribulosa-monofosfato, requiere un mayor suministro de energía? ¿Por qué?

21.17 Metabolismo de hexosas, pentosas y polisacáridos

Los azúcares y los polisacáridos son sustratos habituales para los quimioorganótrofos y trataremos aquí su metabolismo.

Utilización de hexosas y polisacáridos

Los azúcares de seis átomos de carbono, llamados *hexosas*, son los donadores de electrones más importantes para muchos quimioorganótrofos y también son componentes estructurales importantes de las paredes celulares, cápsulas, capas mucosas y productos de reserva microbianos (Capítulo 4). Las fuentes más comunes de hexosas en la naturaleza se enumeran en la **Tabla 21.8**, en la que se observa que la mayoría son polisacáridos, aunque algunos pocos son disacáridos. La celulosa y el almidón son los dos polisacáridos naturales más abundantes.

Aunque el almidón y la celulosa se componen completamente de glucosa, las unidades de glucosa se unen de manera diferente (Tabla 21.8; Figura 3.6*b*) y esto afecta profundamente a sus propiedades. La celulosa es mucho más insoluble que el almidón y normalmente se digiere más lentamente. La celulosa forma fibrillas largas y, a menudo, los organismos que digieren la celulosa se encuentran adheridos directamente a estas fibrillas (**Figura 21.35**). De este modo, la celulasa, la enzima requerida para degradar la celulosa, entra en contacto con su sustrato e inicia el proceso digestivo. Muchos hongos pueden digerir celulosa y son los principales responsables de la descomposición de los materiales vegetales en la suelo de los bosques. Sin embargo, son pocos los grupos de bacterias capaces de digerir la celulosa, de los cuales las bacterias deslizantes como *Sporocytophaga* y *Cytophaga* (**Figuras 21.35 y 21.36**), los clostridios y los actinomicetos son las más corrientes.

La digestión anóxica de la celulosa la realizan unas pocas especies de *Clostridium*, que son frecuentes en los

UNIDAD 4

Tabla 21.8 Polisacáridos naturales que producen azúcares de hexosas y pentosas*

Sustancia	*Composición*	*Fuentes*	*Enzimas catabólicas*
Celulosa	Polímero de glucosa (β-1,4-)	Plantas (hojas, tallos)	Celulasas (β-1-4 glucanasas)
Almidón	Polímero de glucosa (α-1,4-)	Plantas (hojas, semillas)	Amilasa
Glucógeno	Polímero de glucosa (α-1,4- y α-1,6-)	Animales (músculo) y microorganismos (gránulos)	Amilasa, fosforilasa
Laminarina	Polímero de glucosa (β-1,3-)	Algas marinas (Feofitas)	β-1,3-Glucanasa (laminarinasa)
Paramilón	Polímero de glucosa (β-1,3-)	Algas (Euglenofitas y Xantofitas)	β-1,3-Glucanasa
Agar	Polímero de galactosa y de ácido galacturónico	Algas marinas (Rodofitas)	Agarasa
Quitina	Polímero de N-acetilglucosamina (β-1,4-)	Hongos (paredes celulares) Insectos (exoesqueletos)	Quitinasa
Pectina	Polímero del ácido galacturónico (de galactosa)	Plantas (hojas, semillas)	Pectinasa (poligalacturonasa)
Dextrano	Polímero de glucosa	Cápsulas o capas mucosas bacterianas	Dextranasa
Xilano	Heteropolímero de xilosa y otros azúcares (β-1,4- y grupos laterales α-1,2 o α-1,3)	Plantas	Xilanasas
Sacarosa	Disacárido glucosa-fructosa	Plantas (frutos, hortalizas)	Invertasa
Lactosa	Disacárido glucosa-galactosa	Leche	β-Galactosidasa

*Cada uno de éstos azúcares los pueden degradar los microorganismos.

www.medilibros.com

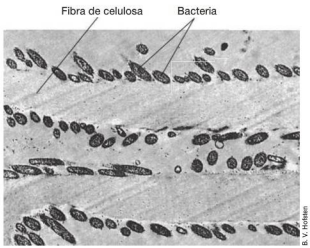


Figura 21.35 **Digestión de la celulosa**. Fotografía al microscopio electrónico de transmisión que muestra la adhesión de la bacteria que digiere celulosa *Sporocytophaga myxococcoides* a fibras de celulosa. Las células miden unos 0,5 μm de diámetro (Figura 16.36*d*).

Figura 21.37 **Hidrólisis del almidón por *Bacillus subtitlis*.** Después de la incubación, la placa de agar con almidón se cubrió de una con una disolución yodada de Lugol. Donde se ha hidrolizado el almidón desaparece el color negro-púrpura característico del complejo yodo-almidón. La hidrólisis del almidón alcanza cierta distancia de las colonias porque las células de B. subtilis producen una amilasa extracelular (exoenzima) que se difunde por el medio circundante.

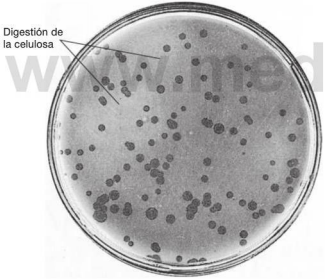


Figura 21.36 **Colonias de *Cytophaga hutchinsonii* en placas de agar con celulosa**. Las áreas en las que se ha hidrolizado la celulosa son claras.

sedimentos lacustres, los tubos digestivos de los animales, y sistemas para la digestión anóxica de las aguas residuales. La digestión de la celulosa es también un proceso importante en el rumen de los rumiantes, donde las especies *Fibrobacter* y *Ruminococcus* degrada activamente la celulosa (Sección 24.10).

El almidón es digerible por muchos hongos y bacterias, como se ilustra para un cultivo de laboratorio en la **Figura 21.37**. Las enzimas que hidrolizan almidón, llamadas *amilasas*, son de considerable utilidad práctica en situaciones industriales en las que se debe digerir el almidón, como las industrias textil, en lavanderías, y en las industrias papelera y alimentaria. Los hongos y las bacterias son las fuentes comerciales de estas enzimas (Sección 25.9).

Todos los polisacáridos utilizados como sustratos de crecimiento se hidrolizan enzimáticamente en primer lugar a unidades monoméricas u oligoméricas. En cambio, los polisacáridos formados dentro de las células como productos de reserva (Sección 4.10) no se rompen por la *hidrólisis*, sino por la *fosforólisis*. Esto comprende añadir fosfato inorgánico para formar hexosa-fosfato en vez de la hexosa libre. Se puede resumir de la siguiente forma para la degradación del almidón, un polímero α-1,4 de glucosa:

$$(C_6H_{12}O_6)_n + P_i \rightarrow (C_6H_{12}O_6)_{n-1} + \text{glucosa-1-fosfato}$$

Como la glucosa 1-fosfato se puede convertir fácilmente en glucosa-6-fosfato —un intermediario clave en la glucólisis— sin gasto de energía, la fosforólisis supone un ahorro neto de energía para la célula.

Disacáridos

Muchos organismos pueden utilizar disacáridos para el crecimiento (Tabla 21.8). La utilización microbiana de *lactosa* tiene una importancia económica considerable porque los organismos que acidifican la leche producen ácido láctico a partir de la lactosa. La *sacarosa*, el disacárido habitual de las plantas superiores, se hidroliza primero a sus monosacáridos componentes (glucosa y fructosa) por la enzima invertasa y después los monómeros se metabolizan por la vía glucolítica. La *celobiosa* (β-1, 4-diglucosa), el principal producto de la digestión de ce-

www.medilibros.com

lulosa por la celulasa, la degradan las bacterias celulolíticas, pero también se pueden degradar por muchas bacterias que no son capaces de degradar el propio polímero de celulosa.

El polisacárido microbiano *dextrano* lo sintetizan algunas bacterias que utilizan la enzima dextransacarasa y la sacarosa como material de partida:

$$n \text{ sacarosa} \rightarrow \underset{\text{dextrano}}{(\text{glucosa})_n} + n \text{ fructosa}$$

La bacteria *Leuconostoc mesenteroides* y algunas otras bacterias sintetizan el dextrano por esta vía, y el polímero formado se acumula alrededor de las células como una cápsula o cápsula mucilaginosa masiva (**Figura 21.38**). Como se requiere sacarosa para formar el dextrano, éste no se forma cuando la bacteria se cultiva en un medio que contiene glucosa o fructosa (Sección 28.3). En la naturaleza, cuando mueren células que contienen dextrano u otras cápsulas de polisacáridos, estos materiales vuelven a quedar disponibles para ser atacados por microorganismos fermentativos u otros quimioorganótrofos.

La vía de las pentosas-fosfato

A menudo, las pentosas se encuentran disponibles en la naturaleza. Pero si no lo estuvieran, hay que sintetizarlos porque forman el esqueleto de los ácidos nucleicos (Sección 3.5). Las pentosas están hechas de azúcares de seis carbonos (hexosas) y la vía principal para sintetizarlos es la **vía de las pentosas-fosfato**.

La **Figura 21.39** resume la vía de las pentosas-fosfato en la que hay que señalar varias características importantes. Primero, la glucosa se puede convertir a pentosa al perder un átomo de carbono por oxidación seguido de una descarboxilación. Esto genera NADPH y el intermediario clave de la vía: la *ribulosa-5-fosfato* (Figura 21.39), a partir de la cual se forma la ribosa (y de ella la desoxirribosa, Sección 5.16) para suministrar los precursores de los ácidos nucleicos para la célula. Las pentosas como donadores de electrones también se pueden incorporar a la vía de las pentosas-fosfato normalmente por fosforilación, para formar la ribosa-fosfato o un compuesto relacionado (Figura 21.39) antes de catabolizarse.

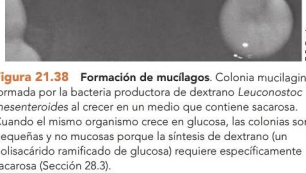


Figura 21.38 Formación de mucílagos. Colonia mucilaginosa formada por la bacteria productora de dextrano *Leuconostoc mesenteroides* al crecer en un medio que contiene sacarosa. Cuando el mismo organismo crece en glucosa, las colonias son pequeñas y no mucosas porque la síntesis de dextrano (un polisacárido ramificado de glucosa) requiere específicamente sacarosa (Sección 28.3).

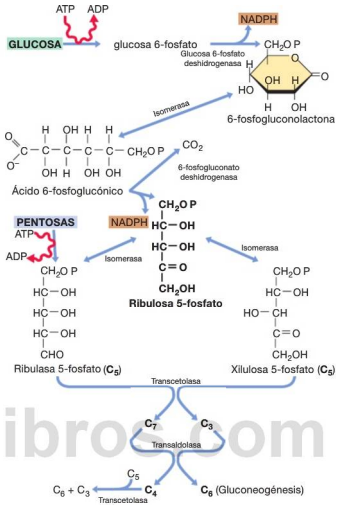


Figura 21.39 La vía de las pentosas-fosfato. La vía se utiliza para: (1) formar pentosas a partir de hexosas; (2) formar hexosas a partir de pentosas (gluconeogénesis); (3) catabolizar pentosas como donadores de electrones; y (4) generar NADPH. Se indican algunas de las enzimas clave de la vía.

Una segunda característica importante de la vía de las pentosas-fosfato es la generación de la diversidad glucídica. Numerosos derivados de azúcares, incluidos C_4, C_5 y C_7, se forman en las reacciones de la vía (Figura 21.39), lo que permite que las pentosas produzcan finalmente hexosas con fines catabólicos o biosintéticos (gluconeogénesis, Sección 5.15).

Un aspecto final importante de la vía de las pentosas-fosfato consiste en la generación de NADPH (Figura 21.39). La forma reducida de esta coenzima redox se utiliza en la célula para las biosíntesis reductoras. Aunque la mayor parte de las células tienen un mecanismo para convertir el NADH en NADPH, esta importante coenzima se sintetiza directamente a través de la vía de las pentosas-fosfato.

www.elibros.com

21.17 Minirrevisión

Los polisacáridos abundan en la naturaleza y se pueden escindir en monómeros de hexosa o pentosa, y utilizarse como fuentes de carbono y reductores. El almidón y la celulosa son los polisacáridos más normales. La vía de las pentosas-fosfato es la principal manera de generar pentosas para la biosíntesis.

- ¿Qué es la fosforólisis?
- Qué disacáridos son muy frecuentes en la naturaleza?
- Qué funciones desempeña la vía de las pentosas-fosfato en la célula?

21.18 Metabolismo de los ácidos orgánicos

Los microorganismos pueden metabolizar distintos ácidos orgánicos como fuentes de carbono y donadores de electrones. Los ácidos del ciclo del ácido cítrico, como *citrato*, *malato*, *fumarato* y *succinato*, son productos naturales corrientes que se sintetizan en las plantas y también son productos de las fermentaciones microbianas. Como el ciclo del ácido cítrico tiene funciones biosintéticas importantes, así como energéticas (Sección 5.13), el ciclo completo o su mayor parte son casi universales en los microorganismos. Por lo tanto, no es sorprendente que muchos microorganismos sean capaces de utilizar intermediarios del ciclo del ácido cítrico como donadores de electrones y fuente de carbono.

Ciclo del glioxilato

A diferencia de la utilización de ácidos orgánicos que contienen de cuatro a seis carbonos, no se pueden utilizar ácidos de dos o tres carbonos como sustratos del crecimiento sólo mediante el ciclo del ácido cítrico. Lo mismo ocurre con los sustratos tales como los hidrocarburos y los lípidos, que se degradan a través de la oxidación, a acetil-CoA (Sección 21.19). El ciclo del ácido cítrico puede continuar funcionando sólo si la molécula aceptora, el ácido de cuatro carbonos oxaloacetato se regenera en cada vuelta del ciclo; cualquier pérdida de compuestos carbonados para las reacciones biosintéticas impediría terminar el ciclo (Figura 5.22).

Cuando se utiliza el acetato, el oxaloacetato necesario para continuar el ciclo se obtiene a través del **ciclo del glioxilato** (Figura 21.40), así llamado porque el glioxilato es un intermediario clave. Este ciclo está compuesto por la mayor parte de las reacciones del ciclo del ácido cítrico más dos enzimas adicionales: *isocitrato-liasa*, que escinde el isocitrato en succinato y glioxilato y *malato-sintasa*, que convierte el glioxilato y el acetil-CoA en malato (Figura 21.40).

La biosíntesis mediante el ciclo del glioxilato se produce de la siguiente forma: la división del isocitrato en

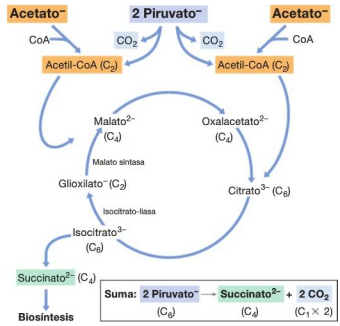


Figura 21.40 El ciclo del glioxilato, que conduce a la síntesis de oxalacetato a partir de acetato. Dos enzimas exclusivas, la isocitrato-liasa y la malato-sintasa, funcionan junto con la mayor parte de las enzimas del ciclo del ácido cítrico. Además de crecer en piruvato, el ciclo del glioxilato también funciona durante el crecimiento con acetato.

Libros.com

succinato y glioxilato permite emplear la molécula de succinato (u otro intermediario del ciclo del ácido cítrico que se derive de él) en la biosíntesis porque el glioxilato (C_2) se combina con el acetil-CoA (C_2) para formar malato (C_4). El malato se puede convertir en oxalacetato para mantener el ciclo del ácido cítrico después de que se haya extraído el intermediario C_4 (succinato). El succinato se utiliza para sintetizar porfirinas (necesarias para los citocromos, la clorofila y otros tetrapirroles) y también se puede oxidar a oxalacetato para hacer de esqueleto carbonado para los aminoácidos C_4 o se puede convertir en glucosa (a través de oxalacetato y fosfoenolpiruvato).

Utilización de piruvato y de C_3

Compuestos de tres carbonos como el piruvato o los compuestos que se pueden convertir en piruvato (por ejemplo, lactato o glúcidos) tampoco se pueden catabolizar sólo a través del ciclo del ácido cítrico. Como algunos de los intermediarios del ciclo del ácido cítrico se utilizan para la biosíntesis, el oxalacetato necesario para mantener el ciclo en marcha se sintetiza a partir de piruvato o fosfoenolpiruvato por la adición del átomo de carbono del CO_2. En algunos organismos, esta etapa está catalizada por la enzima piruvato-carboxilasa:

$$\text{Piruvato} + \text{ATP} + CO_2 \rightarrow \text{oxalacetato} + \text{ADP} + P_i$$

mientras que en otros está catalizada por la fosfoenolpiruvato-carboxilasa:

$$\text{Fosfoenolpiruvato} + CO_2 \rightarrow \text{oxalacetato} + P_i$$

Estas reacciones reemplazan el oxalacetato que se pierde cuando se retiran los intermediarios del ciclo del ácido cítrico para utilizarlos en la biosíntesis, y así el ciclo puede continuar funcionando.

21.18 Minirrevisión

Los ácidos orgánicos se metabolizan normalmente a través del ciclo del ácido cítrico o del ciclo del glioxilato. La isocitrato-liasa y la malato-sintasa son las enzimas clave del ciclo del glioxilato.

▮ ¿Por qué se necesita el ciclo del glioxilato para crecer en acetato pero no en succinato?

21.19 Metabolismo de los lípidos

Los lípidos abundan en la naturaleza. Las membranas citoplasmáticas de todas las células contienen lípidos, y muchos organismos producen materiales de reserva lipídicos y contienen lípidos en su pared celular. Estas sustancias son biodegradables y son sustratos excelentes para el metabolismo microbiano productor de energía. Por lo tanto, cuando las células mueren, sus lípidos se catabolizan para generar CO_2 que es el producto final.

Hidrólisis de grasa y fosfolípidos

Las grasas son ésteres de glicerol y ácidos grasos (Sección 3.4) y están fácilmente disponibles cuando los lípidos se liberan de los organismos muertos. Los microorganismos utilizan las grasas sólo después de la hidrólisis del enlace del éster que realizan unas enzimas extracelulares llamadas *lipasas* (**Figuras 21.41** y **21.42**). Las lipasas atacan los ácidos grasos de longitudes variables. Los fosfolípidos los hidrolizan unas enzimas llamadas *fosfolipasas*, a las que se asigna una letra diferente según el enlace éster que escinden en el lípido (Figura 21.42). Las fosfolipasas A y B escinden ésteres de *ácidos grasos*, mientras que las fosfolipasas C y D escinden ésteres de *fosfato* y, por lo tanto, son enzimas de clases diferentes. El resultado de la actividad de la lipasa es la liberación de ácidos grasos libres y glicerol, que pueden metabolizar después los microorganismos quimioorganótrofos.

Oxidación de ácidos grasos

Los ácidos grasos se oxidan por la *β-oxidación* , una serie de reacciones en la que en cada ciclo se separan dos carbonos del ácido graso (**Figura 21.43**). El ácido graso se activa primero con la coenzima A; la oxidación provoca la liberación de acetil-CoA y la formación de un nuevo ácido graso con dos átomos de carbono menos (Figura 21.43). El proceso de la β-oxidación se repite y se libera otra molécula de acetil-CoA.

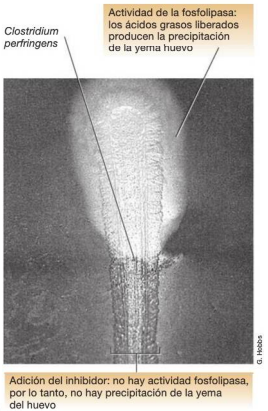


Figura 21.41 Actividad de la fosfolipasa. Actividad enzimática de la fosfolipasa alrededor de una estría de *Clostridium perfringens* que crece en medio con agar que contiene yema de huevo. En la mitad de la placa se añadió un inhibidor de la fosfolipasa que impide que la enzima actúe.

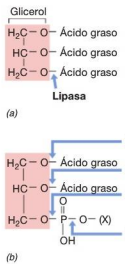


Figura 21.42 Lipasas. (a) Acción de las lipasas sobre una grasa. (b) Acción de la fosfolipasa sobre un fosfolípido. Se muestran los enlaces que escinde cada una de las fosfolipasas A, B, C y D. X designa un número de moléculas orgánicas pequeñas que se pueden encontrar en esta posición en diferentes fosfolípidos. Compárese este diagrama con la figura más completa de un fosfolípido en la Figura 3.7.

UNIDAD 4

www.medilibros.com

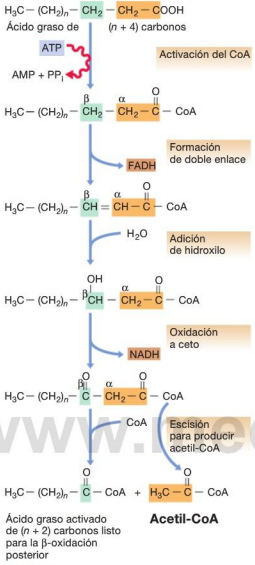


Figura 21.43 Oxidación. β-Oxidación de un ácido graso que conduce a la formación sucesiva de acetil-CoA.

Hay dos reacciones diferentes de deshidrogenación en la β-oxidación. En la primera, los electrones se transfieren al flavin-adenin-dinucleótido (FAD) para formar FADH, mientras que en la segunda se transfieren al NAD^+ para formar NADH. La mayor parte de los ácidos grasos de una célula tienen un número par de átomos de carbono, y la oxidación completa produce acetil-CoA. Si se catabolizan ácidos grasos de cadena par o ramificada, también se genera propionil-CoA o un ácido graso de cadena ramificada después de la β-oxidación, y luego se metabolizan en acetil-CoA mediante reacciones auxiliares o se excretan de la célula. A continuación, el acetil-CoA formado se oxida en el ciclo del ácido cítrico o se convierte en hexosas y otros constituyentes celulares a través del ciclo del glioxilato (Figura 21.40).

Como se encuentran muy reducidos, los ácidos grasos son unos magníficos donadores de electrones. Por ejemplo, la oxidación del ácido palmítico, un ácido graso saturado de 16 carbonos, da lugar a la síntesis neta de 129 moléculas de ATP a través de la fosforilación debida al transporte de electrones generado durante la formación de acetil-CoA en las β-oxidaciones y por la oxidación de las propias unidades de acetil-CoA en el ciclo del ácido cítrico (Figura 5.22).

21.19 Minirrevisión

Las grasas se metabolizan mediante la hidrólisis por lipasas o fosfolipasas a ácidos grasos más glicerol. Los ácidos grasos se oxidan por reacciones de β-oxidación a acetil-CoA que, luego, se oxidan a CO_2 mediante el ciclo del ácido cítrico.

- ¿Qué función tienen las fosfolipasas?
- ¿Qué se quiere decir con el término β-oxidación? ¿Cuántos electrones se liberan por cada acetil-CoA producido?

www.medilibros.com

Glosario de términos

Acetogenesis: metabolismo energético en el que el acetato se produce a partir de H_2 más CO_2 o a partir de compuestos orgánicos.

Anóxico: sin oxígeno.

Ciclo del glioxilato: una serie de reacciones, que incluye algunas reacciones del ciclo del ácido cítrico, que se utilizan para el crecimiento aerobio en ácidos orgánicos C_2 o C_3.

Decloración reductora (deshalorrespiración): respiración anaerobia en la que el compuesto orgánico clorado se utiliza como aceptor de electrones, normalmente con liberación de Cl^-.

Desnitrificación: respiración anaerobia en la que el NO_3^- o el NO_2^- se reduce a compuestos nitrogenados gaseosos, principalmente N_2.

Fermentación: catabolismo anaerobio de un compuesto orgánico en el que el compuesto sirve tanto de donador de electrones como de aceptor de electrones, y en el que el ATP se produce normalmente por fosforilación a nivel del sustrato.

Fermentación secundaria: una fermentación en la que los sustratos son los productos generados por la fermentación de otros organismos.

Heterofermentativo: que produce una mezcla de sustancias, normalmente lactato, etanol y CO_2, al fermentar la glucosa.

Hidrogenasa: una enzima, ampliamente distribuida en microorganismos anaerobios, capaz de oxidar o producir H_2.

Homofermentativo: que produce sólo ácido láctico al fermentar la glucosa.

Metanogenesis: producción biológica de metano.

Metanógeno: organismo que produce metano (CH_4).

Metanótrofo: organismo que puede oxidar metano.

Metilótrofo: organismo capaz de crecer en compuestos que no contienen enlaces C—C; algunos metilótrofos son metanótrofos.

Oxigenasa: enzima que cataliza la incorporación de oxígeno a partir de O_2 en compuestos orgánicos o inorgánicos.

Reacción de Stickland: fermentación de una pareja de aminoácidos.

Respiración anaerobia: respiración en la que alguna sustancia, como SO_4^{2-} o NO_3^-, se utiliza como aceptor de electrones final en vez de O_2.

Sintrofismo: proceso mediante el cual dos o más microorganismos cooperan para degradar una sustancia que no pueden degradar por sí solos.

Vía de acetil-CoA: una vía metabólica ampliamente distribuida en los anaerobios estrictos que convierte $H_2 + CO_2$ en acetato o que oxida el acetato a CO_2.

Vía de la ribulosa-monofosfato: una serie de reacciones en determinados metilótrofos en los que el formaldehído se asimila en material celular utilizando la ribulosa-monofosfato como molécula aceptora de C_1.

Vía de la serina: una serie de reacciones en determinados metilótrofos en las que el formaldehído junto al CO_2 se asimilan en material celular por medio del aminoácido serina.

Vía de las pentosas-fosfato: vía metabólica importante para producir y catabolizar las pentosas (azúcares C_5).

Preguntas de repaso

1. Defina el término fosforilación a nivel de sustrato. ¿En qué difiere de la fosforilación oxidativa? Suponiendo que un organismo es facultativo, ¿qué condiciones nutricionales básicas dictan si el organismo debe obtener la energía por fosforilación a nivel de sustrato en vez de la oxidativa (Sección 21.1)?
2. Aunque muchos compuestos son fermentables teóricamente, para mantener un proceso fermentativo, al final hay que convertir la mayor parte de los compuestos orgánicos en una que pertenece a un grupo de moléculas relativamente pequeño. ¿Qué moléculas son éstas y por qué se deben producir (Secciones 21.1 a 21.3)?
3. Ofrezca un ejemplo de una fermentación que no emplee la fosforilación a nivel de sustrato (Sección 21.4). ¿Cómo se conserva la energía en esta fermentación?
4. ¿Por qué el sintrofismo se llama también «transferencia interespecífica de H_2 (Sección 21.5)?
5. ¿Por qué es un aceptor de electrones mejor para la respiración anaerobia el NO_3^- que el SO_4^{2-} (Sección 21.6)?
6. En *Escherichia coli*, la síntesis de la enzima nitrato reductasa se reprime por oxígeno. A partir de los argumentos bioenergéticos. ¿Por qué cree que esta represión tuvo que aparecer (Sección 21.7)?
7. ¿Por qué la hidrogenasa es una enzima constitutiva en *Desulfovibrio* (Sección 21.8)?
8. Compare los acetogénicos con los metanógenos en términos de 1) los sustratos y productos de su metabolismo energético, 2) la capacidad de usar compuestos orgánicos como donadores de electrones en el metabolismo energético y 3) filogenia (Secciones 21.9 y 21.10; también le será útil revisar el material del Sección 17.4 antes de preparar su respuesta).
9. ¿Por qué se puede decir que en la glucólisis de *Pyrococcus furiosus* se producen al mismo tiempo tanto la fermentación como la respiración anaerobia (Sección 21.11)?
10. Compare la reducción del hierro férrico con la decloración reductora en términos de 1) el producto de la reducción y 2) importancia medioambiental (Sección 21.12).
11. ¿Cómo pueden las bacterias reductoras de sulfato y las desnitrificantes degradar los hidrocarburos sin la participación de las oxigenasas (Secciónes 21.13 a 21.15)?
12. ¿En qué se diferencian las reacciones que catalizan las monooxigenasas y las dioxigenasas (Sección 21.14)?
13. ¿En qué se diferencia un metanótrofo de un metanógeno? ¿En qué se diferencian los patrones de asimilación del carbono en los metanótrofos de tipo I y II (Sección 21.16)?
14. Compare la conversión de celulosa y almidón intracelular a unidades de glucosa. ¿Qué enzimas intervienen y qué proceso es el más eficaz en términos energéticos (Sección 21.17)?
15. ¿Cuál es la función principal del ciclo del glioxilato (Sección 21.18)?
16. ¿Cuál es el producto de la oxidación , de un ácido graso? ¿Cómo se oxida este producto a CO_2 (Sección 21.19)?

Ejercicios prácticos

1. Cuando se genera metano a partir de CO_2 (más H_2) o a partir de metanol (en ausencia de H_2), se utilizan varias etapas en la vía que se muestra en las Figuras 21.21 y 21.22. Compare la metanogenesis a partir de estos dos sustratos y comente por qué hay que metabolizarlos en direcciones opuestas.
2. Aunque el dextrano es un polímero de la glucosa, ésta no se puede utilizar para fabricar el dextrano. Explíquelo. ¿Por qué resulta importante la síntesis del dextrano en la higiene bucal (Sección 28.3)?
3. ¿Por qué un ácido graso como el butirato no puede fermentarse en un cultivo axénico, mientras que su catabolismo anaerobio en otras condiciones se produce sin problemas en un cultivo axénico? ¿Qué condiciones son éstas y por qué no permiten catabolizar ahora el butirato? Entonces ¿cómo se puede fermentar el butirato en el cultivo mixto?

UNIDAD 4

22

Métodos de ecología microbiana

I ANÁLISIS DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS BASADOS EN TÉCNICAS DE CULTIVO 721

22.1 Enriquecimiento y aislamiento 721

22.2 Aislamiento en cultivo axénico 725

II ANÁLISIS DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS BASADOS EN TÉCNICAS INDEPENDIENTES DE CULTIVO 727

22.3 Métodos generales de tinción 727

22.4 FISH 730

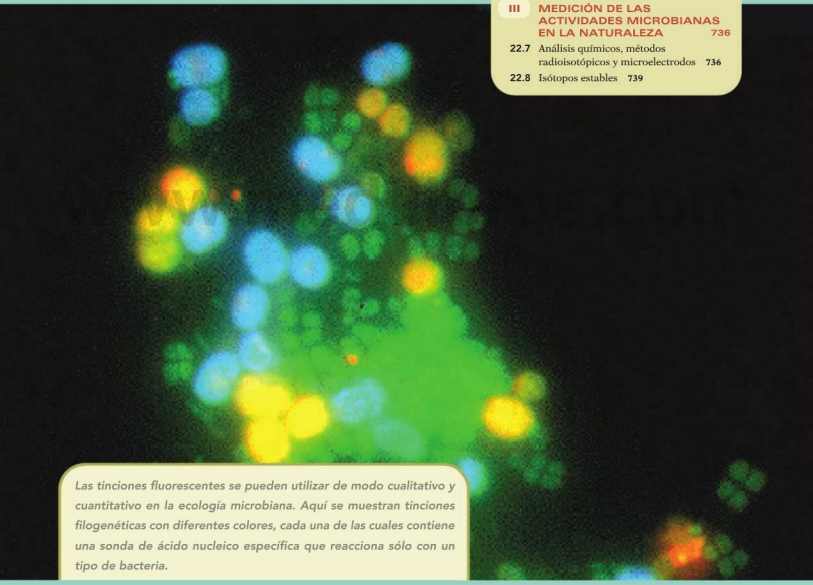
22.5 Relacionar genes específicos con organismos específicos mediante PCR 732

22.6 Genómica medioambiental 735

III MEDICIÓN DE LAS ACTIVIDADES MICROBIANAS EN LA NATURALEZA 736

22.7 Análisis químicos, métodos radioisotópicos y microelectrodos 736

22.8 Isótopos estables 739



Las tinciones fluorescentes se pueden utilizar de modo cualitativo y cuantitativo en la ecología microbiana. Aquí se muestran tinciones filogenéticas con diferentes colores, cada una de las cuales contiene una sonda de ácido nucleico específica que reacciona sólo con un tipo de bacteria.

En el Capítulo 1, aprendimos que, en la naturaleza, los microorganismos existen en poblaciones de células en interacción llamadas *comunidades microbianas*. La ciencia de la **ecología microbiana** trata de cómo interaccionan las comunidades microbianas unas con otras y con su ambiente.

Los componentes principales de la ecología microbiana son la *biodiversidad* y la *actividad microbiana.* Para estudiar la biodiversidad, los ecólogos microbianos deben ser capaces de identificar y cuantificar microorganismos directamente en sus hábitats. Saber esto ayuda a menudo a aislar organismos de interés, otro objetivo importante de la ecología microbiana. Para estudiar la actividad microbiana, hay que contar con técnicas para medir los procesos metabólicos importantes que los microorganismos realizan en sus hábitats microbianos. Este capítulo se explican varias herramientas importantes que los ecólogos microbianos utilizan para tomar estas mediciones.

En este capítulo, consideramos el enriquecimiento y el aislamiento de microorganismos, los métodos de tinción de células generales y específicos, el aislamiento y la caracterización de genes, y los métodos para medir las actividades de microorganismos *in situ* (en su ambiente). El Capítulo 23 describe los principios básicos de la ecología microbiana y examina los tipos de ambientes en los que los microorganismos habitan. El Capítulo 24 completa nuestra cobertura de la ecología microbiana con una consideración de los ciclos de nutrientes y la microbiología de los hábitats microbianos especializados, por ejemplo, el rumen de los animales rumiantes y los nódulos de las raíces de las plantas leguminosas. Con las herramientas que se describirán en este capítulo, los ecólogos microbianos pueden definir la estructura y la función de casi cualquier comunidad microbiana.

I ANÁLISIS DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS BASADOS EN TÉCNICAS DE CULTIVO

La ecología microbiana utiliza numerosos métodos de cultivo y métodos independientes del cultivo. Comenzamos considerando las posibilidades del cultivo de los organismos de la naturaleza en el laboratorio. Existen métodos clásicos y otros ultratecnológicos para aislar microorganismos a partir de muestras naturales, y examinamos ambos aquí.

22.1 Enriquecimiento y aislamiento

Un modo de estudiar un ecosistema microbiano consiste en aislar de él los microorganismos y estudiar sus propiedades en cultivos de laboratorio. Luego, a partir del conocimiento de los organismos presentes y de sus capacidades metabólicas, se extraen conclusiones referentes a cómo funciona el ecosistema microbiano. El aislamiento también es importante porque se obtienen cultivos para estudios experimentales en el laboratorio y para aplicaciones en los campos de la biotecnología y la microbiología industrial y ambiental.

El aislamiento requiere separar diferentes organismos de su comunidad microbiana, un procedimiento llamado *enriquecimiento* y, luego, obtener los organismos en cultivo axénico. En un **cultivo de enriquecimiento**, se establecen un medio y una serie de condiciones de incubación que sean selectivas para el organismo deseado y contraselectiva para los no deseados. Los cultivos de enriquecimiento eficaces reproducen lo mejor posible los recursos y las condiciones de un nicho ecológico determinado. Se han concebido cientos de estrategias de enriquecimiento diferentes en la bibliografía, y las **Tablas 22.1** y **22.2** proporcionan una visión general de algunas de las exitosas.

Inóculos

Los cultivos de enriquecimiento exitosos requieren un inóculo adecuado que contenga el organismo de interés. Por lo tanto, los cultivos de enriquecimiento comienzan tomando muestras del hábitat adecuado (Tablas 22.1 y 22.2). Los cultivos de enriquecimiento se establecen sembrando el inóculo en un medio selectivo e incubándolo en condiciones específicas. De este modo, se pueden aislar muchos procariotas. Por ejemplo, el gran microbiólogo holandés Martinus Beijerinck, que puso en práctica la técnica del cultivo de enriquecimiento (Sección 1.9), aisló por primera vez la bacteria fijadora del N_2 *Azotobacter* mediante una estrategia de enriquecimiento clásica (**Figura 22.1**). Como *Azotobacter* es un bacteria que crece rápidamente fijando el N_2 en el aire, los medios de enriquecimiento carentes de amoníaco u otras formas de nitrógeno fijado, e incubados con aire, son muy selectivos para este organismo. En este caso se contraseleccionan las bacterias no fijadoras del nitrógeno o las bacterias fijadoras de nitrógeno anaerobias (Figura 22.1).

Resultados del cultivo de enriquecimiento

Para tener éxito con los cultivos de enriquecimiento, es importante prestar atención al medio de cultivo y a las condiciones de incubación. Es decir, tanto los *nutrientes* como las *condiciones* (temperatura, pH, consideraciones osmóticas y similares) se deben optimizar en un cultivo de enriquecimiento para tener más posibilidades de obtener el organismo buscado (Tabla 23.1). Algunos cultivos de enriquecimiento no dan nada, quizá porque el organismo capaz de crecer en las condiciones de enriquecimiento específicas no estaba en el hábitat (es decir, cada organismo no está en todas partes). Alternativamente, se podría producir un enriquecimiento negativo incluso aunque el organismo de interés exista en el hábitat muestreado, porque los nutrientes y las condiciones para su cultivo en el laboratorio fueron insuficientes para enri-

Tabla 22.1 Algunos métodos de cultivo de enriquecimiento para bacterias fotótrofas y quimiolitótrofas

Bacterias fotótrofas con luz: CO_2 como principal fuente de C		
Incubación en el aire	***Organismos enriquecidos***	***Inóculo***
N_2 como fuente de nitrógeno	Cianobacterias	Aguas de charcas o lacustres; lodos ricos en sulfuro; aguas estancadas; aguas residuales sin tratar; lecho de hojas descompuestas y húmedas; suelo húmedo expuesto a la luz
NO_3^- como fuente de nitrógeno, 55 °C	Cianobacterias termófilas	Tapete microbiano de fuentes termales
Incubación anóxica		
H_2 o ácidos orgánicos; N_2 como única fuente de nitrógeno	Bacterias púrpuras no del azufre, heliobacterias	Lo mismo que antes más aguas lacustres hipolimnéticas; suelo pasteurizado (heliobacterias); tapetes microbianos para especies termófilas
H_2S como donador de electrones	Bacterias púrpuras y verdes del azufre	
Fe^{2+}, NO_2^- como donador de electrones	Bacterias púrpuras	

Bacterias quimiolitótrofas en oscuridad: CO_2 como principal fuente de C (el medio debe carecer de C orgánico)			
Incubación en presencia de aire: respiración aerobia			
Donador de electrones	***Aceptor de electrones***	***Organismos enriquecidos***	***Inóculo***
NH_4^+	O_2	Bacterias oxidadoras de amoníaco (*Nitrosomonas*)	Suelo, lodo y aguas residuales
NO_2^-	O_2	Bacterias oxidadoras de nitritos (*Nitrobacter, Nitrospira*)	
H_2	O_2	Bacterias del hidrógeno (varios géneros)	
H_2S, S^0, $S_2O_3^{2-}$	O_2	Especies de *Thiobacillus*	
Fe^{2+}, pH bajo	O_2	*Acidithiobacillus* ferrooxidans	
Incubación anóxica			**Inóculo**
S^0, $S_2O_3^{2-}$	NO_3^-	*Thiobacillus denitrificans*	Lodo, sedimentos lacustres, suelo
H_2	NO_3^- + extracto de levadura	*Paracoccus denitrificans*	

www.medilibros.com

Tabla 22.2. Algunos métodos de cultivo de enriquecimiento para las bacterias quimioorganótrofas y anaerobias estrictas[a]

Bacterias quimioorganótrofas en oscuridad			
Incubación en presencia de aire: respiración aerobia			
Donador de electrones y fuente de nitrógeno	***Aceptor de electrones***	***Organismos típicos enriquecidos***	***Inóculo***
Lactato + NH_4^+	O_2	*Pseudomonas fluorescens*	Suelo, lodo; sedimentos lacustres, vegetación en descomposición; pasteurícese el inóculo (80 °C durante 15 minutos) para todos los enriquecimientos de Bacillus
Benzoato + NH_4^+	O_2	*Pseudomonas fluorescens*	
Almidón + NH_4^+	O_2	*Bacillus polymyxa*, otras especies de Bacillus	
Etanol (4%) + extracto de levadura al 1%, pH 6	O_2	*Acetobacter, Gluconobacter*	
Urea (5%) + extracto de levadura al 1%	O_2	*Sporosarcina ureae*	
Hidrocarburos (por ejemplo, aceite mineral, gasolina, tolueno) + NH_4^+	O_2	*Mycobacterium, Nocardia, Pseudomonas* (Figura 24.19)	
Celulosa + NH_4^+	O_2	*Cytophaga, Sporocytophaga* (Figura 16.36)	
Manitol o benzoato, N_2 como fuente de N	O_2	*Azotobacter*	
Incubación anóxica: respiración anaerobia			
Donador de electrones	***Aceptor de electrones***	***Organismos enriquecidos***	***Inóculo***
Ácidos orgánicos	KNO_3	*Pseudomonas* (especies desnitrificantes)	Suelo, lodo; sedimentos lacustres
Extracto de levadura	KNO_3	*Bacillus* (especies desnitrificantes)	

Ácidos orgánicos	Na_2SO_4	*Desulfovibrio, Desulfotomaculum*	
Acetato, propionato, butirato	Na_2SO_4	Reductores de sulfato que oxidan ácidos grasos	Como los anteriores; o cieno digestor de aguas residuales; contenidos del rumen; sedimentos marinos
Acetato, etanol	S^0	*Desulfuromonas*	
Acetato	Fe^{3+}	*Geobacter, Geospirillum*	
Acetato	ClO_3^-	Varias bacterias reductoras del clorato	
H_2	Na_2CO_3	Metanógenos (sólo especies quimiolitótrofas), homoacetógenos	Lodo, sedimentos, cieno de aguas residuales
CH_3OH	Na_2CO_3	*Methanosarcina barkeri*	
CH_3NH_2 o CH_3OH	KNO_3	*Hyphomicrobium*	
Hidrocarburos	Na_2SO_4 o KNO_3	Bacterias que degradan hidrocarburos en condiciones anóxicas	Agua dulce o sedimentos marinos
Incubación anóxica: fermentación			
Donador de electrones y fuente de nitrógeno	***Aceptor de electrones***	***Organismos enriquecidos***	***Inóculo***
Glutamato o histidina	No se añade ningún aceptor de electrones exógeno	*Clostridium tetanomorphum* y otras especies proteolíticas de *Clostridium*	Lodo, sedimentos lacustres, material vegetal o animal en descomposición; productos lácteos (bacterias de los ácidos láctico y propiónico); contenido del rumen o del intestino (bacterias entéricas); cieno de aguas residuales; suelo; pasteurícese el inóculo para enriquecimientos de *Clostridium*
Almidón + NH_4^+	Ninguno	Especies de *Clostridium*	
Almidón + N_2 como fuente N	Ninguno	*Clostridium pasteurianum*	
Lactato + extracto de levadura	Ninguno	Especies de *Veillonella*	
Glucosa o lactosa + NH_4^+	Ninguno	*Escherichia, Enterobacter,* otros organismos fermentadores	
Glucosa + extracto de levadura (pH 5)	Ninguno	Bacterias del ácido láctico (*Lactobacillus*)	
Lactato + extracto de levadura	Ninguno	Bacterias del ácido propiónico	
Succinato + NaCl	Ninguno	*Propionigenium*	
Oxalato	Ninguno	*Oxalobacter*	

[a] Todos los medios deben contener diversas de sales minerales, entre ellas N, P, S, Mg^{2+}, Mn^{2+}, Fe^{2+}, Ca^{2+} y otros oligoelementos (Secciones 5.1 a 5.3). Algunos microorganismos pueden requerir vitaminas u otros factores del crecimiento. Esta tabla constituye una visión general de los métodos de enriquecimiento y no considera el efecto que la temperatura de incubación pueda tener al aislar especies termófilas (temperatura elevada), hipertermófilas (temperatura muy elevada) y psicrófilas (temperatura baja), o el efecto que puedan tener el pH o la salinidad extremos, suponiendo que se dispone del inóculo adecuado.

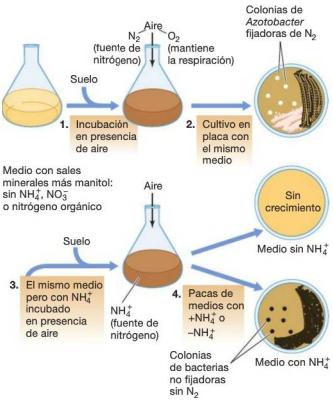
www.mdlibros.com

quecerlo. Por lo tanto, los cultivos de enriquecimiento son una prueba de que un organismo con determinadas capacidades exista en un ambiente particular, si salen positivos. Pero nunca de que tal organismo no existe si salen negativos. Además, el aislamiento del organismo deseado a partir de un cultivo de enriquecimiento no dice nada acerca de la importancia ecológica o de la abundancia del organismo en su hábitat; un enriquecimiento positivo demuestra sólo que el organismo estaba presente en la muestra y que, en teoría, requiere que sólo esté presente una única célula viable.

La columna de Winogradsky

La **columna de Winogradsky** es un ecosistema microbiano artificial que sirve como una fuente a largo plazo de bacterias para los cultivos de enriquecimiento. Se han utilizado columnas de Winogradsky habitualmente para aislar bacterias púrpuras y verdes fotótrofas, bacterias reductoras del sulfato y muchos otros anaerobios (**Figura 22.2**). Se denomina así por el famoso microbiólogo ruso Sergei Winogradsky (Información adicional «El legado de Winogradsky», Capítulo 20 y Sección 1.9), quien la utilizó por primera vez a finales del siglo XIX para estudiar los microorganismos del suelo.

La columna de Winogradsky se prepara rellenando un cilindro de vidrio aproximadamente hasta la mitad con lodo rico en sustancias orgánicas, que contenga preferiblemente sulfuro (Figura 22.2), y que se ha mezclado con sustratos carbonados. Los sustratos determinarán qué organismos se enriquecerán, y se evitan los sustratos fer-



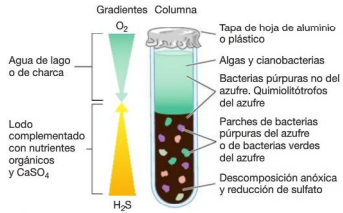


Figura 22.1 **Aislamiento de *Azotobacter*.** La selección de bacterias aerobias fijadoras de N_2 da lugar por lo general al aislamiento de *Azotobacter* o especies relacionadas. Por el contrario, cuando se enriquece con formas fijadas de nitrógeno tales como NH_4^+, raramente se obtienen bacterias que fijen el N_2 porque la presión selectiva de la fijación del nitrógeno se ha perdido. *Véase* la Sección 1.9 y la Figura 1.17 para más información sobre la importancia histórica de la bacteria *Azotobacter*.

mentables (como la glucosa) que pueden conducir a la formación excesiva de gas. El lodo se complementa con $CaCO_3$ y $CaSO_4$ como tampón y como fuente de sulfato, respectivamente. El lodo se compacta en el envase (procurando no atrapar aire) y luego se cubre con agua de un lago, charca o de acequia (o agua de mar si se prepara una columna marina). El cilindro se tapa para evitar la evaporación (Figura 22.2) y se coloca cerca de una ventana que reciba luz solar atenuada para que se desarrolle durante meses.

En una columna de Winogradsky típica se desarrolla una comunidad diversa de organismos. Las algas y cianobacterias aparecen rápidamente en las capas superiores de la columna de agua y, al producir O_2, ayudan a mantener esta zona de la columna óxica. Los procesos de descomposición en el lodo conducen a la producción de ácidos orgánicos, alcoholes y H_2, sustratos adecuados para las bacterias reductoras de sulfato (Sección 15.18). El sulfuro generado por los reductores de sulfato provoca el desarrollo de bacterias púrpuras y verdes del azufre (fotótrofos anoxigénicos, Secciones 15.2 y 16.15) que

Figura 22.2 **La columna de Winogradsky.** *(a)* Esquema de una columna típica. La columna se incuba de manera que reciba luz solar atenuada. Las bacterias quimioorganótrofas crecen por toda la columna, los aerobios y los microaerófilos en la parte superior, y los anaerobios en las zonas que contienen H_2S. La descomposición anóxica que conduce a la reducción de sulfato crea el gradiente de H_2S. Las bacterias verdes y púrpuras del azufre se estratifican de acuerdo a su tolerancia al H_2S. *(b)* Foto de columnas de Winogradsky que han permanecido anóxicas hasta la parte superior; cada columna tenía un crecimiento intenso de diferentes bacterias fotótrofas. De izquierda a derecha: *Thiospirillum jenense, Chromatium okenii*, (ambas son bacterias púrpuras del azufre) y *Chlorobium limicola* (bacteria verde del azufre).

utiliza el sulfuro como donador de electrones para la fotosíntesis. Estos organismos normalmente crecen en parches en el lodo a los lados de la columna, pero pueden crecer profusamente en el agua si escasean los fotótrofos oxigénicos (Figura 22.2*b*). El material pigmentado se puede muestrear con una pipeta y utilizarlo para microscopia, aislamiento y caracterización (Tablas 22.1 y 22.2).

Se han utilizado columnas de Winogradsky para enriquecer numerosos procariotas, tanto aerobios como anaerobios. Además de ser una fuente rápida de inóculos para cultivos de enriquecimiento, las columnas también se pueden complementar con un compuesto inusual para comprobar la hipótesis de que existe un organismo u organismos en el inóculo que lo pudieran degradar. Una vez que se ha establecido un enriquecimiento crudo en la columna, se pueden inocular medios del cultivo para conseguir cultivos axénicos, como se discutirá en el próximo apartado. **www.microbiologyplace.com Tutorial online 22.1: Cultivos de enriquecimiento.**

Sesgo en el enriquecimiento

Aunque la técnica del cultivo de enriquecimiento sea una herramienta poderosa, en los enriquecimientos típicos se produce un sesgo, que a veces llega a ser muy grave, en el resultado. Este sesgo normalmente es más profundo en cultivos de enriquecimiento líquidos donde dominan los organismos que crecen más rápidamente en las condiciones elegidas. Sin embargo, actualmente sabemos que los organismos que crecen más rápidamente en los cultivos de laboratorio a menudo son, desde el punto de vista de la abundancia, sólo componentes menores del ecosistema microbiano en vez de ser los organismos más ecológicamente relevantes que llevan a cabo el proceso de interés. Esto se debe a que la concentración de los recursos disponibles en los cultivos de laboratorio son normalmente mucho mayores que los que se encuentran en la naturaleza, y las condiciones en el hábitat, incluidos tanto los tipos como las proporciones de organismos presentes y las condiciones físicas y químicas, son casi imposibles de reproducir y mantener durante mucho tiempo en los cultivos de laboratorio.

Se puede demostrar el **sesgo en el enriquecimiento** al comparar los resultados obtenidos con la dilución de cultivos (*véase* más adelante) y con un enriquecimiento líquido clásico. La dilución del inóculo seguida de un enriquecimiento líquido o sembrado en placas a menudo da lugar a organismos diferentes que los enriquecimientos líquidos establecidos con el mismo inóculo sin diluir. Se piensa que la dilución del inóculo elimina especies no deseables que son cuantitativamente insignificantes pero que crecen rápidamente, y esto permite que se desarrollen otros organismos de la comunidad que con frecuencia son más abundantes. Por lo tanto, la dilución del inóculo es una práctica corriente en la microbiología de cultivos de enriquecimiento de hoy en día.

22.1 Minirrevisión

La técnica del cultivo de enriquecimiento sirve para obtener microorganismos a partir de muestras naturales. Se pueden estudiar reacciones específicas por este método mediante la elección de medios y condiciones de incubación selectivos para los organismos capaces de realizar la reacción.

- Describa la estrategia de enriquecimiento de Beijerinck para aislar *Azotobacter*.
- ¿Por qué se añade sulfato (SO_4^{2-}) a una columna de Winogradsky?
- ¿Qué es el sesgo en el enriquecimiento?

22.2 Aislamiento en cultivo axénico

Se puede obtener de muchos modos un cultivo axénico (puro) —el que contiene una sola clase de microorganismo— a partir de cultivos de enriquecimiento. Los procedimientos de aislamiento habituales incluyen la siembra en placa por estrías, la siembra en profundidad (*agar shake*) y la dilución líquida. Para los organismos que forman colonias sobre placas de agar, la siembra por estrías es rápida y fácil, y el método de elección (**Figura 22.3a**); si se escoge una colonia bien aislada y se vuelve a sembrar por estrías varias veces seguidas, lo normal es obtener un cultivo axénico. Con los medios de incubación adecuados (por ejemplo, matraces anóxicos para anaerobios, Sección 6.17), es posible purificar ambos aerobios y anaerobios en placas de agar mediante en método de siembra por estrías.

Tubos de dilución en agar y técnica del número más probable (NMP)

En el método del tubo de dilución en agar, se diluye un cultivo mixto en tubos de agar fundido, lo que da lugar a colonias embebidas en agar en vez de crecer en la superficie de una placa con agar (Figura 22.3*b*). Los tubos de dilución son útiles para purificar organismos anaerobios como las bacterias fotótrofas del azufre y bacterias reductoras de azufre a partir de muestras tomadas de las columnas de Winogradsky. Un cultivo se purifica mediante diluciones sucesivas de suspensiones de células en tubos con medio con agar fundido (Figura 22.3*b*). Al repetir este procedimiento utilizando una colonia del tubo de mayor dilución como inóculo para una nueva serie de diluciones, se obtienen finalmente cultivos axénicos. En un procedimiento relacionado llamado el *método del tubo giratorio* se emplean tubos que contienen una capa delgada de agar sobre su superficie interior. A continuación se puede estriar el agar para aislar colonias.; como los tubos se pueden lavar con un gas sin oxígeno mientras se estrían, el método del tubo giratorio se utiliza principalmente para aislar procariotas anaerobios.

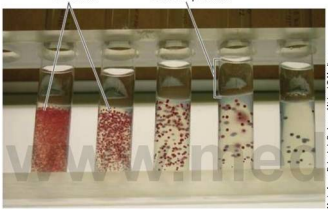


Figura 22.3 **Métodos de cultivo axénico**. *(a)* Los organismos que forman colonias independientes sobre las placas normalmente son fáciles de purificar. *(b)* Colonias de bacterias púrpuras fotótrofas en tubos de dilución en agar. Se estableció una serie de diluciones de izquierda a derecha, que finalmente produjo colonias bien aisladas. Los tubos se sellan con aceite mineral estéril para mantener la anaerobiosis.

Otro procedimiento de purificación consiste en realizar diluciones seriadas de un inóculo en un medio líquido hasta que el último tubo de la serie no muestre crecimiento. Por ejemplo, utilizando diluciones seriadas de diez en diez, el último tubo que muestra crecimiento se debe haber originado a partir de diez o menos células. Al repetir este procedimiento varias veces, se pueden obtener cultivos axénicos. Este método se conoce como la **técnica del número más probable (NMP)** (**Figura 22.4**) y se ha utilizado para estimar el número de microorganismos en los alimentos, aguas residuales y otras muestras en las que el número de células se debe evaluar sistemáticamente. Se puede realizar un recuento del NMP utilizando medios muy selectivos y condiciones selectivas de incubación dirigidas a uno o a un grupo pequeño de organismos, como un patógeno determinado, o utilizar medios complejos

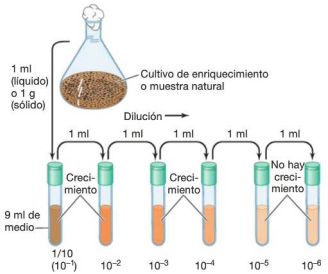


Figura 22.4 **Procedimiento para el análisis del número más probable**. Se añade un cultivo de enriquecimiento existente o una muestra natural de agua, suelo, etc., a un medio de cultivo selectivo y se realizan diluciones en serie. El último tubo que muestra crecimiento (en el ejemplo mostrado es la dilución 10^{-4}) se debe haber desarrollado a partir de 10 células o menos. La utilización de varios tubos replicados para cada dilución mejora la exactitud del NMP final obtenido.

www.medilibros.com

para obtener una estimación de número de células viables y cultivables (consulte las precauciones que hay que tener con tales estimaciones en la Sección 6.19). **www.microbiologyplace.com** **Tutorial online 22.2: Diluciones en serie y análisis del número más probable.**

Criterios de pureza

Independientemente de los métodos utilizados para purificar un cultivo, una vez que se ha obtenido un cultivo supuestamente axénico, es esencial verificar su pureza. Hay que emplear una combinación de 1) microscopía, 2) observación de las características de la colonia en placa o tubos de siembra en profundidad y 3) comprobación del crecimiento del cultivo en otros medios, para lo que resulta importante utilizar medios en los que se prevé que el organismo deseado crecerá poco o nada, pero que favorecen el crecimiento de los organismos contaminantes. En el análisis final, la observación microscópica de un único tipo morfológico de célula con métodos de tinción uniformes (por ejemplo, en una tinción de Gram), junto a unas características uniformes de la colonia y ausencia de contaminación en las pruebas de crecimiento con varios medios de cultivo, es una buena prueba de que el cultivo es *axénico* (puro).

Sondas para cultivos axénicos: las pinzas de láser

Además de los métodos más clásicos descritos, los avances tecnológicos en la microscopia han producido nuevas herramientas para obtener cultivos axénicos, como las **pinzas de láser**.

Las pinzas de láser consisten en un microscopio óptico invertido equipado con un láser infrarrojo enfocado con precisión y un dispositivo de micromanipulación (**Figura 22.5**). Se puede atrapar una única célula porque el haz de láser crea una fuerza que empuja hacia abajo sobre una célula microbiana (u otro objeto pequeño) y lo mantiene en su lugar. Entonces, cuando se mueve el haz de láser, la célula atrapada se desplaza con él. Si una muestra mezclada se encuentra en un tubo capilar, se puede atrapar ópticamente una única célula y separarla de los organismos contaminantes. Después se puede aislar la célula rompiendo el tubo en un punto entre la célula y los contaminantes, y llevando la célula a un tubo pequeño de un medio estéril (Figura 22.5).

Las pinzas de láser son especialmente útiles para aislar bacterias que crecen lentamente, que pueden ser superadas por otras especies de crecimiento rápido presentes en los cultivos de enriquecimiento o para organismos presentes en tan poca cantidad que se podrían perder con los métodos de enriquecimiento basados en diluciones. Unido al uso de tinciones que identifican específicamente organismos en un campo de microscopio (Sección 22.4), se pueden utilizar las pinzas de láser para seleccionar organismos de interés a partir de una mezcla de purificación y estudiarlo posteriormente en el laboratorio.

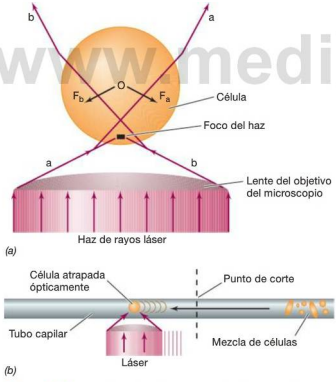


Figura 22.5 Las pinzas de láser para el aislamiento de células únicas. *(a)* Principio de las pinzas de láser. Un haz de rayos láser, enfocado con precisión sobre un objeto muy pequeño como una célula, crea unas fuerzas de radiación descendentes (F_a, F_b) que permiten que se desplace en cualquier dirección. *(b)* Aislamiento. El haz de láser puede bloquear una única célula presente en una mezcla en un tubo capilar y desplazarla de la otras células al estar atrapada ópticamente. Una vez que la célula deseada se ha separado lo suficiente de las otras células, se corta el capilar y se coloca la célula en un tubo de un medio estéril.

22.2 Minirrevisión

Una vez que se ha establecido un cultivo de enriquecimiento exitoso, a menudo se pueden obtener cultivos axénicos mediante procedimientos microbiológicos convencionales, como la siembra de placas en estrías, siembra en profundidad en agar y métodos de dilución. Las pinzas de láser permiten aislar una célula a partir de un campo al microscopio y separarla de los contaminantes.

- ¿En qué se diferencia el método de siembra en profundidad del método de siembra en estrías para obtener colonias aisladas?
- En un NMP (Figura 22.4), ¿por qué el número real de células cultivables por muestra probablemente se encuentre entre el inverso de la dilución más elevada que muestra crecimiento y la siguiente dilución?
- ¿Cómo se podría aislar una bacteria morfológicamente singular presente en un cultivo de enriquecimiento en cantidades relativamente bajas?

UNIDAD 4

www.medilibros.com

II ANÁLISIS DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS BASADOS EN TÉCNICAS INDEPENDIENTES DE CULTIVO

Los ecólogos microbianos cuantifican las células de un hábitat microbiano para estimar la abundancia relativa. Las tinciones celulares son necesarias para obtener estos tipos de datos, y detallamos estos métodos aquí. Los organismos en los ambientes naturales también se pueden detectar analizando sus genes. Los genes que codifican el RNA ribosómico (Sección 14.6 a 14.9) o las enzimas que sirven para mantener una fisiología específica constituyen las dianas usuales en estos estudios. La genómica medioambiental (Sección 22.6) es un método para evaluar el complemento de genes de un hábitat, lo que revela la biodiversidad y las capacidades metabólicas de la comunidad microbiana al mismo tiempo.

22.3 Métodos generales de tinción

Varios métodos de tinción se adecuan a la cuantificación de microorganismos en muestras naturales. Aunque estos métodos no dan pistas sobre la fisiología o la filogenia

de las células, los ecólogos microbianos los utilizan ampliamente para determinar el número total de células por su fiabilidad.

Tinción fluorescente con DAPI o naranja de acridina

Los colorantes fluorescentes se pueden utilizar para teñir microorganismos a partir de casi cualquier hábitat microbiano. El **DAPI** (4′,6-diamido-2-fenilindol) es un colorante muy habitual para este propósito, al igual que el **naranja de acridina**. Las células teñidas con DAPI emiten fluorescencia azul brillante, mientras que las células teñidas con naranja de acridina se tiñen de naranja o naranja verdoso (**Figura 22.6**). Ambas tinciones se unen al DNA y son muy fluorescentes cuando se exponen a la radiación ultravioleta (máximo de absorción del DAPI: 400 nm) o luz verde (máximo de absorción del naranja de acridina: 500 nm), lo que hace que las células microbianas de la muestra se vean y recuenten con facilidad (Figura 22.6).

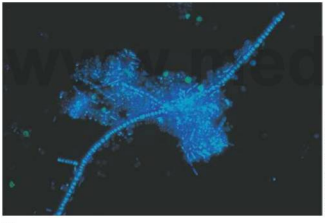
El DAPI y la tinción de naranja de acridina se utilizan ampliamente para la enumeración de microorganismos en muestras medioambientales, clínicas y de alimentos. Según la muestra, la tinción de fondo se convierte de vez en cuando un problema con las tinciones fluorescentes, pero como el DAPI y la naranja de acridina tiñen los ácidos nucleicos, reaccionan poco con la materia inerte. Por lo tanto, para muchas muestras de suelo o acuáticas, la tinción de DAPI/naranja de acridina proporciona una estimación razonable del número de células presentes. Para las muestras acuáticas diluidas, hay que filtrar las células antes de teñirlas.

La tinción con DAPI y naranja de acridina es inespecífica: se teñirán *todos* los microorganismos de una muestra. Aunque al principio puede parecer una propiedad deseable, no es necesariamente así. Por ejemplo, el DAPI y el naranja de acridina no diferencian entre las células vivas y las muertas, ni entre diferentes especies de microorganismos y, por lo tanto, no se pueden utilizar para evaluar la viabilidad celular ni para rastrear organismos específicos en un ambiente.

Tinción de viables

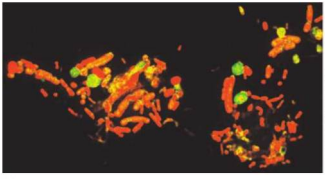
La tinción de viables permite diferenciar las células vivas de las muertas, por lo que informa del número de organismos y su viabilidad al mismo tiempo. La base de la tinción está relacionada con la integridad de la membrana citoplasmática de una célula, si está intacta (viva) o no (muerta). Se añaden dos colorantes, verde y rojo, a una muestra; el colorante fluorescente verde penetra todas las células, viables o no, mientras que el rojo, que contiene yoduro de propidio, penetra sólo aquellas células cuya membrana citoplasmática ya no está intacta y que, por lo tanto, están muertas. Por lo tanto, cuando se observan al microscopio, las células verdes se consideran vivas y las rojas como muertas, lo que produce una evaluación instantánea de la abundancia y la viabilidad (**Figura 22.7**).

Aunque resulta útil para la investigación que utiliza cultivos de laboratorio, el método de tinción vivas/muertas



Marc Mussmann y Michael Wagner

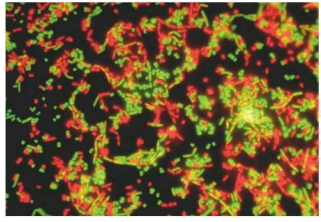
(a)



Marc Mussmann y Michael Wagner

(b)

Figura 22.6 Tinciones fluorescentes inespecíficas. *(a)* DAPI y *(b)* naranja de acridina. Ambas fotografías al microscopio muestran comunidades microbianas que habitan en el cieno en una planta de tratamiento de aguas residuales municipales. Con la naranja de acridina, las células que contienen poco RNA se tiñen de verde.



Molecular Probes, Inc., Eugene, OR.

Figura 22.7 Tinción de células viables. Células vivas (verdes) y células muertas (rojas) de *Micrococcus luteus* (cocos) y *Bacillus cereus* (bacilos) teñidas con la tinción de viabilidad bacteriana LIVE/DEAD BacLight™.

no es el adecuado para la evaluación directa al microscopio de muestras de muchos hábitats naturales debido a problemas de tinción inespecífica de los materiales inertes. Sin embargo, se han desarrollado procedimientos para el uso de la tinción vivas/muertas en análisis de células viables de ambientes acuáticos: se filtra una muestra de agua y se tiñe lo filtrado con la tinción vivas/muertas y se examinan al microscopio. Por lo tanto, en la microbiología acuática, se utiliza a menudo la tinción vivas/muertas para medir la viabilidad de las poblaciones celulares en columnas de agua de lagos u océanos, o en corrientes, ríos y otros ambientes acuáticos.

Anticuerpos fluorescentes

Las técnicas de tinción pueden ser incluso más específicas si se utilizan anticuerpos fluorescentes. Los anticuerpos son reactivos biológicos específicos y discutiremos el uso de los anticuerpos fluorescentes en la Sección 32.9. La gran especificidad de los anticuerpos contra los constituyentes de la superficie celular se puede explotar para identificar o rastrear un organismo específico en un hábitat que contiene una mezcla de muchos organismos, como el suelo (**Figura 22.8**) o las muestras clínicas. El método requiere la preparación de anticuerpos específicos contra el organismo de interés, lo que puede resultar largo y laborioso, y la mayoría de las veces necesita disponer de un cultivo axénico del organismo deseado. Sin embargo, para los microorganismos patógenos, se pueden conseguir anticuerpos muy específicos comercialmente y se utilizan ampliamente en los laboratorios de microbiología clínica para el diagnóstico de enfermedades infecciosas al microscopio.

Proteína fluorescente verde para etiquetar células

Las células bacterianas se pueden alterar mediante ingeniería genética para volverlas autofluorescentes. Como se explicó anteriormente (Sección 12.10), en el genoma de casi cualquier bacteria cultivable se puede insertar el gen que codifica la proteína llamada la **proteína fluorescente verde** (GFP: *green fluorescent protein)*. Cuando se expresa el gen de la GFP, las células emiten fluorescencia verde cuando se observan al microscopio con luz ultravioleta (**Figura 22.9**).

Aunque no es útil para estudiar las poblaciones naturales de microorganismos (porque estas células carecen del gen GFP), las células etiquetadas con GFP se pueden introducir en un medio, como las raíces de las plantas (Figura 22.9) y seguir la célula etiquetada al microscopio a lo largo del tiempo. Con este método, los ecólogos microbianos pueden estudiar la competición microbiana entre la microbiota nativa y la cepa etiquetada con la GFP, y pueden evaluar el efecto de las perturbaciones de un medio sobre la supervivencia de la cepa introducida. Sin embargo, la GFP requiere oxígeno para emitir fluorescencia y, por lo tanto, no tiene sentido utilizarla como etiqueta en los hábitats anóxicos.

También se ha utilizado ampliamente el gen de la GFP en cultivos de laboratorio de varias bacterias como un *gen indicador*. Cuando se fusiona con un operón bajo el control de una proteína represora específica, se puede utilizar la GFP a modo de ensayo para la transcripción y estudiar el control transcripcional de los genes de interés por fluorescencia. Es decir, cuando se transcriben los genes que contienen el gen de la GFP fusionado, también se transcribe el gen de la GFP y las células emiten fluorescencia verde (Sección 12.10 y Figura 12.14).

Limitaciones de la microscopia

El microscopio es una herramienta esencial para explorar la diversidad microbiana y para enumerar e identificar microorganismos en muestras naturales. Sin embargo, la microscopía por sí sola no es suficiente para estudiar la diversidad microbiana por muchas razones.

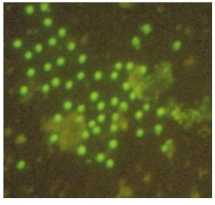

T. D. Brock

Figura 22.8 Anticuerpos fluorescentes para etiquetar células. Células del hipertermófilo *Sulfolobus acidocaldarius* (*Archaea*) adheridas a la superficie de partículas de suelo de una solfatara visualizadas por la técnica de anticuerpos fluorescentes. Las células miden aproximadamente 1 μm de diámetro.

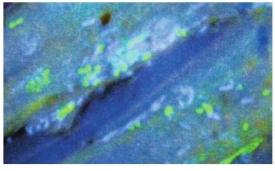

Bio Nanreader

Figura 22.9 La proteína fluorescente verde. Células de *Pseudomonas fluorescens*, modificadas genéticamente para que expresen la proteína fluorescente verde, observadas por microscopia láser confocal. Las células están adheridas a raíces de cebada y emiten fluorescencia verde. Las células teñidas de azul son parte de la biota normal de las raíces de la cebada y se han teñido con DAPI (Figura 22.6*a*).

UNIDAD 4

El principal problema lo constituyen las células pequeñas: los procariotas varían enormemente de tamaño (Sección 4.2 y Tabla 4.1) y algunas células están cerca de los límites de resolución del microscopio óptico. Al observar muestras naturales, tales células se pueden pasar por alto fácilmente, especialmente si la muestra contiene gran cantidad de materia particulada o de células grandes. También, a menudo es difícil diferenciar las células vivas de las muertas o de las de la materia inerte en las muestras naturales. Sin embargo, el mayor inconveniente de los métodos microscópicos que hemos tratado hasta ahora consiste en que ninguno de ellos revela la diversidad filogenética de los microorganismos en el hábitat que se estudia.

Ahora tendremos una presentación preliminar de los métodos poderosos de tinción existentes que pueden revelar la filogenia de organismos observados en una muestra natural, que se verán con detalle en el próximo apartado. Estos métodos han revolucionado la ecología microbiana y han ayudado a los microbiólogos a superar la principal limitación del microscopio óptico en la ecología microbiana, es decir, identificar lo que se observa desde una perspectiva filogenética. Estos métodos también han enseñado a los ecólogos microbianos una lección importante: cuando se observan al microscopio las poblaciones naturales de microorganismos sin teñir o teñidos inespecíficamente, uno debe recordar que la muestra casi seguro que contiene una comunidad genéticamente diversa, incluso si muchas células «parecen» iguales (**Figura 22.10**).

(a) (b)

Figura 22.10 **Morfología y diversidad genética**. Los fotografías del mismo campo de células mostradas aquí corresponden a *(a)* microscopia de contraste de fase y *(b)* FISH filogenética. Aunque las células ovaladas grandes tienen una morfología y tamaño poco corrientes para las células procariotas y parecen similares mediante la microscopia de contraste de fases, la tinción filogenética revelan que son genéticamente diferentes (una se tiñe de amarillo y la otra de azul). Las células ovaladas teñidas de azul o amarillo miden unos 2,25 μm de diámetro. Las células verdes en pares o agrupamientos miden aproximadamente 1 μm de diámetro.

22.3 Minirrevisión

El DAPI y la naranja de acridina son tinciones generales para cuantificar microorganismos en muestras naturales. Algunas tinciones pueden diferenciar las células vivas de las muertas, y se pueden preparar anticuerpos fluorescentes específicos para una célula o un grupo pequeño de células relacionadas. La proteína fluorescente verde convierte a las células en autofluorescentes y sirve para rastrear las células introducidas en el ambiente. En las muestras naturales, células morfológicamente idénticas pueden ser realmente distintas desde el punto de vista genético.

- ¿Por qué es incorrecto decir que GFP es un método de «tinción»?
- ¿Cuál es la diferencia de especificidad entre las tinciones como el DAPI y los anticuerpos fluorescentes?

22.4 FISH

Debido a su gran especificidad, las sondas de ácidos nucleicos son herramientas poderosas para identificar y cuantificar microorganismos. Recuérdese que una **sonda de ácido nucleico** es un oligonucleótido de DNA o RNA complementario en un gen o RNA de diana. Cuando la sonda y la diana se juntan, se hibridan (Sección 12.2). Tal y como se expuso en la Sección 14.9, se pueden hacer sondas de ácidos nucleicos fluorescentes uniéndoles colorantes fluorescentes. Las sondas fluorescentes se pueden utilizar para identificar organismos que contienen una secuencia de ácido nucleico complementaria a la sonda. Esta técnica se llama **hibridación fluorescente *in situ* (FISH**: *fluorescent* in situ *hybridization*), y describiremos diferentes aplicaciones, incluidos los métodos que tienen de objetivo la filogenia o expresión génica.

Tinción filogenética con FISH

Los colorantes FISH filogenéticos son oligonucleótidos fluorescentes con una secuencia de bases complementaria a secuencias en el RNA ribosómico (rRNA 16S o 23S en los procariotas o rRNA 18S en los eucariotas) (Sección 14.9). Las tinciones filogenéticas penetran en la célula sin lisarla y se hibridan con el RNA en los ribosomas. Como los ribosomas están dispersos por la célula en los procariotas, toda la célula se vuelve fluorescente (Figura 14.17).

Las tinciones filogenéticas se pueden diseñar para ser muy específicas y reaccionar sólo con una especie o un puñado de especies microbianas relacionadas, o se pueden hacer más generales y reaccionar con, por ejemplo, todas las células de un dominio filogenético determinado. Con la FISH se puede identificar o rastrear un organismo de interés, o un dominio de interés, en una muestra

natural. Por ejemplo, si se desea determinar el porcentaje de una población microbiana determinada que pertenecen al dominio *Archaea*, se podría utilizar una tinción filogenética específica de las arqueas en combinación con el DAPI (Sección 22.3) para evaluar el número de células de arqueas y totales, respectivamente, y poder calcular un porcentaje.

La tecnología FISH también puede utilizar varias sondas filogenéticas. Con un grupo de sondas, cada una diseñada para reaccionar con un organismo o grupo determinado, y cada una con su propio colorante fluorescente, la FISH puede caracterizar la amplitud filogenética de un hábitat en un único experimento (**Figura 22.11**). Si la FISH se combina con la microscopia confocal (Sección 2.3), es posible explorar las poblaciones microbianas con profundidad como, por ejemplo, en una biopelícula (Sección 23.4 y Figura 23.5). Además de para la ecología microbiana, la FISH es un herramienta importante en la industria alimentaria y en el diagnóstico clínico para detectar patógenos específicos al microscopio.

ISRT-FISH y CARD-FISH

Además de caracterizar la diversidad filogenética de un hábitat, se puede utilizar la FISH para medir la *expresión génica* en los organismos de una muestra natural (**Figura 22.12**). Como en este caso la diana, el mRNA, es mucho menos abundante que el rRNA en los ribosomas de una célula, no se pueden aplicar las técnicas FISH estándares, sino que hay que amplificar la diana (el mRNA) o la señal (fluorescencia) para que sea aplicable en los estudios de expresión génica.

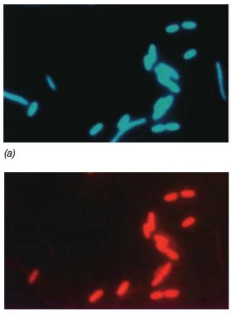


Figura 22.12 **Transcripción inversa *in situ* (ISRT).** Las dos fotografías al microscopio de fluorescencia muestran un cultivo mixto de las bacterias de *Microbulbifer hydrolyticus* (bacilos cortos y gruesos) y de *Sagittula stellata* (bacilos largos y delgados). La transcripción inversa de un mRNA producido sólo por *M. hydrolyticus* formó un cDNA que se amplificó posteriormente por PCR y se hibridó a una sonda marcada con fluorescencia. *(a)* Se tiñeron todas las células con DAPI, una tinción inespecífica (Figura 22.6a). *(b)* Se tiñeron las células con la sonda de la ISRT.

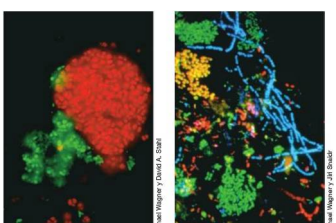


Figura 22.11 **Análisis FISH del cieno de las aguas residuales.** *(a)* Bacterias nitrificantes. Rojo: bacterias oxidadoras de amoníaco; verde: bacterias oxidadoras de nitritos. *(b)* Fotografía láser confocal de una muestra de cieno de aguas residuales. La muestra se trató con tres sondas filogenéticas de FISH, cada una con un colorante fluorescente diferente (verde, rojo o púrpura) que se destina a un grupo diferente de proteobacteria. Las células teñidas de verde, rojo o púrpura reaccionan sólo con una sonda; las células teñidas de azul y amarillo reaccionan con varias sondas para dar los distintos colores.

Un método que amplifica la diana se llama *transcripción inversa in situ* (IRST: *in situ reverse transcription*)-*FISH*. Este método utiliza una sonda de DNA para atrapar un mRNA específico producido por células en una muestra natural. Después de esto, se añade la enzima transcriptasa inversa para realizar la transcripción inversa que generará un DNA complementario (cDNA) a partir del mRNA (Sección 10.12). Luego, el cDNA se amplifica mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, Sección 12.8 y *véase* la Sección 22.5) y se detecta porque se hibrida a la sonda fluorescente (Figura 22.12).

La ISRT-FISH se utiliza para explorar factores que controlan la expresión génica en poblaciones naturales de microorganismos y para observar cómo las perturbaciones ambientales en un ambiente afecta la transcripción de determinados genes. En combinación con los métodos de tinción filogenéticos, también se puede utilizar la ISRT-FISH para detectar qué grupos de organismos en un hábitat son metabólicamente activos basándose en la suposición de que las células que transcriben determinados genes metabólicos están utilizando las enzimas que codifica el mRNA. En tal estudio, la ISRT-FISH se utilizaría para evaluar la expresión génica, mientras que la

UNIDAD 4

FISH se utilizaría para revelar la filogenia de las células metabólicamente activas.

Un método de FISH que mejora la señal en vez de la diana se llama *FISH con deposición indicadora catalizada (CARD-FISH)*. En la CARD-FISH, la sonda del ácido nucleico específico contiene una molécula de la enzima peroxidasa conjugada a éste en vez de un colorante fluorescente. Una vez que se ha producido la hibridación, se trata la preparación con un colorante muy fluorescente llamado *tiramida*. La tiramida se convierte, por la actividad de la peroxidasa, en un intermediario muy reactivo que se une a una proteína adyacente, lo que amplifica la señal lo suficiente para poderla detectar por microscopia de fluorescencia. Cada molécula de peroxidasa activa muchas moléculas de tiramida, de manera que se pueden visualizar incluso pocas copias de la diana. Además de detectar el mRNA, la CARD-FISH es útil para los estudios filogenéticos de procariotas que crecen muy lentamente, por ejemplo, los organismos que habitan los océanos abiertos donde las temperaturas frías y las bajas concentraciones de nutrientes se combinan para limitar la velocidad de crecimiento. Estas células tienen pocos ribosomas en comparación con células que crecen más activamente y, por lo tanto, la FISH estándar a menudo sólo produce señales débiles.

22.4 Minirrevisión

Los métodos de FISH han aprovechado el poder de las sondas de ácidos nucleicos y, por lo tanto, son muy específicos a la hora de teñir. Están incluidas las tinciones filogenéticas y la transcripción inversa con hibridación fluorescente *in situ* (ISRT-FISH).

- ¿Qué estructura celular es la diana de las sondas fluorescentes en la FISH filogenética?
- La FISH y la ISRT-FISH revelan diferentes informaciones sobre las células en la naturaleza. Explíquelas.
- ¿Por que la CARD-FISH es mejor que la FISH para detectar los microorganismos con escasez de nutrientes de un ambiente?

22.5 Relacionar genes específicos con organismos específicos mediante PCR

Muchos estudios sobre la biodiversidad microbiana no necesitan aislar los organismos, ni siquiera cuantificarlos ni identificarlos microscópicamente con las tinciones descritas en los apartados anteriores. En cambio, se utilizan genes específicos para medir la biodiversidad.

A menudo, los genes específicos están en organismos específicos. Por lo tanto, la detección de un *gen* específico en una muestra medioambiental implica que el *organismo* específico que contiene este gen está presente. Las principales técnicas empleadas en esta clase de análisis de la comunidad microbiana son la reacción de la cadena de la polimerasa (PCR: *polymerase chain reaction*), la electroforesis en gel desnaturalizante en gradiente (DGGE: *denaturing gradient gel electrophoresis*), o clonación molecular y secuenciación y análisis del DNA, así como una serie de métodos relacionados. Además, como veremos, se pueden utilizar genomas enteros como una medición de la biodiversidad de las comunidades microbianas.

PCR y análisis de la comunidad microbiana

Ya se trató el principio de la PCR en el capítulo 12 (Sección 12.8). Las principales etapas en la PCR son: 1) dos cebadores de ácido nucleico se hibridan a una secuencia complementaria en un gen diana, 2) la DNA-polimerasa copia el gen diana y 3) se sintetizan numerosas copias del gen diana mediante ciclos sucesivos de separación de las hebras complementarias, hibridación de los cebadores y nueva síntesis (Figura 12.11). A partir de una única copia de un gen, se pueden conseguir varios millones de copias (**Figura 22.13**).

¿Qué genes se deben utilizar como diana? Como los genes que codifican el RNA ribosómico de subunidad menor son filogenéticamente informativos y las técnicas para su análisis están bien desarrolladas (Secciones 14.5 a 14.9), se utilizan ampliamente en los estudios de biodiversidad molecular. Alternativamente, también pueden servir de diana los genes que codifican proteínas particulares del metabolismo de un organismo específico, o grupo de organismos relacionados. En el típico experimento de análisis de una comunidad se aísla todo el DNA de un hábitat microbiano (Figura 22.13). Para este propósito, existen kits comerciales que preparar un DNA de gran pureza del suelo y otros hábitats complejos. El DNA obtenido es una mezcla de DNA genómico de todos los microorganismos que estaban en la muestra del hábitat (Figura 22.13). No obstante. a partir de esta mezcla, la PCR amplifica el gen de interés y genera muchas copias de cada variante del gen, llamadas **filotipo**. Cabe esperar diferentes formas del mismo gen si el gen diana está distribuido ampliamente, como por ejemplo los genes del rRNA. Cada especie en el medio tendrá su propia secuencia única para el rRNA, y la PCR amplificará cada filotipo. Luego, se tienen que catalogar, que es lo que veremos a continuación.

Electroforesis en gel en gradiente desnaturalizante: separación de genes muy similares

Los resultados de un experimento de muestreo de una comunidad consiste en unos tamaños de bandas sobre un gel característicos del gen diana (**Figuras** 22.13 y **22.14**). Solo aparece una única banda, pero como el gen diana amplificado procede de una mezcla de células diferentes, hay que clasificar los filotipos antes de secuenciarlos. Una manera de hacerlo es mediante clonación molecular

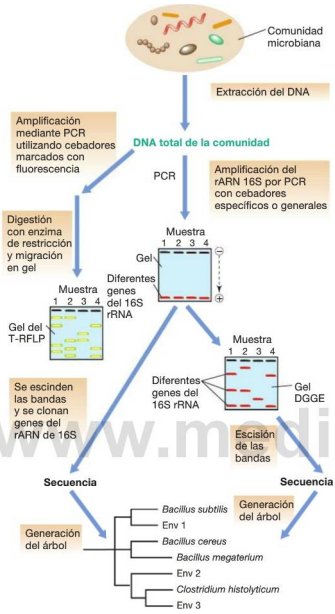


Figura 22.13 **Etapas en un análisis de biodiversidad de un único gen de una comunidad microbiana**. A partir del DNA total de la comunidad, se amplifican genes del rRNA 16S utilizando, en el ejemplo del DGGE, cebadores específicos de las bacterias grampositivas. Se escinden las bandas de la PCR y se separan los diferentes genes del rRNA 16S por clonación o por DGGE. Después de la secuenciación, se genera un árbol filogenético. *Env* indica una secuencia medioambiental (filotipo). En los análisis de T-RFLP, el número de bandas indica el número de filotipos. En los geles de DGGE o T-RFLP, las bandas que migran en la misma posición normalmente indican el mismo filotipo.

(Figura 22.13; Sección 12.3). Alternativamente, se puede utilizar la **electroforesis en gel en gradiente desnaturalizante** (DGGE), un método que separa genes del mismo *tamaño* que se diferencian en su perfil de fusión (desnaturalización) debido a las diferencias en la *secuencia de bases* (Figuras 22.13 y 22.14*b*).

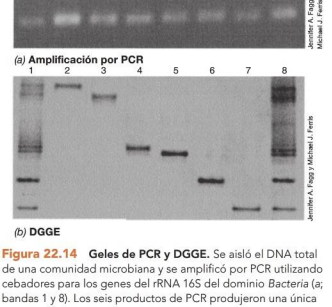


Figura 22.14 **Geles de PCR y DGGE.** Se aisló el DNA total de una comunidad microbiana y se amplificó por PCR utilizando cebadores para los genes del rRNA 16S del dominio *Bacteria* (*a*; bandas 1 y 8). Los seis productos de PCR produjeron una única banda sobre el gel pero realmente consistían en seis secuencias de genes diferentes del rRNA 16S, como se determinó mediante DGGE (*b*; bandas 1 y 8). Cada una de las seis bandas se purificó, se volvió a amplificar por PCR (*a*; bandas 2 a 7) y se separaron en DGGE (*b*; bandas 2 a 7). Obsérvese cómo las bandas migran en la misma posición en el gel de PCR porque son del mismo tamaño, pero a diferentes posiciones en el gel de DGGE porque tienen diferentes secuencias.

www.medilibros.com

La DGGE emplea un gradiente de un desnaturalizante de DNA, como una mezcla de urea y formamida. Cuando un fragmento de DNA bicatenario se desplaza por el gel y alcanza una región que contiene suficiente desnaturalizante, las hebras empiezan a «fundirse»; en este momento, la migración se detiene (Figuras 22.13 y 22.14*b*). Las diferencias en la secuencia de bases causan diferencias en las propiedades de fusión del DNA. Por lo tanto, las diferentes bandas observadas en un gel de DGGE son filotipos que pueden diferir tan sólo en una base en la secuencia.

Una vez que se ha realizado la DGGE, se escinden las bandas individuales y se secuencian (Figuras 22.13 y 22.14). Con el rRNA 16S como gen diana, por ejemplo, el patrón de DGGE revela inmediatamente el número de filotipos (genes diferentes de rRNA 16S) presentes en un hábitat (Figura 22.14*b*). Después de secuenciar cada banda de DGGE, se puede determinar el número real de especies presente en la comunidad mediante análisis filogenéticos (Secciones 14.6 y 14.7) (Figura 22.13*b*). Si se utilizan cebadores de PCR específicos para otros genes que no sean el rRNA 16S, como un gen metabólico, también se pueden evaluar los filotipos de este gen específico que existen en la muestra. Por lo tanto, aunque el número de bandas sobre un gel de DGGE da una visión global de la biodiversidad en un hábitat, se necesita el análisis de las secuencias para orientar los filotipos en un árbol filogenético (Figuras 22.13 y 22.14*b*).

T-RFLP

Otro método para el análisis rápido de la comunidad microbiana es el *polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción terminales (T-RFLP: terminal restriction fragment length polymorphism)*. En este método, se amplifica por PCR un gen de diana (normalmente genes de mRNA) del DNA de una comunidad utilizando un conjunto de cebadores en el que uno de los cebadores está marcado en el extremo con un colorante fluorescente. A continuación, los productos de la PCR se tratan con una enzima de restricción (Sección 12.1) que corta el DNA en secuencias específicas. Esto genera una serie de fragmentos de DNA, cuyo número depende de cuántos sitios de corte de restricción se encuentran en el DNA. Los fragmentos terminales marcados con fluorescencia se separan luego sobre un gel y el patrón obtenido dependerá de la variación de la secuencia del rRNA de la comunidad muestreada.

La DGGE y el T-RFLP miden la diversidad de un único gen, pero de diferentes maneras. Mientras que el patrón de las bandas sobre un gel de DGGE refleja el número de variaciones de una secuencia del mismo tamaño en un único gen (Figura 22.13), la distribución de las bandas sobre un gel de T-RFLP refleja la variabilidad de un gen único medida mediante diferencias en los sitios de corte de las enzimas de restricción, que se deben en última instancia a variaciones en la secuencia del DNA.

Resultados de los análisis filogenéticos de la PCR

Los análisis filogenéticos de las comunidades microbianas han producido resultados sorprendentes. Por ejemplo, al utilizar el gen que codifica el rRNA 16S como gen diana, los análisis de las comunidades microbianas naturales normalmente muestran que conviven varios procariotas filogenéticamente distintos cuyas secuencias del gen del rRNA son diferentes de las de todos los cultivos de laboratorio conocidos (Figura 22.13). Además, existen otros métodos que permiten una evaluación cuantitativa de cada filotipo y, con pocas excepciones, resulta que las especies más abundantes en una comunidad natural son las que hasta ahora desafiaron a los cultivos en el laboratorio. Estos resultados ponen de manifiesto que nuestro conocimiento de la diversidad microbiana a partir de los cultivos de enriquecimiento es muy incompleto y que el sesgo de enriquecimiento (Sección 22.1) es probablemente un problema grave en estudios de biodiversidad dependientes del cultivo. Los ecólogos microbianos estiman que, en la actualidad, en los cultivos de laboratorio se refleja menos del 0,5% de la diversidad microbiana revelada por los análisis moleculares de la comunidad.

Filochips

Anteriormente, consideramos la utilización de los chips de DNA (micromatrices) para evaluar la expresión génica global en los microorganismos (Sección 13.6 y Figura 13.7). Sin embargo, se pueden construir micromatrices más dirigidas para el análisis rápido en los estudios de biodiversidad. Estas micromatrices filogenéticas, llamadas *filochips*, se han desarrollado para detectar grupos específicos o Filums de procariotas en las comunidades microbianas (**Figura 22.15**).

Los filochips se construyen fijando rRNA o sondas de oligonucleótidos específicas del rRNA, a la superficie del chip en una distribución conocida. Cada filochip se puede hacer tan específico o amplio como requiera el estudio, y se pueden añadir varios cientos de sondas diferentes a un único filochip. Por ejemplo, si el objetivo era evaluar la diversidad de las bacterias reductoras del sulfato en un ambiente con sulfuros, como un tapete microbiano (Sección 22.7 y Figura 22.20) en un único experimento, los oligonucleótidos complementarios a secuencias específicas de los genes del rRNA 16S de todas las bacterias reductoras de sulfato conocidas (unas 100 especies) se ordenarían en una disposición conocida sobre un filochip. Tras aislar el DNA total de la comunidad a partir de la muestra del tapete y de la amplificación por PCR y de la marcación con fluorescencia de los genes del rRNA 16S, se hibrida el DNA medioambiental con las sondas que están en el filochip y se determinan las especies que están presentes observando qué sondas se hibridaron al DNA de la muestra (Figura 22.15). Alternativamente, el rRNA se extrae directamente de la comunidad microbiana, se marca con un tinte fluorescente y se hibrida directamente al filochip sin una etapa de amplificación.

Los filochips eluden muchas de las etapas largas, como PCR, DGGE, clonación y secuenciación, que son parte de los análisis moleculares de la comunidad microbiana que se trataron anteriormente (Figura 22.14). Además, en vez de utilizar el rRNA 16S como la diana, se

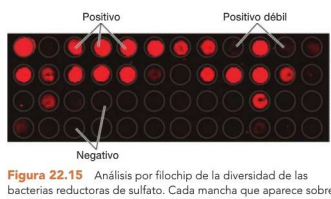


Figura 22.15 Análisis por filochip de la diversidad de las bacterias reductoras de sulfato. Cada mancha que aparece sobre la micromatriz tiene un oligonucleótido complementario a una secuencia en el rRNA 16S de una especie diferente de bacteria reductora de sulfato. Después de la hibridación con genes del rRNA 16S amplificados por PCR a partir de una comunidad microbiana y luego marcados con fluorescencia, la presencia o ausencia de cada especie se señala mediante fluorescencia (mostrado como positivo o positivo débil) o falta de fluorescencia (mostrada como negativo), respectivamente.

www.medi

pueden fabricar chips que porten sondas dirigidas a genes que codifican una función metabólica clave, como la fijación del nitrógeno o la oxidación del amonífaco, para detectar si las bacterias fijadoras del nitrógeno o las nitrificantes, respectivamente, están presentes en la muestra y, si es así, cuáles. Por lo tanto, el filochip es otra herramienta importante para la evaluación independiente de cultivo de la biodiversidad microbiana.

22.5 Minirrevisión

Se puede utilizar la PCR para amplificar genes diana específicos, como los genes del rRNA de la subunidad menor o los genes metabólicos clave. La DGGE puede identificar diferentes versiones de estos genes presentes en diferentes especies que habitan una muestra natural. Los filochips combinan las tecnologías de micromatrices y filogenética.

- ¿Qué podría concluirse del análisis por PCR/DGGE de una muestra que produjo una banda por PCR y una banda por DGGE? ¿Y una banda por PCR y cuatro por DGGE?
- ¿Qué resultado sorprendente ha emergido de muchos estudios moleculares de hábitats naturales con el uso del rRNA 16S como el gen diana?
- ¿Qué es un filochip y qué información se obtiene con él?

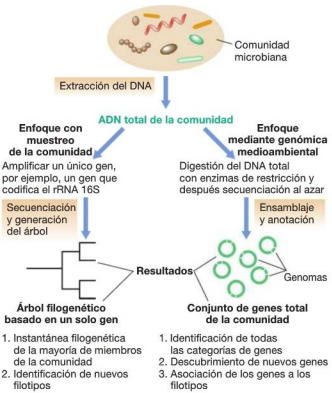


Figura 22.16 **Enfoques de un único gen frente a la genómica medioambiental para analizar la comunidad microbiana**. Obsérvese que en el enfoque de la genómica medioambiental se puede secuenciar todo el DNA de la comunidad. Los genomas se ensamblan y se anotan pero no se obtienen genomas «acabados» completos. Por lo tanto, no se estudian todos los genes y los genomas contendrán algunos huecos. La recuperación de todos los genes es variable y depende, entre otros factores, de la complejidad del hábitat; los hábitats de diversidad baja normalmente muestran una mejor recuperación global.

www.medi

22.6 Genómica medioambiental

Un enfoque más amplio que el estudio molecular de las comunidades microbianas es la **genómica medioambiental**, también llamada **metagenómica**. Con este enfoque, la secuenciación al azar (*shotgun sequencing*) (Sección 12.6) del DNA clonado a partir de una comunidad microbiana, o fragmentos grandes del DNA de una comunidad previamente clonado en vectores de clonación como los cromosomas bacterianos artificiales (los BAC Sección 12.15) antes de la secuenciación, se utilizan para revelar potencialmente el complemento génico de esa comunidad (**Figura 22.16**).

El objetivo de la genómica medioambiental no es generar secuencias del genoma completas y acabadas, como se ha hecho para muchos microorganismos en cultivo, sino detectar tantos genes como sea posible que codifiquen proteínas reconocibles y luego, si es posible, determinar el(los) grupo(s) filogenético(s) al que pertenece(n). Esto se puede realizar secuenciando los solapamientos de los genes que incluyen marcadores filogenéticos como los genes del rRNA 16S. Es importante diferenciar la genómica medioambiental de los análisis moleculares de la comunidad, discutidos en el apartado anterior. Los análisis de la comunidad microbiana normalmente se centran sobre la diversidad de un *único* gen. En cambio, en la genómica medioambiental, teóricamente se pueden muestrear *todos* los genes de la comunidad microbiana, lo que puede revelar características de una comunidad microbiana que se pueden pasar por alto en los enfoques basados en un único gen. En la práctica, la recuperación de genes en la genómica medioambiental no es del 100%; sin embargo, la tecnología puede proporcionar un imagen impresionante del conjunto de genes de un medio.

En un estudio modelo de la diversidad procariota mediante genómica medioambiental en el Mar de los Sargazos (Atlántico Norte), se descubrió una diversidad enorme de organismos que previamente se habían perdido por el análisis de la comunidad basada sólo en el gen del rRNA porque no todos los genes del rRNA 16S que estaban presentes en esta comunidad microbiana se amplificaron con cebadores utilizados en la PCR. Los genes que no se pudieron amplificar permanecieron lógicamente indetectables en análisis de la comunidad. La genómica medioambiental elude este problema al secuenciar el DNA sin

amplificarlo primero por PCR (Figura 2.15). Por lo tanto, los genes y los genomas se secuencian tanto si se amplifican como si no.

Las posibilidades de la genómica medioambiental

La genómica medioambiental puede detectar nuevos genes en organismos conocidos y genes conocidos en nuevos organismos. Por ejemplo, en el estudio del Mar de los Sargazos, los genes que codifican proteínas de metabolismos conocidos se encontraron de vez en cuando dentro de los genomas de organismos que antes no se sabía que realizaran tal metabolismo. Por ejemplo, los genes que codifican la enzima amonífaco-monooxigenasa, la enzima clave de las bacterias oxidadoras de amoníaco (Secciones 15.3 y 20.12) se descubrieron dentro de los genomas de especies de arqueas. Esto indicó que casi seguro que existen arqueas oxidadoras de amoníaco. Poco después de realizar este descubrimiento, los microbiólogos consiguieron aislar arqueas nitrificantes del ambiente marino (Sección 17.12).

En un segundo ejemplo del estudio del Mar de los Sargazos, se encontraron genes que codifican la proteorrodopsina, la conocida bomba de protones impulsada por luz de determinadas proteobacterias (Secciones 17.3 y 23.9), se encontró dentro de los genomas de varios linajes filogenéticos nuevos del dominio bacterias. Como aún no se han obtenido cultivos de todos estos organismos, no se había ni imaginado la presencia de la proteorrodopsina en estos grupos. Estos descubrimientos son importantes para la fisiología y la ecología de estos organismos y sugiere nuevas estrategias para su enriquecimiento y aislamiento. Estos ejemplos muestran cómo la genómica medioambiental ofrece a los ecólogos microbianos un método potente para explorar la diversidad microbiana y fisiológica que no se conseguiría de otro modo.

La genómica medioambiental es una herramienta poderosa para evaluar la diversidad filogenética y metabólica de las comunidades microbianas, objetivos principales de la ecología microbiana. Sin embargo, además de los análisis del genoma, se pueden utilizar enfoques de genómica más específicos para analizar las comunidades microbianas. En particular, estarían el uso de micromatrices para evaluar la expresión génica (Sección 13.6). Una vez que se hayan secuenciado completamente los genomas de algunos organismos importantes de una comunidad microbiana, se pueden diseñar micromatrices para medir la transcripción de cualquier gen de interés, lo que permitirá que el experimentador mida la expresión génica en organismos conocidos cuando interaccionan con otros organismos en la comunidad microbiana. En la Sección 22.5 describimos el filochip, otro uso de las micromatrices para evaluar la diversidad microbiana en ambientes naturales (Figura 22.15).

22.6 Minirrevisión

La genómica medioambiental está basada en la clonación, secuenciación y análisis del colectivo de genomas de los organismos presentes en una comunidad microbiana.

- ¿Qué es es un metagenoma?
- ¿En qué se diferencian los enfoques genómicos medioambientales de los análisis de la comunidad microbiana, como los que analizan el gen del rRNA 16S?

III MEDICIÓN DE LAS ACTIVIDADES MICROBIANAS EN LA NATURALEZA

Hasta ahora, en este capítulo hemos centrado las explicaciones en medir la *diversidad* microbiana. Ahora pasamos a fijarnos en cómo miden los ecólogos microbianos la *actividad* microbiana, es decir, qué es lo que los microorganismos realmente están *haciendo* en su ambiente. Las técnicas que se describirán incluyen la utilización de radioisótopos, microelectrodos e isótopos estables.

Las mediciones de la actividad en una muestra natural son estimaciones colectivas de las reacciones fisiológicas que se producen en el conjunto la comunidad microbiana, aunque una técnica que se explicará después, la FISH-MAR, permite una evaluación más específica de la actividad fisiológica. Las mediciones de la actividad ponen de manifiesto tanto los tipos como la tasa de las principales reacciones metabólicas en un hábitat. Junto con las estimaciones de la biodiversidad, ayudan a definir la estructura y la función del ecosistema microbiano, el objetivo final de la ecología microbiana. Las mediciones de la actividad también pueden proporcionar una información valiosa para el diseño de cultivos de enriquecimiento.

22.7 Análisis químicos, métodos radioisotópicos y microelectrodos

En muchos estudios, la medición directa de las transformaciones químicas de las reacciones microbianas son suficientes para evaluar la actividad microbiana en un ambiente. Por ejemplo, el destino de la oxidación de lactato por las bacterias reductoras de sulfato en una muestra de sedimento es fácil de seguir. Si las bacterias reductoras del sulfato están presentes y activas en una muestra de sedimento, entonces el lactato que se añada al sedimento se consumirá y el SO_4^{2-} se reducirá a H_2S (**Figura 22.17*a***). El lactato, el sulfato y el sulfuro se pueden medir con bastante sensibilidad mediante ensayos químicos simples.

Sin embargo, cuando se requiere una sensibilidad muy elevada, se tienen que determinar las tasas de recambio, o si se tiene que seguir el destino de las porcio-

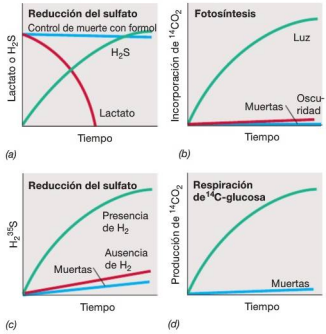


Figura 22.17 **Medidas de la actividad microbiana**. *(a)* Ensayo químico para las transformaciones del lactato y el H_2S durante la reducción de sulfato. *(b–d)* Determinaciones radioisotópicas. *(b)* Fotosíntesis medida con $^{14}CO_2$. *(c)* Reducción de sulfato medida con $^{35}SO_4^{2-}$. *(d)* Producción de $^{14}CO_2$ a partir de ^{14}C-glucosa.

nes de una molécula, resultan muy útiles los radioisótopos. Por ejemplo, si el objetivo consiste en medir la fotoautrofia, basta con determinar la captación de $^{14}CO_2$ dependiente de la luz en células microbianas (Figura 22.17*b*). Si lo que interesa es la reducción del sulfato, se determinará la tasa de conversión de $^{35}SO_4^{2-}$ a $H_2{}^{35}S$ (Figura 22.17*c*). Las actividades heterótrofas se determinan siguiendo la liberación de $^{14}CO_2$ de cualquier compuesto orgánico marcado con ^{14}C (Figura 22.17*d*), etc.

Los métodos isotópicos se utilizan ampliamente en la ecología microbiana. Sin embargo, para que sean válidos, deben recurrir a controles adecuados, porque algunas transformaciones podrían deberse simplemente a procesos abióticos. El control con *células muertas* es clave en tales experimentos porque es absolutamente esencial demostrar que la transformación que se quiere medir se para cuando se aplican a la muestra compuestos químicos o tratamientos con calor para acabar con los organismos. El formol a una concentración final del 4% se utiliza con frecuencia como esterilizante químico en estudios de ecología microbiana. Esto acaba con todas las células y las transformaciones de los materiales radiomarcados en presencia de formol al 4% se pueden atribuir a los procesos abióticos (Figura 22.17).

Radioisótopos en combinación con FISH: FISH-MAR

Los radioisótopos se pueden utilizar como mediciones de la actividad microbiana en una técnica microscópica llamada **microautorradiografía** (**MAR**). En este método, las células de una comunidad microbiana se exponen a un radioisótopo, por ejemplo un compuesto orgánico (para los heterótrofos) o CO_2 (para los autótrofos). Después de la exposición, las células se fijan a un portaobjetos que se sumerge en una emulsión fotográfica. Cuando se deja en la oscuridad durante un tiempo, la descomposición radioactiva del sustrato incorporado expone los granos de plata de la emulsión, que parecen como puntos negros dentro y alrededor de las células (**Figura 22.18*a***).

La MAR se puede realizar simultáneamente con la FISH (Sección 22.4) en la *FISH-MAR*, una técnica poderosa que combina la identificación con las mediciones de la actividad. La FISH-MAR permite que un microbiólogo identifique los organismos de una muestra natural que metabolizan una sustancia radiomarcada determinada

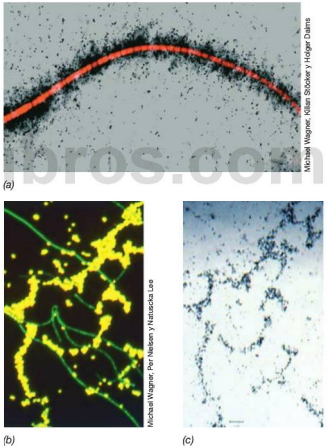


Figura 22.18 **FISH-MAR**. Hibridación fluorescente *in situ* (FISH) combinada con microautorradiografía (MAR). *(a)* Una célula filamentosa no cultivada que pertenece a las gammaproteobacterias (según indica la FISH) aparece como autótrofa (según la captación, medida con MAR, del $^{14}CO_2$). La descomposición radioactiva del ^{14}C se expone en la emulsión fotográfica, lo que genera los puntos negros. *(b)* Captación de la ^{14}C-glucosa por un cultivo mixto de *Escherichia coli* (células amarillas) y *Herpetosiphon aurantiacus* (células verdes filamentosas). *(c)* MAR del mismo campo de células mostrado en *b*). La radioactividad incorporada se expone en la película y muestra que la glucosa era asimilada por *E. coli* pero no por *H. aurantiacus*.

www.medilibros.com

(mediante MAR) y también identificar estos organismos (mediante FISH) (Figura 22.18*b*). Por lo tanto, la FISH-MAR va un paso más allá de la identificación filogenética: la técnica releva también información fisiológica en los organismos. Estos datos son útiles no sólo para comprender la actividad del ecosistema microbiano sino también para guiar los cultivos de enriquecimiento. Por ejemplo, el conocimiento de la filogenia y la morfología de un organismo que metaboliza un sustrato determinado en una muestra natural se puede utilizar para diseñar un protocolo de enriquecimiento para aislar el organismo.

Microelectrodos

Se pueden utilizar pequeños electrodos de vidrio, llamados **microelectrodos**, para estudiar la actividad de los microorganismos en la naturaleza. Se han desarrollado microelectrodos que miden pH, oxígeno, N_2O, CO_2, H_2 o H_2S. Como el nombre indica, los microelectrodos son muy pequeños, las puntas tienen un diámetro que oscila entre 2 y 100 μm (**Figura 22.19***a*). Los electrodos se introducen con precaución en el hábitat en pequeños incrementos para seguir la actividad microbiana en profundidad por una ventana muy estrecha (Figura 22.19*b*).

Se han utilizado ampliamente los microelectrodos para el estudio de las actividades microbianas, en particular la fotosíntesis, en los tapetes microbianos. Los tapetes microbianos son comunidades microbianas en capas que contienen normalmente cianobacterias en las capas más altas, bacterias fotótrofas anoxigénicas en las capas medias (cuya profundidad depende de hasta dónde llegue suficiente luz) y bacterias quimioorganótrofas, especialmente bacterias reductoras de sulfato, en las capas inferiores (**Figuras** 22.19*b* y **22.20**). Los tapetes microbianos se desarrollan en muchos ambientes acuáticos, incluidas fuentes termales (Figura 22.20*a*) y otros ambientes extremos, y en zonas marinas intermareales.

Con el uso de microelectrodos de O_2, las concentraciones de oxígeno en los tapetes microbianos (Figura 22.19*b*) o partículas de suelo (Figura 23.3) se pueden medir de modo muy preciso a intervalos muy pequeños. Se utiliza un micromanipulador para sumergir los electrodos paulatinamente por la muestra de tal forma que se puedan tomar lecturas cada 50 a 100 μm (Figuras 22.19*b* y 22.20*b*). Con un banco de microelectrodos, cada uno sensible a una sustancia química diferente, se miden simultáneamente varias conversiones en un hábitat. Por ejemplo, a menudo se toman mediciones O_2 y H_2S simultáneamente porque estas sustancias se forman en los tapetes microbianos como resultado de la fotosíntesis y la

Figura 22.19 Microelectrodos. *(a)* Esquema de un microelectrodo de oxígeno. La varilla de platino hace de cátodo y, cuando se aplica el voltaje, el O_2 se reduce a H_2O y se genera una corriente. La corriente resultante de la reducción del O_2 en la superficie del oro del cátodo es proporcional a la concentración de oxígeno en la muestra. Obsérvese la escala del electrodo. *(b)* Utilización de los microelectrodos en un tapete microbiano de las fuentes hidrotermales calientes.

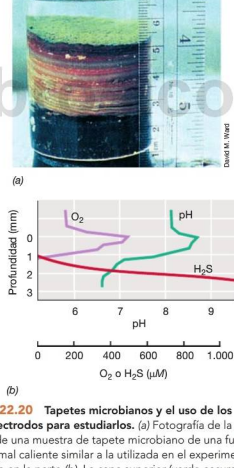


Figura 22.20 Tapetes microbianos y el uso de los microelectrodos para estudiarlos. *(a)* Fotografía de la porción central de una muestra de tapete microbiano de una fuente hidrotermal caliente similar a la utilizada en el experimento resumido en la parte *(b)*. La capa superior (verde oscuro) contiene cianobacterias, por debajo de las cuales hay varias capas de bacterias fotótrofas anoxigénicas (naranja), principalmente *Chloroflexus* y *Roseiflexus*. El tapete tiene un grosor de unos 2 cm. *(b)* Perfiles de oxígeno, sulfuro y pH en un tapete microbiano de una fuente hidrotermal caliente. Obsérvese la escala milimétrica de las ordenadas.

reducción del sulfato, respectivamente (Figura 22.20*b*). Cerca de la zona donde el O_2 y el H_2S empiezan a mezclarse, la actividad metabólica intensa de las bacterias del azufre fotótrofas y quimiolitótrofas pueden consumir estos sustratos rápidamente en unas distancias verticales muy cortas. La detección de la velocidad de estos cambios revela la(s) zona(s) de mayor actividad microbiana.

Con el uso de los microelectrodos en los tapetes microbianos, éste puede quedar alterado al añadir un compuesto orgánico u al oscurecer la superficie del tapete y, luego, seguir en directo el efecto que esto tiene sobre la producción o el consumo de sustancias de interés. A partir de tales estudios, es posible explorar los tipos de actividades microbianas que tienen lugar en el tapete y realizar predicciones sobre el hábitat que se pueden tratar experimentalmente. De este modo, a menudo es posible proponer modelos para las interacciones metabólicas de un ambiente microbiano y utilizar esta información para extraer las actividades microbianas en otros hábitats microbianos más complejos.

22.7 Minirrevisión

Se puede evaluar con gran precisión la actividad de los microorganismos en las muestras naturales utilizando radioisótopos o microelectrodos o ambos. Las mediciones obtenidas dan la actividad neta de la comunidad microbiana.

- ¿Por qué son útiles los radioisótopos para medir las actividades microbianas?
- ¿Qué significa el acrónimo MAR y cómo se detectan las reacciones de MAR?
- Explique cómo funciona un microelectrodo.

22.8 Isótopos estables

La mayoría los isótopos diferentes que tienen los elementos químicos difieren en el número de neutrones. Algunos isótopos son inestables y se destruyen de resultas de la descomposición radioactiva. Otros, llamados *isótopos estables*, no son radioactivos sino que se metabolizan diferencialmente por microorganismos y se pueden utilizar para estudiar las transformaciones microbianas en la naturaleza. Aquí, describiremos dos métodos en los que los isótopos estables pueden informar de las actividades microbianas: el *fraccionamiento con isótopos estables* y el *sondeo con isótopos estables*.

Fraccionamiento isotópico

Los dos elementos que han resultado ser más útiles para los estudios con isótopos estables en la ecología microbiana son el carbono y el azufre. El carbono se encuentra en la naturaleza principalmente como ^{12}C y en pequeña cantidad (alrededor del 5%) como ^{13}C. Asimismo, el azufre existe principalmente como ^{32}S, aunque parte se encuentra como ^{34}S. La abundancia natural de estos isótopos cambia cuando los microorganismos metabolizan C o S, porque las enzimas normalmente favorecen el isótopo *más ligero*. Es decir, el isótopo más pesado se discrimina negativamente respecto al ligero cuando ambos los metabolizan las enzimas (**Figura 22.21**).

Por ejemplo, cuando el CO_2 es atrapado por un organismo fotótrofo, el carbono celular se *enriquece* en ^{12}C y se *empobrece* en ^{13}C, respecto a la referencia de carbono abiótico. Del mismo modo, el átomo de azufre del H_2S producido a partir de la reducción bacteriana del SO_4^{2-} es «más ligero» que el H_2S que se forma geoquímicamente. Estos procesos, conocidos como **fraccionamiento isotópico** (Figura 22.21) son únicamente biológicos y se pueden utilizar como una medición de si una transformación determinada ha sido catalizada por microorganismos o no.

El fraccionamiento isotópico en la ecología microbiana

La composición isotópica de una muestra revela su origen biológico o geológico pasado. Por ejemplo, el material vegetal y el petróleo (que se derivan de un material vegetal) tienen composiciones isotópicas similares (**Figura 22.22**) y son isotópicamente más ligeros que el estándar abiótico porque el carbono del CO_2 se fijó mediante una vía bioquímica que discriminaba el $^{13}CO_2$ (Figuras 22.21 y 22.22). Además, el metano producido por las arqueas metanógenas (Sección 17.4) es muy ligero desde el punto de vista isotópico, lo que indica que los metanógenos se discriminan con intensidad en contra del $^{13}CO_2$ cuando reducen el CO_2 a CH_4. En cambio, los carbonatos marinos, más pesados, son claramente de origen geológico (Figura 22.22).

Debido a las diferencias en la proporción de ^{12}C y ^{13}C en el carbono de origen biológico y geológico, la proporción de $^{13}C/^{12}C$ de las rocas de diferente edad se utiliza como una prueba a favor o en contra de existencia de ac-

Figura 22.21 Mecanismo de fraccionamiento isotópico con el carbono como ejemplo. Las enzimas fijadoras de CO_2 fijan con preferencia el isótopo ligero (^{12}C). Esto da lugar a que el carbón fijado se enriquezca en ^{12}C y contenga poco ^{13}C en relación con el sustrato de partida. El grado de disminución del ^{13}C se calcula como un fraccionamiento isotópico. El tamaño de la flecha indica la abundancia relativa de cada isótopo de carbono.

www.medil

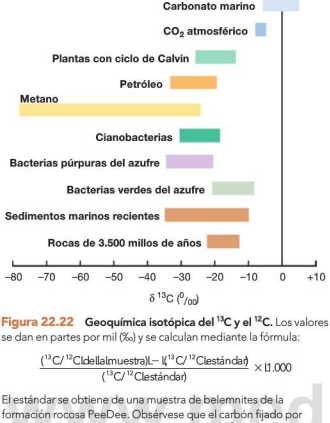


Figura 22.22 Geoquímica isotópica del ^{13}C y el ^{12}C. Los valores se dan en partes por mil (‰) y se calculan mediante la fórmula:

$$\frac{(^{13}C/^{12}C\text{ldellalmuestra})L-\ l(^{13}C/^{12}C\text{lestándar}}{(^{13}C/^{12}C\text{lestándar})} \times l1.000$$

El estándar se obtiene de una muestra de belemnites de la formación rocosa PeeDee. Obsérvese que el carbón fijado por los organismos autótrofos está enriquecido en ^{12}C.

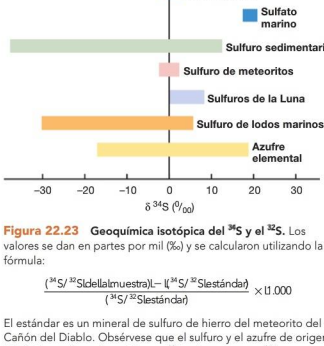


Figura 22.23 Geoquímica isotópica del ^{34}S y el ^{32}S. Los valores se dan en partes por mil (‰) y se calcularon utilizando la fórmula:

$$\frac{(^{34}S/^{32}S\text{ldellalmuestra})L-\ l(^{34}S/^{32}S\text{lestándar}}{(^{34}S/^{32}S\text{lestándar})} \times l1.000$$

El estándar es un mineral de sulfuro de hierro del meteorito del Cañón del Diablo. Obsérvese que el sulfuro y el azufre de origen biológico están enriquecidos en ^{32}S y tienen menos ^{34}S.

edilibros.com

tividad biológica en ellas. Resulta interesante que el carbono orgánico de las rocas de hasta 3.500 millones de años muestre signos de fraccionamiento isotópico (Figura 22.22), lo que apoya la idea de que en esa época existió vida autótrofa. De hecho, la creencia actual es que la primera vida en la Tierra apareció un poco antes, hace unos 3800 a 3900 millones de años (Secciones 1.4 y 14.2).

La actividad de las bacterias reductoras de sulfato es fácil de reconocer a partir del fraccionamiento de $^{34}S/^{32}S$ en los sulfuros (**Figura 22.23**): cuando se compara con un estándar de sulfuros, el sulfuro sedimentario se encuentra muy enriquecido en ^{32}S (Figura 22.23). El fraccionamiento durante la reducción del sulfato permite identificar el azufre producido biológicamente y se ha utilizado mucho para rastrear las actividades de los procariotas del ciclo del azufre a través del tiempo geológico. También se han utilizado análisis isotópicos del azufre como prueba de la ausencia de vida en la Luna. Por ejemplo, los datos de la Figura 22.23 muestran que la composición isotópica de los sulfuros en las rocas lunares se aproxima mucho a la del estándar del sulfuro abiótico y no a la del sulfuro de origen biológico.

Se han utilizado análisis isotópicos del oxígeno ($^{18}O/^{16}O$) para trazar la transición de la Tierra desde un medio anóxico a otro óxico porque el oxígeno molecular de la Tierra se origina a partir de la fotosíntesis oxigénica ($H_2O \rightarrow \frac{1}{2}\ O_2 + 2H$) mediante cianobacterias (Secciones 14.3 y 24.1). Mediante las proporciones de isótopos del oxígeno, ha sido posible demostrar que la Tierra se oxigenó paulatinamente durante el tiempo geológico y que sólo se encuentra la concentración actual de oxígeno (~21%) durante los últimos 750 millones de años, más o menos (Figura 14.7).

Sondeo con isótopos estables

Anteriormente, vimos cómo la combinación de la FISH con MAR permitía realizar análisis de la diversidad y actividad microbianas (Sección 22.7). Otro método que une la diversidad a la actividad es el **sondeo con isótopos estables** (SIP). La SIP emplea sustratos que contienen el isótopo pesado del carbono, el ^{13}C, que normalmente se utilizan para revelar la diversidad debidas a las transformaciones metabólicas específicas en el ambiente.

Mediante compuestos con ^{14}C (radiactivo), ya hemos visto que la velocidad de conversión del compuesto a $^{14}CO_2$, por ejemplo, se puede utilizar para medir la actividad de este proceso en un medio (Sección 22.7 y Figura 22.17). Sin embargo, los resultados de tal experimento no dicen nada sobre los organismos que llevaron a cabo el proceso. La SIP resuelve este problema produciendo DNA marcado con ^{13}C del(de los) organismo(s) que llevaron a cabo una transformación metabólica específica. A continuación, se puede utilizar el DNA para identificar el(los) organismo(s) o para los análisis genómicos.

¿Cómo se realiza un experimento con la SIP? Supongamos que el objetivo es caracterizar los organismos ca-

paces de catabolizar compuestos aromáticos en los sedimentos lacustres. Con el benzoato como compuesto aromático de modelo, se añade un poco de ^{13}C-benzoato a una muestra de sedimento, se incuba durante el tiempo adecuado y, luego, se aísla el DNA total de la muestra mediante técnicas estándares (**Figura 22.24**). Tal y como hemos visto antes (Figura 22.13), tal DNA se originaría a partir de todos los organismos en la comunidad microbiana. Sin embargo, los organismos que incorporaron y metabolizaron el ^{13}C-benzoato incorporarán parte del ^{13}C en su DNA, lo que haría su DNA isotópicamente más pesado que de las células que no incorporaron el benzoato. El ^{13}C-DNA es más pesado, aunque sólo ligeramente, que el ^{12}C-DNA, pero la diferencia es suficiente para que el ^{13}C-DNA se pueda separar del ^{12}C-DNA mediante un tipo especial de centrifugación (Figura 22.24).

Una vez que se ha purificado el ^{13}C-DNA, se puede analizar en busca de los genes de interés. Regresando a nuestro ejemplo del benzoato, si el objetivo era caracterizar la filogenia del(de los) organismo(s) catabolizador(es) del benzoato, se podría utilizar para ello la amplificación por PCR de los genes del rRNA 16S en el ^{13}C-DNA (Figuras 22.13 y 22.14). Sin embargo, además de los análisis filogenéticos, se podrían cribar muchos otros genes una vez que se obtenga el ^{13}C-DNA. Por ejemplo, se podrían amplificar y secuenciar los genes que intervienen en metabolismos específicos o genes distintos a los genes del rRNA que pertenecen a determinados organismos o grupos de organismos. Además, también se podrían realizar análisis de todo el genoma a la vez (Figuras 22.16 y 22.24).

También es posible realizar el SIP del *RNA* en vez del *DNA*. Se ha demostrado con cultivos bacterianos que el ^{13}C de un sustrato marcado realmente termina en el RNA más rápidamente que en el DNA. Por lo tanto, el SIP del RNA permite unos tiempos de incubación más cortos que el SIP del DNA, lo que ayuda a reducir el problema de «alimentación cruzada», una situación en la que el sustrato original con ^{13}C lo cataboliza un organismo, pero luego parte de la marca se excreta de modo que se pueda asimilar por otros organismos que acaban marcando su DNA, haciendo que parezca que han catabolizado el sustrato de prueba original. Si se realiza el SIP del RNA, se purifica el ^{13}C-RNA y luego se convierte en DNA por retrotranscripción con la enzima retrovírica transcriptasa inversa (RT-PCR, Sección 12.8). Una vez que hay disponible una copia de DNA, se analiza del mismo modo que el DNA obtenido mediante los análisis de SIP estándares.

22.8 Minirrevisión

El fraccionamiento isotópico puede desvelar el origen biológico de varias sustancias. El fraccionamiento es resultado de la actividad de las enzimas que discriminan contra la forma más pesada de un elemento cuando se unen a sus sustratos.

- ¿Cómo puede la composición ^{12}C/^{13}C de una sustancia revelar su origen biológico o geológico?
- ¿Cuál es la explicación más sencilla de que los sulfuros lunares sean isotópicamente pesados?
- ¿Cómo puede el sondeo con isótopos estables revelar la identidad de un organismo que realiza un proceso determinado?

Con el conocimiento de algunos de los métodos que se utilizan en la ecología microbiana, ahora iremos al Capítulo 23 para explorar la disciplina de la ecología microbiana. En él trataremos las comunidades microbianas y algunas de sus actividades principales. En muchos casos, veremos una o más de las herramientas descritas en este capítulo para ayudar a ilustrar los principios ecológicos importantes o para identificar las especies microbianas de distintas comunidades microbianas. En el Capítulo 24, trataremos los ciclos de nutrientes principales junto con algunos hábitats microbianos especiales, y a veces espectaculares.

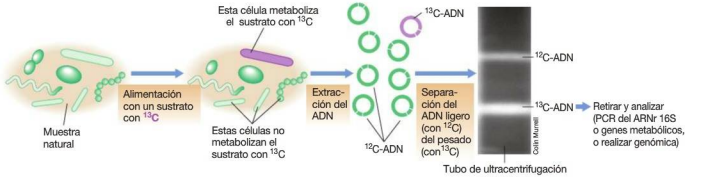


Figura 22.24 Sondeo con isótopos estables. La comunidad microbiana de una muestra natural se alimenta con un sustrato marcado con ^{13}C. Los organismos que lo metabolizan producirán un ^{13}C-DNA a medida que crecen y se dividen, que se puede separar de la forma ligera del DNA (con ^{12}C) mediante una centrifugación en gradiente de densidad (fotografía). Al DNA aislado se le analiza un gen determinado o todo el genoma.

UNIDAD 4

www.libros.com

Glosario de términos

Columna de Winogradsky: columna de vidrio compactada con lodo y cubierta con agua para imitar un medio acuático, en el que diversas bacterias se desarrollan durante unos meses.

Cultivo de enriquecimiento: método para obtener cultivos del laboratorio de microorganismos a partir de una muestra natural utilizando métodos de cultivo muy selectivos.

DAPI: colorante fluorescente inespecífico que se utiliza para teñir células microbianas en una muestra natural para obtener el número total de células.

Electroforesis en gel en gradiente desnaturalizante (DGGE): técnica electroforética capaz de separar fragmentos de ácidos nucleicos del mismo tamaño que se diferencian en la secuencia de bases.

Ecología microbiana: estudio de la interacción entre los microorganismos y entre éstos y su ambiente.

Filotipo: secuencia única de un gen marcador filogenético para el análisis de la comunidad microbiana.

Fraccionamiento isotópico: discriminación enzimática contra el isótopo más pesado de los diferentes isótopos de C o S, que conducen al enriquecimiento de los isótopos más ligeros.

Genómica medioambiental (metagenómica): utilización de métodos genómicos (secuenciación y análisis de genomas) para caracterizar comunidades microbianas naturales.

Hibridación fluorescente *in situ* (FISH): método que emplea un colorante fluorescente unido covalentemente a una sonda nucleotídica específica para identificar o rastrear organismos en el medio ambiente.

Microautorradiografía (MAR): medición de la captación de sustratos radioactivos observando a simple vista las células en una emulsión fotográfica expuesta.

Microelectrodo: electrodo pequeño de vidrio para medir el pH o los compuestos específicos como O_2 o H_2S que se pueden introducir en un hábitat microbiano a intervalos de microescala.

Naranja de acridina: colorante fluorescente inespecífico utilizado para teñir las células microbianas de una muestra natural.

Pinzas de láser: dispositivo utilizado para obtener cultivos axénicos en los que una única célula queda atrapada ópticamente con un haz de láser y se separa de las células circundantes y se siembra en un medio de crecimiento estéril.

Proteína verde fluorescente (GFP): proteína fluorescente que confiere fluorescencia verde a una célula y que se puede utilizar para rastrear un organismo genéticamente modificado en la naturaleza.

Sonda de ácido nucleico: oligonucleótido, normalmente de 10 a 20 bases de longitud, complementario a la secuencia de bases de una secuencia de ácido nucleico en un gen diana o RNA.

Sesgo en el enriquecimiento: un problema con los cultivos de enriquecimiento en los que las especies no deseables tienden a dominar en el enriquecimiento, a menudo con la exclusión de los organismos más abundantes o ecológicamente significativos del inóculo.

Sondeo con isótopos estables: método para caracterizar un organismo que incorpora un sustrato determinado al alimentarlo con el sustrato marcado con ^{13}C, en el que después se aísla el DNA enriquecido con ^{13}C y se analizan los genes.

Técnica del número más probable (NMP): dilución seriada de una muestra natural para determinar la mayor dilución que produce crecimiento.

Preguntas de repaso

1. ¿Cuál es la base de la técnica del cultivo de enriquecimiento? ¿Por qué este método sólo resulta adecuado para el enriquecimiento de determinado grupo o grupos de organismos (Sección 22.1)?
2. ¿Cuál es el principio de la columna de Winogradsky y qué tipos de organismos permite enriquecer? ¿Cómo se podría utilizar una columna de Winogradsky para enriquecer organismos presentes en un ambiente extremo, como el tapete microbiano de una fuente hidrotermal (Sección 22.1)?
3. Describa el principio del NMP para contar las bacterias de una muestra natural (Sección 22.2).
4. ¿Por qué habría que considerar que las pinzas láser sean un mejor método que la dilución y el enriquecimiento líquido a la hora de obtener un organismo muy poco abundante en una muestra (Sección 22.2)?
5. Compare la utilización de los colorantes fluorescentes y los anticuerpos fluorescentes para enumerar las células microbianas en medios naturales. ¿Qué ventajas y limitaciones tienen estos métodos (Sección 22.3)?
6. En la ecología microbiana, ¿pueden las sondas de ácidos nucleicos resultar tan sensibles como los métodos de cultivo? ¿Qué ventajas tienen los métodos de ácidos nucleicos sobre los métodos de cultivo? ¿Y qué desventajas (Sección 22.4)?
7. ¿Cómo funciona la ISRT-FISH? ¿Qué información da sobre una comunidad microbiana que no proporciona la FISH sola (Sección 22.4)?
8. ¿Qué es la proteína verde fluorescente? ¿En qué se diferencia una célula fluorescente verde de una célula fluorescente, por ejemplo, por una tinción filogenética (Sección 22.4)?

www.mmbr.com

9. ¿Cómo se puede obtener un retrato filogenético de una comunidad microbiana sin cultivar a sus habitantes? (Sección 22.5).
10. Después de la amplificación por PCR del DNA total de una comunidad con un par de cebadores específicos, ¿por qué es necesario clonar o migrar en DGGE los productos antes de secuenciarlos? (Sección 22.5).
11. Dé un ejemplo de cómo se ha descubierto con la genómica medioambiental un metabolismo conocido en un organismo nuevo (Sección 22.6).
12. ¿Cuáles son las ventajas principales de los métodos radioisotópicos en el estudio de la ecología microbiana? ¿Qué tipo de controles (discútanse al menos dos) se deberían incluir en un experimento radioisotópico para demostrar la incorporación de $^{14}CO_2$ por las bacterias fotótrofas o la reducción de $^{35}SO_4^{2-}$ por las bacterias reductoras de sulfato? (Sección 22.7).
13. ¿Qué información da la FISH-MAR que no proporciona la FISH sola? (Sección 22.7)
14. Los organismos autótrofos, ¿contendrán más o menos ^{12}C en sus compuestos orgánicos que el presente en el CO_2 del que se alimentan? (Sección 22.8).

Ejercicios prácticos

1. Diseñe un experimento para medir la actividad de las bacterias oxidadoras del azufre en el suelo. Si sólo determinadas especies de oxidadores del azufre presentes fueran metabólicamente activas, ¿cómo lo explicaría? ¿Cómo probaría que su medición de la actividad se debía a una actividad biológica?
2. Desea saber si existen arqueas en una muestra de agua lacustre, pero no consigue cultivarlas. Con el uso de técnicas descritas en este capítulo, ¿cómo podría determinar si hay arqueas en la muestra? Y si fuera así, ¿qué proporción de las células del agua lacustre pertenecerían al dominio arqueas?
3. Diseñe un experimento para solucionar el problema siguiente: determinar la tasa de metanogenia ($CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + H_2O$) en sedimentos lacustres anóxicos con y sin limitación de H_2. Determine también la morfología del metanógeno dominante (recuérdese que son arqueas, Sección 13.4). Finalmente, calcule cuál es el porcentaje del metanógeno dominante en la población total de arqueas y en la población procariótica total de los sedimentos. No olvide especificar los controles necesarios.
4. Diseñe un experimento de SIP en el que se determine qué organismo(s) en una muestra de agua lacustre sería(n) capaz(ces) de oxidar metano (CH_4). Suponiendo que sean cuatro especies diferentes, ¿cómo combinaría la SIP con otros análisis moleculares para identificar estas cuatro especies?

www.medilibro.co

23

Ecosistemas microbianos

I PRINCIPIOS DE ECOLOGÍA MICROBIANA 745
23.1 Conceptos de ecología 745
23.2 Ecosistemas microbianos y ciclo biogeoquímico 746

II EL HÁBITAT MICROBIANO 747
23.3 Ambientes y microambientes 747
23.4 Biopelículas: crecimiento microbiano sobre las superficies 749
23.5 Biopelículas: ventajas y control 751

III ECOSISTEMAS MICROBIANOS DE AGUA DULCE, TERRESTRE Y VEGETAL 752
23.6 Ambientes de agua dulce 752
23.7 Ambientes terrestres 754
23.8 Plantas como hábitat para los microorganismos 757

IV ECOSISTEMAS MICROBIANOS MARINOS 759
23.9 Mar abierto 759
23.10 Profundidades marinas y barofilia 764

Cuando existen superficies, las bacterias crecen en masas adheridas de células llamadas biopelículas. La forma de crecer de las biopelículas tiene un impacto médico y económico significativo sobre los humanos.

Los microorganismos no viven solos en la naturaleza, sino que interaccionan con otros organismos y con su ambiente. Al hacerlo, realizan muchas actividades esenciales que sirven para mantener la vida en la Tierra. En este capítulo, trataremos algunos de los principios más importantes de la ecología microbiana y, luego, exploramos algunos hábitats microbianos típicos: el terrestre, el de las aguas dulces, las plantas y el marino. El cuerpo humano, considerado como un hábitat microbiano, se explora en el Capítulo 28. En el Capítulo 24, examinaremos los hábitats microbianos más especializados y las actividades que desempeñan funciones esenciales en la biología de las plantas y los animales.

I PRINCIPIOS DE ECOLOGÍA MICROBIANA

Comenzamos con algunos principios y terminología de ecología microbiana y nos fijaremos en cómo los organismos interaccionan entre sí de modo beneficioso y dañino.

23.1 Conceptos de ecología

En el Capítulo 1, aprendimos que los microorganismos forman comunidades microbianas en los ecosistemas. Un **ecosistema** es la suma total de todos los organismos y factores abióticos en un ambiente determinado. Un ecosistema contiene muchos **hábitats** diferentes, que son porciones del ecosistema mejor adaptadas a uno o un número pequeño de poblaciones microbianas. Ejemplos de ecosistemas incluyen suelo, agua y el cuerpo animal, entre otros.

A pesar de su pequeño tamaño, los microorganismos dan cuenta de casi la mitad de la biomasa de la Tierra. Ningún hábitat natural sobre la Tierra soporta macroorganismos sin ningún microorganismo, mientras que muchos hábitats microbianos no son adecuados para los macroorganismos. Los microorganismos son ubicuos sobre la superficie de e incluso en las profundidades de la tierra, y la amplitud de los ecosistemas microbianos supera de lejos las de las formas de vida mayores. En conjunto, los microorganismos muestran una gran diversidad metabólica y son los catalizadores primarios de los ciclos de nutrientes en la naturaleza. Los *tipos* de las actividades microbianas posibles en un ecosistema dependen de la composición de las especies, el tamaño de las poblaciones y el estado fisiológico de los microorganismos en cada hábitat. Las *tasas* de las actividades microbianas están controladas por los nutrientes y las condiciones de crecimiento que prevalecen en su hábitat. En condiciones óptimas, las actividades microbianas pueden afectar profundamente un ecosistema, lo que disminuye o impulsa las actividades de otros microorganismos y los macroorganismos que viven en él.

Simbiosis: parasitismo

Muchos microorganismos establecen relaciones con otros organismos. La **simbiosis** se define como una relación entre dos o más organismos que comparten un ecosistema determinado. El **parasitismo** es una forma de simbiosis en la que un miembro en la relación resulta perjudicado. Un parásito es un organismo que obtiene sus nutrientes de otro organismo, el hospedador. Los microorganismos patógenos (que causan enfermedad) pueden vivir un estilo de vida parásito, pero normalmente no se consideran parásitos propiamente dichos porque la mayoría tiene otros modos de crecimiento y supervivencia. En cambio, un organismo como *Giardia*, un protista intestinal de los animales homeotermos que causa síntomas intestinales violentos (Sección 36.6) es un verdadero parásito porque sólo se puede reproducir en su hospedador. Los parásitos raramente matan a sus hospedadores, aunque pueden causar un daño a largo plazo.

Simbiosis: mutualismo y comensalismo

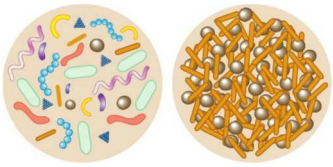
El **mutualismo** es una relación simbiótica en la que ambas especies se benefician. En cambio, el **comensalismo** es una relación simbiótica en la que una especie se beneficia mientras la otra no sale ni beneficiada ni perjudicada. Veremos muchos ejemplos de mutualismo en el próximo capítulo en el que examinamos algunos mutualismos microbianos clásicos, como la relación entre el nódulo radical y la leguminosa, o la panza de los rumiantes.

Los casos bien definidos de comensalismo, por muy frecuentes que sean, resultan más difíciles de identificar. Lo que puede parecer ser una relación comensal puede beneficiar realmente a ambos asociados de algún modo. Las bacterias que habitan en el intestino animal son principalmente comensales porque crecen de los nutrientes que se liberan de los alimentos comidos por el animal. Sin embargo, los estudios de laboratorio con ratones criados asépticamente después del parto para mantenerlos libres de microorganismos han demostrado que aunque muchos microorganismos del intestino no tienen ningún beneficio para el animal, otros excretan nutrientes esenciales, como vitaminas. Muchos de los microorganismos que habitan la rizosfera (zona de las raíces) del suelo probablemente son comensales, que se benefician de compuestos orgánicos excretados por las raíces de las plantas.

Diversidad y abundancia de especies en los hábitats microbianos

Las especies que habitan un ecosistema determinado son las mejor adaptadas para crecer con los nutrientes y en las condiciones que prevalecen en él. La diversidad de las especies microbianas en un ecosistema se pueden expresar de dos formas. Una es la *riqueza de especies*: el número total de especies diferentes que coexisten (**Figura 23.1a**). La riqueza de especies microbianas se puede

UNIDAD 4



(a) (b)

Figura 23.1 Diversidad de especies microbianas: riqueza frente a abundancia. *(a)* Esta comunidad muestra una elevada riqueza de especies y una abundancia de baja a moderada (las diferentes formas celulares representan diferentes especies). *(b)* Esta comunidad muestra una baja riqueza pero una elevada abundancia.

definir en términos moleculares por la diversidad de filotipos (Sección 22.5) en el ecosistema. En cambio, la *abundancia de especies* es la proporción de cada especie en el ecosistema (Figura 23.1*b*). Un objetivo principal de la ecología microbiana consiste en comprender la riqueza y abundancia de especies en un ecosistema, junto con las actividades microbianas principales que se llevan a cabo. Una vez que se conozcan, los ecólogos pueden hacer un modelo del ecosistema microbiano y perturbarlo de algún modo para observar si los cambios predichos coinciden con los resultados experimentales.

La riqueza y la abundancia de especies microbianas de un hábitat está en función de la clase y cantidad de nutrientes disponibles. En algunos hábitats microbianos, como los suelos inalterados ricos en materia orgánica, resulta frecuente una gran riqueza de especies y la mayor parte de las especies presentes se encuentran en abundancia moderada. Los nutrientes en tal hábitat son de muchos tipos diferentes y esto ayuda a seleccionar la gran riqueza de especies. En otros hábitats, como algunos ambientes extremos, la riqueza de especies es a menudo muy baja y la abundancia de una o pocas especies muy elevada porque las condiciones ambientales las excluyen a todas menos a unas poquitas, y los nutrientes clave se encuentran en tal abundancia que las especies muy adaptadas pueden crecer en grandes densidades de células. Las bacterias que catalizan el drenaje ácido de las minas a partir de la oxidación del hierro son un buen ejemplo de ello. Estos organismos proliferan en aguas muy ácidas, ricas en hierro pero con pocos compuestos orgánicos, donde el pH bajo y la ausencia de materia orgánica limitan la riqueza de especies. Sin embargo, la gran cantidad de Fe^{2+} existente, que se oxida a Fe^{3+} en reacciones productoras de energía (Sección 20.11), promueven la elevada abundancia de especies. Examinamos las actividades de los organismos oxidadores de hierro en ambientes ácidos en las Secciones 24.5 y 24.6.

23.1 Minirrevisión

Los ecosistemas contienen comunidades microbianas cuyos componentes pueden interaccionar de varios modos. Las interacciones simbióticas pueden beneficiar a uno o a ambos participantes de la interacción. La riqueza y la abundancia de especies son aspectos de la diversidad de especies en un ecosistema.

- ¿En qué se diferencia un microorganismo parásito de uno comensal?
- ¿Cuál es la diferencia entre la riqueza de especies y la abundancia de especies?

23.2 Ecosistemas microbianos y ciclo biogeoquímico

En cualquier ecosistema habitable, las células microbianas individuales crecen para formar poblaciones. Las poblaciones microbianas relacionadas metabólicamente se denominan **gremios** y los conjuntos de gremios forman las comunidades microbianas (**Figura 23.2**). Las comunidades microbianas interaccionan con macroorganismos y factores abióticos en el ecosistema de tal modo que definen el funcionamiento de dicho ecosistema.

libros.com

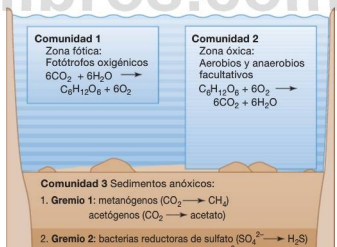


Figura 23.2 Poblaciones, gremios y comunidades. Las comunidades microbianas consisten en poblaciones de células de diferentes especies. En un ecosistema lacustre de agua dulce, por ejemplo, pueden coexistir varias comunidades. Se indican los gremios principales para el caso de las comunidades de un sedimento. La reducción de CO_2, SO_4^{2-}, S^0, NO_3^- y Fe^{3+} son ejemplos de respiraciones anaerobias.

La energía entra en el ecosistema en forma de luz solar, carbono orgánico y sustancias inorgánicas reducidas. Los fotótrofos utilizan la luz (Secciones 20.1 a 20.5) para fabricar ATP y sintetizar nueva materia orgánica (Figura 23.2), que, además de carbono, contiene nitrógeno, azufre, fósforo, hierro y los otros bioelementos (Sección 5.1). Este material orgánico recién sintetizado junto con la materia orgánica que penetra en el ecosistema desde el exterior (denominada materia orgánica *alóctona*) impulsa las actividades catabólicas de los organismos heterótrofos. A continuación, la materia orgánica se oxida a CO_2 mediante la respiración o se fermenta en diferentes sustancias reducidas. Si están presentes y metabólicamente activas en el ecosistema, los quimiolitótrofos obtienen energía de los donadores de electrones inorgánicos, como H, Fe^{2+}, S^0 o NH_3 (Capítulo 21) y contribuyen a la síntesis de nueva materia orgánica a través de sus actividades autótrofas (Figura 23.2).

Ciclos biogeoquímicos

Los microorganismos desempeñan funciones esenciales en el reciclaje de los elementos, especialmente en el caso del carbono, el azufre, el nitrógeno y el hierro. El estudio de estas transformaciones químicas se denomina **biogeoquímica**. Un ciclo biogeoquímico define las transformaciones de un elemento clave catalizadas mediante agentes biológicos o químicos. Los ciclos biogeoquímicos normalmente transcurren a través de reacciones de oxidación y reducción (Sección 5.6) a medida que el elemento se desplaza por el ecosistema. Por ejemplo, el azufre en forma de sulfuro de hidrógeno (H_2S) lo oxidan a azufre (S^0) y sulfato (SO_4^{2-}) una gran cantidad de microorganismos fotótrofos y quimiótrofos. El sulfato es un nutriente clave para las plantas que también se puede reducir a sulfuro por la acción de las bacterias reductoras de sulfato, lo que cierra el ciclo biogeoquímico del azufre al regenerar el H_2S (Sección 24.4).

Muchos microorganismos diferentes participan en las reacciones de los ciclos biogeoquímicos y, en la mayoría de los casos, los microorganismos son los únicos agentes biológicos capaces de regenerar los elementos en la forma que necesitan otros organismos, especialmente las plantas. En el próximo capítulo trataremos muchos ciclos biogeoquímicos, incluidos los de carbono, nitrógeno, azufre y hierro.

23.2 Minirrevisión

Las comunidades microbianas consisten en gremios de organismos relacionados metabólicamente. Los microorganismos desempeñan funciones importantes en las transformaciones energéticas y los procesos biogeoquímicos que sirven para reciclar los elementos esenciales para los sistemas vivos.

- ¿En qué se diferencia un gremio microbiano de una comunidad microbiana?
- ¿Qué es un ciclo biogeoquímico?

II EL HÁBITAT MICROBIANO

Tal y como hemos dicho, un hábitat es el lugar dentro de un ecosistema que está ocupado por un microorganismo, o grupo de microorganismos, determinado. Las condiciones en los hábitats microbianos a menudo son muy específicas, pero están sometidas a cambios rápidos debidos a las entradas y salidas del hábitat y a la actividad microbiana o las perturbaciones físicas.

UNIDAD 4

23.3 Ambientes y microambientes

Los hábitats pueden ser extremadamente diversos y los microorganismos que se encuentran en ellos sustentan la vida. Además de los hábitats comunes terrestres y acuáticos, los microorganismos proliferan en ambientes extremos y también residen en la superficie de los macroorganismos y en su interior. En algunos casos, los microorganismos realmente viven dentro de las células de los macroorganismos. De esta forma, podemos afirmar con seguridad que los hábitats son tan diversos como los microorganismos que viven en ellos.

El microorganismo y su microambiente

En el Capítulo 6 aprendimos que el crecimiento de los microorganismos depende de las fuentes (nutrientes) y de las condiciones de crecimiento de su hábitat (**Tabla 23.1**). Las diferencias en el tipo y cantidad de los recursos y las condiciones físico-químicas de un hábitat definen el

Tabla 23.1 Principales recursos y condiciones que gobiernan el crecimiento microbiano en la naturaleza

Recursos	*Condiciones*
Carbono (orgánico, CO_2)	Temperatura: frío → templado → caliente
Nitrógeno (orgánico, inorgánico)	Potencial del agua: seco → húmedo → mojado
Otros macronutrientes (S, P, K, Mg)	pH: 0 → 7 → 14
Micronutrientes (Fe, Mn, Co, Cu, Zn, Mn, Ni)	O_2: óxico → microóxico → anóxico
O_2 y otros aceptores de electrones (NO_3^-, SO_4^{2-}, Fe_3^+, etc.)	Luz: brillante → atenuada → oscuridad
Donadores de electrones inorgánicos (H_2, H_2S, Fe^{2+}, NH_4^+, NO_2^-, etc.)	Condiciones osmóticas: agua dulce → agua marina → hipersalinidad

nicho de cada microorganismo en particular. La teoría ecológica afirma que para cada organismo existe al menos un *nicho principal* en el que resulta ser el más exitoso. El organismo domina en el nicho principal, pero también puede habitar otros nichos, si bien tiene menos éxito desde el punto de vista ecológico que en su nicho principal, aunque sea capaz de sobrevivir.

Como los microorganismos son muy pequeños, sus nichos también lo serán. El término **microambiente** se utiliza para describir el nicho en el que un microorganismo realmente vive y lleva a cabo su metabolismo. Un nicho microbiano será muy pequeño. Por ejemplo, para una típica bacteria con forma de bacilo de 3 µm, una distancia de 3 mm es enorme: equivale a una distancia de 2 km para un humano. A lo largo de esta distancia de 3 mm pueden existir varios microambientes, cada uno de los cuales ofrece posibilidades de proliferación para diferentes tipos fisiológicos de microorganismos. Considérese, por ejemplo, la distribución de un nutriente microbiano como el oxígeno (O_2) en una partícula de suelo. Se pueden utilizar microelectrodos (Sección 22.7) para medir la concentración de oxígeno a través de pequeñas partículas de suelo. Tal y como se muestra en los datos de un experimento real con microelectrodos (**Figura 23.3**), el contenido de oxígeno de las partículas del suelo no es homogéneo, por lo que contienen muchos microambientes. Las zonas exteriores de las partículas del suelo pueden ser completamente **óxicas,** mientras que el centro, a muy poca distancia (en términos humanos, pero por supuesto es una gran distancia desde un punto de vista microbiano) permanece completamente **anóxico** (sin O_2) (Figura 23.2). Por lo tanto, los organismos anaerobios podrían proliferar cerca del centro de la partícula, los microaerófilos (aerobios que requieren poca cantidad de oxígeno) un poco más afuera, y los aerobios estrictos en la región totalmente óxica más externa de la partícula. Las bacterias anaerobias facultativas se podrían distribuir por toda la partícula.

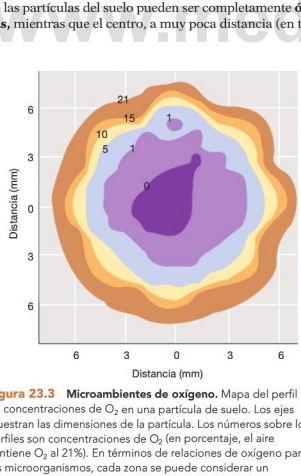


Figura 23.3 **Microambientes de oxígeno.** Mapa del perfil de las concentraciones de O_2 en una partícula de suelo. Los ejes muestran las dimensiones de la partícula. Los números sobre los perfiles son concentraciones de O_2 (en porcentaje, el aire contiene O_2 al 21%). En términos de relaciones de oxígeno para los microorganismos, cada zona se puede considerar un microambiente diferente.

Las condiciones físico-químicas de un microambiente están sujetas a cambios rápidos en cuanto al tiempo y el espacio. Las concentraciones de oxígeno mostradas en la partícula de suelo en la Figura 23.3 representan mediciones «instantáneas». Las mediciones tomadas después de un período de respiración microbiana intensa o después de una alteración debida al viento, lluvia o alteración animal del suelo, podrían diferir considerablemente de los mostrados. Durante estas alteraciones, algunas poblaciones pueden dominar temporalmente las actividades en la partícula de suelo y alcanzar cifras elevadas mientras que otras permanecen durmientes o casi. Sin embargo, si los microambientes mostrados en la Figura 23.3 se restablecen finalmente, también se restablecerán al final las actividades microbianas características de las partículas de suelo originales.

Concentración de los nutrientes y velocidad de crecimiento

Los recursos (Tabla 23.1) entran en un ecosistema normalmente de forma intermitente. Un gran aporte de nutrientes (por ejemplo, una entrada de hojarasca o el cadáver de un animal) pueden ir seguido de un período de gran escasez de nutrientes. Debido a esto, los microorganismos en la naturaleza se enfrentan a menudo a una existencia que alterna entre «abundancia o escasez». Por lo tanto, resulta frecuente que sinteticen polímeros, que servirán material de reserva, cuando los recursos son abundantes. Ejemplos de materiales de reserva son los poli-hidroxialcanoatos, los polisacáridos, los polifosfatos, etc. (Sección 4.10).

Los períodos de crecimiento microbiano exponencial largos son probablemente raros en la naturaleza. El crecimiento se produce normalmente en brotes estrechamente ligados a la disponibilidad y la naturaleza de los recursos. Como es difícil que en la naturaleza todas las condiciones físico-químicas óptimas para el crecimiento microbiano se produzcan al mismo tiempo, la velocidad de crecimiento de los microorganismos en su ambiente normalmente están por debajo de lo registrado en el laboratorio. Por ejemplo, el tiempo de generación de *Escherichia coli* en el intestino de un adulto sano que come a intervalos regulares es de unas 12 horas (se duplica dos veces al día), mientras que en el cultivo axénico crece mucho más rápido, con un tiempo de generación mínimo de 20 minutos en condiciones óptimas (Figura 7.18). Las estimaciones han demostrado que las bacterias del suelo típicas crecen en la naturaleza a menos del 1% de la velo-

www.medilibros.com

cidad de crecimiento máxima que alcanzan en el laboratorio. Por término medio, la velocidad de crecimiento lenta refleja: 1) que los recursos o condiciones de crecimiento (Tabla 23.1) son subóptimos; 2) que la distribución de los nutrientes por todo el hábitat microbiano no es uniforme; y 3) que salvo raras excepciones, los microorganismos en la naturaleza crecen en poblaciones mixtas y no en cultivos axénicos. Un organismo que crece rápidamente en el cultivo axénico puede crecer mucho más lento en un ambiente natural donde debe competir con otros organismos que están igual o mejor adaptados a los recursos y las condiciones de crecimiento disponibles.

Competencia y cooperación microbianas

La competencia entre los microorganismos por los recursos de un hábitat puede ser intensa, por lo que el resultado depende de varios factores, como la tasa de captación de nutrientes, la tasa metabólica propia y, en última instancia, la velocidad de crecimiento. Un hábitat típico alberga una mezcla de especies diferentes (Figuras 23.1 y 23.2), y la densidad de cada población dependerá de lo que se parezca el nicho a su nicho principal.

Algunos microorganismos trabajan juntos para llevar a cabo transformaciones que no podrían realizar por separado. Estos tipos de colaboración microbiana se denominan *sintrofia* (Sección 21.5) y son simbiosis cruciales para el ciclo anóxico del carbono, como se descubrirá en la Sección 24.2. También se aprecia la cooperación metabólica entre los organismos que llevan a cabo metabolismos complementarios. Por ejemplo, en el Capítulo 20 se trataron las transformaciones metabólicas en las que participan dos grupos distintos de organismos, como son las bacterias nitrificantes. Juntas, las bacterias nitrificantes oxidan el NH_3 a NO_3^-, aunque ningún grupo (ni los oxidadores de amoníaco ni los oxidadores de nitrito) es capaz de hacer esto por sí solo (Sección 20.12). Como el producto de las bacterias oxidadoras de amoníaco (NO_2^-) es el sustrato de las bacterias oxidadoras de nitrito, tales organismos viven en la naturaleza por lo general en estrecha asociación dentro de sus hábitats (Figura 22.11*a*).

23.3 Minirrevisión

El microambiente es el lugar dentro de un nicho en el que los microorganismos viven y son activos. En la naturaleza, los microorganismos a menudo llevan una vida de abundancia y escasez, de tal forma que sólo las especies mejor adaptadas alcanzan poblaciones elevadas en un nicho determinado. La cooperación entre los microorganismos también resulta esencial en muchas interrelaciones microbianas.

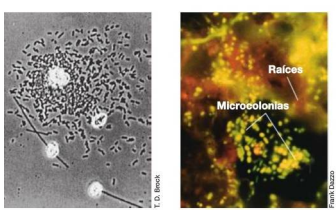
- ¿Qué aspectos definen el nicho de un microorganismo determinado?
- ¿Por qué muchos grupos de organismos fisiológicamente diferentes viven en un único hábitat?

23.4 Biopelículas: crecimiento microbiano sobre las superficies

Las superficies son hábitats microbianos importantes por al menos dos razones. Primera, los nutrientes se adsorben a las superficies y, por lo tanto, a menudo contienen más recursos que los que están disponibles para las células del plancton (células que llevan una existencia flotante, Sección 23.6). Y segunda, las superficies son zonas a las que se adhieren las células microbianas. La adhesión es una manera de permanecer en un hábitat favorable y no ser arrastradas por el agua. En consecuencia, en las superficies se suele detectar un elevado número de microorganismos y mucha actividad.

Los portaobjetos sirven de superficie experimental sobre la que se adhieren y crecen los organismos. Si se introduce un portaobjetos en un hábitat microbiano, se deja durante un tiempo, y después se recupera y se examina al microscopio (**Figura 23.4*a***), se desarrollan microcolonias fácilmente en su superficie al igual que sobre las superficies naturales en su ambiente. De hecho, el examen periódico al microscopio de dichos portaobjetos se ha utilizado para medir la velocidad de crecimiento de los organismos adheridos en la naturaleza.

Una superficie también puede ser un nutriente, como una partícula de materia orgánica, en las que los microorganismos que se adhieren catabolizan los nutrientes directamente desde la superficie de la partícula. Por ejemplo, las raíces vegetales están muy colonizadas por las bacterias del suelo que viven en los exudados orgánicos de la planta, y se pueden utilizar las tinciones fluorescentes para detectarlas y enumerarlas (Figura 23.4*b*).



(*a*) (*b*)

Figura 23.4 Microorganismos sobre superficies. *(a)* Microcolonias bacterianas que se desarrollan en un portaobjetos que se sumergió en un río. Las partículas brillantes son materia mineral. Las células bacilares cortas tienen una longitud de unos 3 μm. *(b)* Fotografía al microscopio de fluorescencia de una comunidad microbiana natural que vive en las raíces de las plantas en el suelo. Obsérvese el desarrollo de microcolonias. La preparación se ha teñido con naranja de acridina.

Biopelículas

A medida que las células bacterianas que crecen sobre superficies, tienden a formar biopelículas: agrupamientos de células bacterianas adheridas a una superficie y encerradas en una matriz adhesiva excretada por las células (**Figura 23.5**). Típicamente, la matriz consiste en una mezcla de polisacáridos, pero pueden contener proteínas e incluso ácidos nucleicos. Las biopelículas atrapan nutrientes para el crecimiento microbiano y ayudan a evitar que se desprendan las células superficiales expuestas a corrientes de líquidos (Figuras 23.5*c*).

Las biopelículas contienen típicamente varias capas porosas y las células de cada capa se pueden examinar mediante microscopia láser confocal de barrido (Sección 2.3) (Figura 23.5*b*). En las biopelículas pueden convivir sólo una o dos especies o, lo más corriente, varias especies de bacterias. La biopelícula que se forma en la superficie de un diente, por ejemplo, contiene varios cientos de filotipos diferentes, que incluyen especies de los dos dominios *Bacteria* y *Archaea*. Por lo tanto, las biopelículas son comunidades microbianas funcionales y no simplemente células atrapadas en una matriz adhesiva. En el Capítulo 6 comparamos el crecimiento en la forma de biopelícula con el del plancton (Información adicional, «Crecimiento microbiano en el mundo real»). Dondequiera que haya superficies sumergidas en ambientes naturales, lo que crece en forma de biopelícula es casi siempre más amplio y diverso que lo del líquido que rodea la superficie.

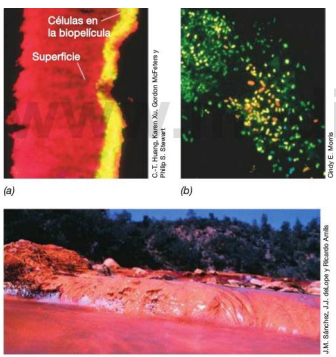


Figura 23.5 Ejemplos de biopelículas microbianas. *(a)* Sección transversal de una biopelícula experimental de células de *Pseudomonas aeruginosa*. La capa amarilla (de unos 15 μm de profundidad) contiene células y se tiñe mediante una reacción que revela la actividad de la fosfatasa alcalina. *(b)* Microscopía láser confocal de barrido de una biopelícula natural (vista superior) en una superficie de una hoja. El color de las células indica su profundidad en la biopelícula: rojo para las células sobre la superficie; verde, a 9 μm de profundidad; azul, a 18 μm de profundidad. *(c)* Una biopelícula de procariotas oxidadoras de hierro adheridas a rocas ricas en hierro de Río Tinto (España). Cuando el agua rica en Fe^{2+} pasa sobre y a través de la biopelícula, los microorganismos oxidadores de hierro oxidan el

Formación de la biopelícula

¿Cómo se forman las biopelículas? La adhesión de una célula a una superficie es una señal que desencadena la expresión de los genes específicos para la biopelícula. Estos genes codifican proteínas que sintetizan las moléculas de señalización intercelulares e inician la formación de la matriz (**Figura 23.6***a*). Una vez comprometida con la formación de una biopelícula, una célula que antes nadaba pierde su flagelo y se inmoviliza. Aunque aún no se ha descubierto el mecanismo, de algún modo las bacte-

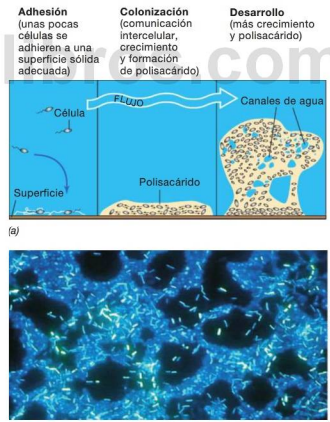


Figura 23.6 Formación de biopelículas. *(a)* Las biopelículas comienzan con la adhesión de unas pocas células que luego crecen y se comunican con otras células. Se forma la matriz y se extiende a medida que crece la biopelícula. *(b)* Fotografía al microscopio de una biopelícula teñida con DAPI que crece sobre una tubería de acero inoxidable. Obsérvense los canales de agua.

rias «sienten» una superficie adecuada y coordinan los acontecimientos que conducen al modo de crecimiento en biopelícula. Se está investigando activamente cómo se percibe la superficie, pero el cambio real del crecimiento en plancton al crecimiento de biopelícula lo desencadena la síntesis de de guanosina-monofosfato dimérica cíclico (c-di-GMP), un derivado del nucleótido guanosina-trifosfato. El c-di-GMP lo sintetizan una serie de proteínas relacionadas con las proteínas perceptoras de membrana que, de algún modo, detectan la posibilidad de crecer adheridas a la superficie. Se piensa que el c-di-GMP funciona desencadenando la expresión de los genes específicos de la biopelícula y activando las enzimas celulares que sintetizan el material de la matriz.

La comunicación intercelular es decisiva para el desarrollo y mantenimiento de una biopelícula. En *Pseudomonas aeruginosa*, un notable formador de biopelículas (**Figura 23.7**), las moléculas señalizadoras intercelulares principales son compuestos llamados *de homoserina-lactonas aciladas*. A medida que se van acumulando, transmiten a otras células de *P. aeruginosa* adyacentes (un mecanismo llamado *percepción de quórum*, Sección 8.10) que la población de esta especie está aumentando y entonces se desarrolla la biopelícula (Figura 23.7*a*). Con el tiempo, se forman grandes «hongos» de *P. aeruginosa* que miden unos 100 μm de alto y que contienen miles de millones de células atrapadas en una matriz de polisacáridos pegajosa (Figura 23.7*b*).

Pueden aparecer biopelículas de *P. aeruginosa* en la fibrosis quística. Este enfermedad genética está relacionada a menudo con la formación de una biopelícula tenaz de *P. aeruginosa* en los pulmones, que produce síntomas de neumonía. Sin embargo, al igual que la mayor parte de las biopelículas, la biopelícula de la fibrosis quística contiene más de una especie bacteriana (Información adicional, «Crecimiento microbiano en el mundo real», Capítulo 6). Por lo tanto, además de la señalización *intra*especie, en las biopelículas probablemente también se produzca la señalización *inter*especies para coordinar las etapas necesarias para formar y mantener la estructura.

(a) (b)

Figura 23.7 Biopelículas de *Pseudomonas aeruginosa*. *(a)* «Botones» pequeños de células de *P. aeruginosa* adheridos a una superficie en las primeras etapas de la formación de la biopelícula. *(b)* Un «hongo» de biopelículas maduro. El hongo más grande mide unos 120 μm de altura. Compárese con la Figura 23.6*a*.

23.4 Minirrevisión

Las superficies son hábitats ideales para el crecimiento bacteriano. Los biopelículas son comunidades microbianas de superficie, estructuradas, incluidas en una matriz adhesiva.

- ¿Por qué las superficies son hábitats microbianos atractivos?
- ¿Qué observaciones indican que la formación de biopelículas es un esfuerzo cooperativo entre las células?

23.5 Biopelículas: ventajas y control

El estilo de vida en biopelículas confiere muchas ventajas respecto a las poblaciones microbianas y, una vez formadas, las biopelículas pueden ser muy difíciles de controlar.

¿Por qué forman biopelículas las bacterias?

Existen al menos cuatro razones para formar biopelículas. Primero, las biopelículas son un medio de autodefensa microbiana, pues resisten fuerzas físicas que podrían llevarse las células no adheridas. Además, las biopelículas resisten la fagocitosis de células del sistema inmunitario y la penetración de moléculas tóxicas, como los antibióticos. Todas estas ventajas mejoran las posibilidades de supervivencia de las células de la biopelícula. Segundo, la formación de biopelículas permite que las células permanezcan en un nicho favorable. Las biopelículas adheridas a las superficies ricas en nutrientes, como los tejidos animales, o a las superficies en sistemas en flujo, como una roca en un arroyo (Figura 23.5*c*), fijan las células bacterianas a lugares en los que los nutrientes abundan más o se reponen constantemente. Tercero, las biopelículas se forman porque permiten que las células bacterianas vivan muy cerca unas de otras. Tal y como hemos visto en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 22.7) y la biopelícula que se forma en los pacientes con fibrosis quística, esto facilita la comunicación intercelular y aumenta las posibilidades de supervivencia. Además, cuando las células se encuentran muy cercanas, aumentan las posibilidades de intercambiar genes (Capítulo 11).

Finalmente, las biopelículas parecen ser la manera típica en la que las células bacterianas crecen en la naturaleza, donde las concentraciones de nutrientes a menudo son de uno a dos órdenes de magnitud menores que en los medios de cultivo en el laboratorio. De hecho, la biopelícula puede ser la forma de crecimiento por omisión para las procariotas en su ambiente natural, donde la concentración de los nutrientes difiere considerablemente de

la que hay en los medios de cultivo líquidos ricos utilizados en el laboratorio. Por lo tanto, cuando se dispone de una superficie en un ambiente natural, el crecimiento en plancton puede ser sólo la norma para las bacterias adaptadas a la vida en concentraciones de nutrientes muy bajas (tratadas en las Secciones 23.6 y 23.9).

Control de las biopelículas

Los biopelículas tienen importantes repercusiones en medicina humana y en el comercio. En el cuerpo, las células bacterianas de una biopelícula están protegidas ante el ataque del sistema inmunitario, y los antibióticos y otros fármacos antimicrobianos a menudo no logran atravesar la biopelícula. Las biopelículas son las responsables de afecciones médicas y dentales, incluidas la periodontitis, los cálculos renales, la tuberculosis, la legionelosis e infecciones por *Staphylococcus*. Los implantes médicos son superficies excelentes para el desarrollo de las biopelículas, que incluyen los dispositivos a corto plazo, como un catéter urinario así como implantes a largo plazo, como articulaciones artificiales. Se estima que en los Estados Unidos 10 millones de personas al año sufren infecciones por biopelículas debidas a implantes o procedimientos médicos invasores. Las biopelículas explican por qué la higiene bucal diaria es tan importante para mantener la salud dental. La placa dental es una biopelícula típica y contiene bacterias productoras de ácidos responsables de la caries dental (Sección 28.3).

En la industria, las biopelículas pueden reducir el flujo del agua, aceite u otros líquidos a través de tuberías y pueden acelerar la corrosión de los propios tubos. Las biopelículas también inician la degradación de objetos sumergidos, como los componentes estructurales de las plataformas petrolíferas en alta mar, embarcaciones e instalaciones costeras. La calidad del agua potable puede verse amenazada por las biopelículas que crecen en los conductos de distribución del agua, muchas de las cuales en los Estados Unidos tienen casi 100 años. Aunque las biopelículas de los conductos de agua contienen principalmente microorganismos inocuos, si algún patógeno consigue colonizar la biopelícula, las prácticas de cloración estándares no conseguirían acabar con ellos. La liberación periódica de células pueden ocasionar brotes de enfermedad. Existe cierta preocupación ante la posibilidad de que *Vibrio cholerae*, el agente causante del cólera (Sección 36.5) se pueda propagar de este modo.

El control de las biopelículas es un gran negocio y, hasta ahora, sólo existen unas pocas herramientas para combatir las biopelículas. En conjunto, las industrias destinan enormes recursos financieros para tratar las tuberías y otras superficies para mantenerlas libres de biopelículas. Se están desarrollando nuevos fármacos antimicrobianos capaces de penetrar en las biopelículas así como fármacos que previenen su formación al interferir con la comunicación intercelular. Por ejemplo, una clase de productos químicos llamados *furananonas* parecen prometedores a la hora de prevenir la formación de biopelículas en los ensayos sobre superficies abióticas. Las furananonas también son estables y algunas son relativamente inocuas, por lo que se podrían aplicar como fármacos antibiopelículas también en medicina.

23.5 Minirrevisión

Las biopelículas confieren varias ventajas protectoras a las células. Los productos de excreción que forman las biopelículas conducen a la destrucción de superficies vivas e inertes y en la actualidad se dispone de unos pocos fármacos antibiopelículas muy eficaces.

- ¿Por qué una biopelícula podría ser un buen hábitat para las células bacterianas que viven en un sistema de corrientes?
- Dé un ejemplo de un biopelícula de importancia médica que alberguen probablemente la mayor parte de los humanos.

III ECOSISTEMAS MICROBIANOS DE AGUA DULCE, TERRESTRE Y VEGETAL

Entre los ecosistemas microbianos principales están el suelo y el agua dulce, entre las que se encuentran lagos, charcas y ríos y corrientes, y la superficie de las plantas. Estos ecosistemas pueden variar enormemente en la estructura física, la composición de nutrientes y la temperatura, y todos estos factores pueden influir en la diversidad y la abundancia de los microorganismos presentes.

23.6 Ambientes de agua dulce

Los ambientes de agua dulce son muy variables en los recursos y las condiciones (Tabla 23.1) disponibles para el crecimiento microbiano. Tanto los organismos productores de oxígeno como los consumidores están presentes en ambientes acuáticos, y el equilibrio entre la fotosíntesis y la respiración controla el oxígeno y los ciclos de carbono en la naturaleza.

Producción primaria

Los fotótrofos oxigénicos en suspensión libre en el agua se llaman *fitoplancton* e incluyen algas y cianobacterias. El término «plancton» significa «flotante» y estos organismos viven en las columnas de agua de lagos, y a veces se acumulan en gran cantidad a una determinada profundidad. Los fotótrofos adheridos al fondo o a los lados de un lago o corriente son especies *bentónicas*.

Como los fotótrofos oxigénicos obtienen su energía de la luz y utilizan el agua como donador de electrones para reducir el CO_2 a materia orgánica (Sección 20.5), se

llaman **productores primarios**. La actividad de los gremios de microorganismos heterótrofos en ecosistemas acuáticos (Figura 23.2) depende en gran medida de la tasa de la producción primaria. Los fotótrofos oxigénicos producen nuevo material orgánico y oxígeno. Si la actividad fotosintética es muy elevada, el exceso de materia orgánica lleva al agotamiento del O_2 y a condiciones anóxicas, lo que a su vez desencadena los metabolismos anaerobios, como las respiraciones anaerobias y las fermentaciones. Al igual que el fitoplancton, los procariotas fotosintéticos anoxigénicos pueden también fijar el CO_2 en materia orgánica. Pero estos organismos utilizan sustancias reducidas, como el H_2S o el H_2, como donadores de electrones fotosintéticos (Sección 20.4). Sin embargo, la materia orgánica producida por los fotótrofos anoxigénicos se difunde por las aguas óxicas y aumenta la respiración, lo que acelera la diseminación de las condiciones anóxicas.

Relaciones con el oxígeno en los lagos

Aunque el oxígeno es uno de los gases más abundantes en la atmósfera (~21% de aire), es poco hidrosoluble y, en las grandes masas de agua, su intercambio con la atmósfera es lento. La producción fotosintética significativa del oxígeno se produce sólo en las capas superficiales de un lago u océano, donde llega la luz (Figura 23.2). La materia orgánica que no se consume en las capas superficiales va a parar al fondo, donde se descompone por la acción de los quimioorganótrofos anaerobios, incluidos los que fermentan y respiran de forma anaerobia.

Una vez que se consume el oxígeno de los lagos de agua dulce, las capas profundas se vuelven anóxicas y no pueden crecer los organismos estrictamente aerobios como las plantas superiores y los animales. En su lugar, las capas del fondo contienen procariotas anaerobios y unos pocos eucariotas anaerobios, protistas en particular. Además, en las aguas anóxicas se produce una transición de metabolismo respiratorio a metabolismo fermentador y metanógeno, con importantes repercusiones para los ciclos del carbono y de otros nutrientes (Secciones 24.1 a 24.5).

Que en una masa de agua se agote realmente el oxígeno depende de varios factores, como la cantidad de materia orgánica presente y la mezcla de la columna de agua. Si la materia orgánica es escasa, o se encuentra en lagos limpios o en el mar abierto, es posible que no haya suficiente sustrato disponible para que los heterótrofos consuman todo el oxígeno. Los microorganismos presentes en tales ambientes son típicamente oligótrofos: organismos adaptados al crecimiento en condiciones muy diluidas (Sección 23.9). Si las corrientes son fuertes o si hay turbulencias debido a la mezcla por el viento, la columna de agua se mezclará bien y, en consecuencia, el oxígeno se puede alcanzar las capas más profundas.

En muchos lagos de climas templados, la columna de agua se estratifica durante el verano, con las capas superficiales más calientes y menos densas, llamadas el **epilimnion**, separadas de las capas del fondo más frías y densas (el **hipolimnion**) (**Figura 23.8**). La *termoclina* es la zona de transición del epilimnion al hipolimnion. Después de la estratificación que se establece a comienzos del verano, las capas del fondo se vuelven anóxicas (Figura 23.8). A menudo, estos lagos contienen gran cantidad de materia orgánica disuelta a partir de los nutrientes inorgánicos que se desprenden del suelo que rodea los lagos. Los nutrientes favorecen las explosiones de crecimiento (*blooms*) de fitoplancton que aumentan el contenido orgánico del lago.

En los lagos de los climas templados a finales del otoño y principios del invierno, las aguas de la superficie se vuelven más frías, y por lo tanto más densas, que las capas del fondo. Esto hace que el agua fría se hunda y que el lago se «recambie», lo que vuelve a airear las aguas del fondo. Este ciclo anual permite que las aguas del fondo pasen de óxicas a anóxicas y de nuevo a óxicas. La actividad microbiana y la composición de la comunidad se alteran con estos cambios en el contenido de oxígeno, aunque también las gobiernan otros factores que acompañan el recambio del otoño, especialmente los cambios en la temperatura y la cantidad de nutrientes.

Ríos y corrientes

La concentración de oxígeno en los ríos resulta particularmente interesante, sobre todo en los ríos que reciben entradas de materia orgánica de las aguas residuales y de la contaminación agrícola e industrial. Incluso aunque

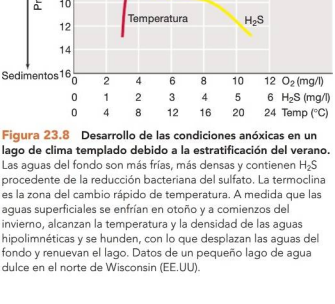


Figura 23.8 Desarrollo de las condiciones anóxicas en un lago de clima templado debido a la estratificación del verano. Las aguas del fondo son más frías, más densas y contienen H_2S procedente de la reducción bacteriana del sulfato. La termoclina es la zona del cambio rápido de temperatura. A medida que las aguas superficiales se enfrían en otoño y a comienzos del invierno, alcanzan la temperatura y la densidad de las aguas hipolimnéticas y se hunden, con lo que desplazan las aguas del fondo y renuevan el lago. Datos de un pequeño lago de agua dulce en el norte de Wisconsin (EE.UU).

en un río se mezclen profusamente debido al flujo rápido del agua y a las turbulencias, los aportes orgánicos elevados pueden conducir a un notable déficit de oxígeno debido a la respiración bacteriana (**Figura 23.9a**). A medida que el agua se aleja del lugar donde se produce la descarga, por ejemplo una salida de alcantarillado, la materia orgánica se consume gradualmente y la concentración de oxígeno regresa a la normalidad.

El agotamiento del oxígeno en los ecosistemas de agua dulce es indeseable porque muchos animales acuáticos mueren incluso en intervalos breves de anoxia. Además, la anoxia provoca el crecimiento de bacterias anaerobias que producen compuestos odoríferos (por ejemplo, aminas, H_2S, mercaptanos, ácidos grasos), algunos de los cuales también son tóxicos para los organismos superiores. Como en los lagos, los aportes de nutrientes de aguas residuales u otros contaminantes en ríos y corrientes también pueden favorecer los brotes masivos de cianobacterias, algas y plantas acuáticas (Figura 23.9*b*). La carga creciente de materia orgánica de resultas de estos brotes finalmente conduce al agotamiento del oxígeno cuando la biomasa se muere y la mineralizan los organismos heterótrofos.

(a)

(b)

Figura 23.9 Efecto de la entrada de aguas residuales ricas en materia orgánica en los sistemas acuáticos. *(a)* En un río, aumenta aumenta en número de bacterias y disminuye la concentración de O_2 con el enriquecimiento en materia orgánica. El aumento del número de algas y cianobacterias es la primera respuesta a los nutrientes inorgánicos, especialmente PO_4^{3-} *(b)* Foto de un lago eútrofo (rico en nutrientes), el Lago Mendota de Madison, Wisconsin (USA), que muestra la proliferación de algas, cianobacterias y plantas acuáticas en respuesta a la contaminación con nutrientes de la escorrentía agrícola.

Demanda bioquímica de oxígeno

La capacidad microbiana de consumir oxígeno que tiene una masa de agua se llama su **demanda bioquímica de oxígeno (DBO).** Para determinar la DBO del agua se toma una muestra, se airea bien para saturar el agua con O_2 disuelto, se coloca en una botella sellada, se incuba durante un tiempo estándar en la oscuridad (normalmente 5 días a 20 °C) y se determina el oxígeno en el agua al final de la incubación. La determinación de la DBO ofrece una medida de la cantidad de materia orgánica del agua que los microorganismos presentes en ella pueden oxidar. A medida que un río se recupera de una entrada de materia orgánica o de un exceso de producción primaria, el descenso de la DBO viene acompañado del aumento correspondiente del oxígeno disuelto en el ecosistema (Figura 23.9*a*).

Por lo tanto, vemos que, en los hábitats de agua dulce, los ciclos del oxígeno y del carbono están ligados: el aumento de carbono orgánico está inversamente correlacionado con el oxígeno. Aunque la fotosíntesis oxigénica produce O_2, la producción correspondiente de materia orgánica conduce al agotamiento de O_2. Los ambientes acuáticos anóxicos, que normalmente son ricos en materia orgánica, son el resultado final de los procesos respiratorios que eliminan el oxígeno disuelto del ecosistema, y dejan que el resto del material orgánico se mineralice por los organismos de metabolismos energético anaerobio que tratamos en el Capítulo 21.

23.6 Minirrevisión

En los ecosistemas acuáticos, los microorganismos fotótrofos son los principales productores primarios. La mayor parte de la materia orgánica producida la consumen las bacterias, lo que conlleva al agotamiento del oxígeno en el ambiente. La DBO es una medida del consumo de oxígeno en una muestra de agua.

- ¿Qué es un productor primario?
- En un lago de agua dulce, ¿dónde se encuentra el epilimnion y donde se encuentra el hipolimnion?
- Al añadir materia orgánica a una muestra de agua, ¿se aumenta o se disminuye la DBO?

23.7 Ambientes terrestres

El término *suelo* se refiere al material externo suelto de la superficie de la Tierra, una capa diferente del lecho de roca subyacente (**Figura 23.10**). El suelo se desarrolla a lo

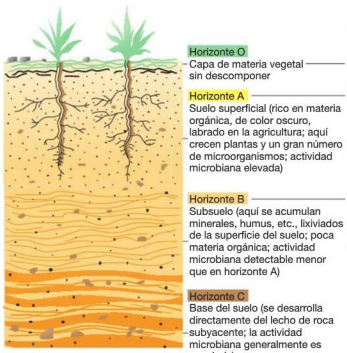


Figura 23.10 **Suelo.** *(a)* Perfil de un suelo maduro. Los horizontes del suelo son las zonas que definen los especialistas. *(b)* Fotografía de un perfil de suelo que muestra los horizontes O, A y B. Estos suelos no están bien drenados como los que contienen principalmente arena.

UNIDAD 4

largo de extensos períodos de tiempo por interacciones complejas entre el material original (roca, arena, derrubios glaciares, etc.), la topografía, el clima y los seres vivos. Los suelos se pueden clasificar en dos grandes grupos, los *suelos minerales* y los *suelos orgánicos*, según procedan de la erosión de la roca y otros materiales inorgánicos, o de la sedimentación en turberas y ciénagas, respectivamente. Nos centraremos en los suelos minerales, el suelo predominante en la mayor parte de los ambientes terrestres.

Composición del suelo

Los suelos se componen de al menos cuatro componentes, que son: 1) material mineral inorgánico, normalmente en torno al 40% del volumen del suelo; 2) materia orgánica, normalmente en torno al 5%; 3) aire y agua, rondando el 50% y 4) organismos vivos, tanto microorganismos como macroorganismos. En el suelo se encuentran partículas de diferentes tamaños. Los científicos clasifican las partículas del suelo según su tamaño: las de 0,1 a 2 mm de diámetro se llaman *arena*, la que tienen entre 0,002 y 0,1 mm *limo* y las de menos de 0,002 mm de diámetro *arcilla*. Las diferentes clases de textura del suelo reciben nombres como «arcilla arenosa» o «arcilla limosa» basándose en el porcentaje de arena, limo y arcilla que contienen. Un suelo en el que no domina ningún tamaño de partícula se llama *marga*.

Formación del suelo

Los suelos se forman como resultado de una combinación de procesos físicos, químicos y biológicos. El examen de cualquier roca a la intemperie revela la presencia de algas, líquenes o musgos. Estos organismos permanecen latentes o casi latentes sobre la roca seca, pero crecen cuando hay humedad. Son fotótrofos y producen materia orgánica, lo que permite el crecimiento de bacterias quimioorganótrofas y hongos. Las poblaciones de quimioorganótrofos aumentan a medida que aumenta la cubierta vegetal de la roca y, finalmente, se desarrollan comunidades microbianas. El dióxido de carbono producido durante la respiración se disuelve en el agua para formar ácido carbónico (H_2CO_3) que disuelve lentamente la roca, especialmente las que contienen piedra caliza ($CaCO_3$). Además, muchos quimioorganótrofos excretan ácidos orgánicos, que también favorecen la disolución de la roca en partículas más pequeñas.

La congelación, descongelación y otros procesos abióticos ayudan a formar el suelo al agrietar las rocas. Con la combinación de las partículas generadas y la materia orgánica, se forma el suelo bruto en estas hendiduras, donde crecen las plantas colonizadoras. Las raíces de las plantas van penetrando en las hendiduras y aumentan la fragmentación de la roca, y sus excreciones favorecen el desarrollo de una microbiota en la rizosfera (el suelo que rodea las raíces de las plantas, Figura 23.4*b*). Cuando las plantas mueren, sus restos se añaden al suelo en ciernes y se convierten en nutrientes para un desarrollo microbiano más extenso. Se solubilizan los minerales y a medida que se filtra el agua, arrastra algunas de estas sustancias al suelo más profundo.

A medida que continúa la meteorización, el suelo se hace más profundo, lo que permite el desarrollo de plantas superiores y pequeños árboles. Aparecen los animales del suelo y desempeñan una función importante a la

hora de mantener mezcladas y aireadas las capas superiores del suelo. Con el tiempo, el movimiento de los materiales corriente abajo da lugar a la formación de las capas del suelo, denominado un *perfil de suelo* (Figura 23.10). La velocidad de formación de un perfil de suelo típico depende de factores climáticos y de otro tipo, si bien puede durar de cientos a miles de años.

El suelo como hábitat microbiano

El crecimiento microbiano más importante se desarrolla en las superficies de las partículas del suelo, normalmente con la rizosfera (Figura 23.4). Tal y como hemos observado en la Sección 23.2, incluso un pequeño agregado del suelo puede contener muchos microambientes diferentes (compárense las **Figuras** 23.3 y **23.11**) y, por lo tanto, ayuda a que crezcan diferentes tipos de microorganismos. Para examinar directamente las partículas del suelo en busca de microorganismos se utilizan microscopios de fluorescencia, tiñendo los organismos en el suelo con un colorante fluorescente (Figura 23.3*b*). Para observar un microorganismo específico en una partícula de suelo también se pueden utilizar la tinción con anticuerpos fluorescentes (Figura 22.8) o la FISH (Sección 22.4). Igualmente, se pueden observar directamente los microorganismos sobre la superficie del suelo con el microscopio electrónico de barrido (**Figura 23.12**).

Uno de los factores principales que alteran la actividad microbiana en el suelo es la disponibilidad del agua, cuya importancia para el crecimiento microbiano ya se ha tratado (Sección 6.16). El agua es un componente muy variable del suelo y su presencia depende de la composición del suelo, de la lluvia, del drenaje y de la cubierta vegetal. El agua permanece en el suelo de dos maneras: por adsorción en las superficies o como agua libre en capas finas o películas entre las partículas del suelo (Figura 23.11).

El agua de los suelos tiene materiales disueltos, y la mezcla se denomina *solución del suelo*. En los suelos bien drenados, el aire penetra fácilmente y la concentración de oxígeno de la solución del suelo puede ser elevada. Sin embargo, en los suelos encharcados, el único oxígeno presente es el disuelto en el agua, que se consume rápidamente por la microbiota residente. Entonces, estos suelos se vuelven anóxicos y, tal y como se describió para los ecosistemas de agua dulce (Sección 23.6), muestran cambios profundos en sus propiedades biológicas.

El otro factor importante que afecta a la actividad microbiana en los suelos es la cantidad de recursos presentes. La mayor parte de la actividad microbiana se encuentra en las capas de la superficie ricas en materia orgánica, especialmente en la rizosfera y sus alrededores (Figuras 23.4*b* y 23.10). La cantidad de los microorganismos del suelo y su actividad dependen en gran medida del tipo de nutrientes presentes y su abundancia. A menudo, el nutriente limitante en los suelos no es el carbono sino los nutrientes inorgánicos como el fósforo y el nitrógeno, componentes clave de varias clases de macromoléculas (Secciones 3.1, 3.2 y 5.1).

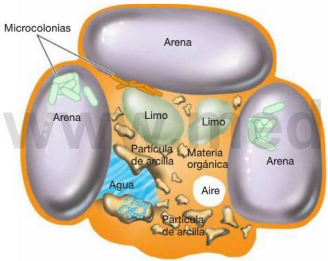
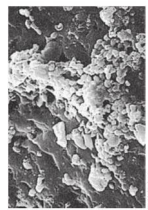


Figura 23.11 Un hábitat microbiano del suelo. Muy pocos microorganismos están libres en la disolución del suelo: la mayor parte de ellos residen en microcolonias adheridas a las partículas de suelo. Obsérvese la diferencia de tamaño relativo entre las partículas de arena, arcilla y limo.

www.edicionesmedicas.com

Figura 23.12 Imágenes al microscopio electrónico de barrido de microorganismos sobre la superficie de partículas del suelo. *(a)* Una microcolonia de cocobacilos. *(b)* Esporas de actinomicetos. Las células en *(a)* y las esporas en *(b)* miden de 1 a 2 μm de ancho. *(c)* Hifas fúngicas. Las hifas miden unos 4 μm de ancho y están cubiertas de materia mineral. La cantidad de células microbianas en un suelo determinado puede variar ampliamente y es un reflejo de la cantidad de nutrientes y agua, y del grado de aireación.

(a)



(b)

(c)

Microbiología de la subsuperficie profunda

La subsuperficie profunda del suelo, que se puede extender varios cientos de metros por debajo de la superficie del suelo, no es un yermo biológico. Aunque el número de microorganismos es mucho menor que en suelo del horizonte A (Figura 23.10), en los suelos de la subsuperficie profunda habitan muy diversos microorganismos, principalmente procariotas. Por ejemplo, en las muestras recogidas asépticamente en perforaciones a 300 m de profundidad se han encontrado diversas poblaciones de los dominios *Bacteria* y *Archaea*, incluidos anaerobios tales como bacterias reductoras de sulfato, metanógeno y acetógenos (Secciones 21.8 a 21.10) así como varios aerobios y anaerobios facultativos.

Los microorganismos en la subsuperficie profunda tienen acceso a nutrientes porque el agua subterránea fluye a través de sus hábitats, pero la medición de la actividad indica que la tasa metabólica de estas bacterias es más bien baja en sus hábitats soterrados (Información adicional «Vida microbiana en las profundidades de la Tierra»). En comparación con los microorganismos de las capas superiores del suelo, la importancia biogeoquímica de los microorganismos de la subsuperficie profunda debe ser, por lo tanto, mínima. Sin embargo, durante períodos muy largos y debido a que el volumen de los suelos de la subsuperficie profunda es tan vasto, la actividad metabólica colectiva de estos microorganismos soterrados es probablemente la responsable de la mineralización de grandes cantidades de materia orgánica y de la liberación de productos metabólicos a las aguas subterráneas.

La biorremediación microbiana (limpieza de los suelos y aguas contaminados, Sección 24.9) es un método para eliminar sustancias tóxicas como compuestos químicos aromáticos y agrícolas lixiviados del suelo a las aguas subterráneas y la subsuperficie profunda. Existen dos métodos: en uno, se añaden los nutrientes inorgánicos, especialmente el nitrógeno y el fósforo, para estimular la biodegradación de las sustancias químicas orgánicas tóxicas por la microbiota residente; en el otro método, se introducen grandes cantidades de células bacterianas específicas en la subsuperficie profunda para acelerar el proceso de biodegradación.

23.7 Minirrevisión

El suelo es un hábitat complejo con muchos microambientes y nichos. Los microorganismos están presentes en el suelo principalmente unidos a partículas de éste. El factor más importante que influye en la actividad microbiana en el suelo de la superficie es la disponibilidad del agua, mientras que en el suelo profundo (el ambiente de la subsuperficie), la disponibilidad de nutrientes es el factor principal.

- Distinga los suelos minerales de los suelos orgánicos.
- ¿Qué factores rigen la extensión y el tipo de actividad microbiana de los suelos?
- ¿Qué región del suelo es la más activa desde el punto de vista microbiológico?

23.8 Plantas como hábitat para los microorganismos

Como hábitat microbiano, las plantas son considerablemente diferentes de los animales y también de cualquiera de los hábitats que hemos considerado hasta ahora. Comparada con los animales homeotermos, la temperatura de las plantas varía enormemente tanto durante el día como a lo largo todo el año. Comparado con el complejo aparato circulatorio de un animal, el sistema de comunicación interno de una planta está poco desarrollado, por lo que la transferencia de los microorganismos dentro de la planta es relativamente ineficaz. Comparadas con los ecosistemas microbianos terrestre y de agua dulce, las superficies de las plantas están totalmente expuestas al oxígeno y pueden ser ricas en materia orgánica de exudados producidos por la planta. Y, finalmente, como las plantas necesitan estar expuestas a la luz solar, las comunidades microbianas de la superficie de las plantas están expuestas a la radiación ultravioleta potencialmente dañina y sufren muchos más efectos fotooxidativos que los microorganismos en la mayoría de las comunidades.

Rizosfera y filosfera

Las partes de la planta por encima del suelo, especialmente las hojas y los tallos, están sujetas a sequías intermitentes. Por este motivo, muchas plantas contienen cubiertas de cera en las hojas que sirven para retener la humedad e impedir la entrada de los microorganismos. Las raíces, en cambio, son una importante zona de actividad microbiana. Aquí, la humedad es menos variable, la concentración de los nutrientes y la actividad microbiana son generalmente elevadas y la comunidad microbiana es más diversa y abundante.

La **rizosfera** es la región que rodea la raíz (Figura 23.10*b*); se trata de una zona en la que la actividad microbiana suele ser elevada. El *rizoplano* es la superficie real de la raíz. El número de microorganismos es casi siempre mayor en la rizosfera y el rizoplano que en las regiones del suelo desprovistas de raíces, a menudo muchas veces superior, porque las raíces excretan cantidades significativas de azúcares, aminoácidos, hormonas y vitaminas. A menudo, las bacterias y los hongos forman microcolonias en la superficie de las raíces para tener un acceso rápido a estos nutrientes (**Figura 23.13b, c**).

La *filosfera* es la superficie de la hoja de la planta. En condiciones de humedad elevada, como en los bosques húmedos de las zonas tropicales y templadas, la microbiota de las hojas puede ser muy abundante e incluir hongos (Figura 23.13*a*) y bacterias. Muchas bac-

UNIDAD 4

www.libros.com

Información adicional

Vida microbiana en las profundidades de la Tierra

Los microbiólogos que estudian la subsuperficie profunda terrestre han hallado células procariotas viables a varios *miles* de metros de profundidad bajo la superficie. ¿De qué viven estos microorganismos en estos hábitats inusuales? Los primeros hallazgos indicaban que estos microorganismos soterrados eran quimioorganótrofos que metabolizaban el carbono orgánico depositado dentro de los sedimentos. Sin embargo. los estudios de acuíferos del basalto profundo[1] han demostrado que los quimioorganótrofos lentos no son los únicos organismos viables que habitan en las profundidades. También se pueden encontrar procariotas quimiolitótrofos, que probablemente dominen la vida microbiana de las profundidades.

Los basaltos son rocas volcánicas ricas en hierro que están esencialmente desprovistos de materia orgánica. En algunos basaltos de hasta 1.500 m de profundidad en la cuenca del río Columbia (Washington, EE.UU.), se han descubierto grandes cantidades de bacterias y arqueas anaerobias y quimiolitótrofas (**Figura 1a**), entre ellas bacterias reductoras de sulfato, metanógenos y acetógenos[1]. Los análisis del isótopo estable del carbono demostraron que los metanógenos eran responsables del metano (CH_4) presente en las rocas. Las mediciones mostraron un gran enriquecimiento en el isótopo más ligero del carbono (^{12}C) en el metano, que es indicativo de la metanogenesis biológica (Sección 22.8). Si los metanógenos de las profundidades están activos, es probable que los otros grupos fisiológicos también lo estén porque en un ambiente donde escasea la materia orgánica, el metabolismo común que une a estos organismos es el hidrógeno molecular (H_2).

El H_2 es un excelente donador de electrones para los metabolismos productores de energía de los metanógenos, las bacterias reductoras de sulfato y los acetógenos (Secciones 21.8 a 21.10). El H_2 es un producto corriente del catabolismo fermentativo de la materia orgánica. Pero si los basaltos contienen muy poca materia orgánica, ¿de dónde procede el H_2 que sustenta el metabolismo de los organismos que lo consumen? El H_2 en los basaltos del río Columbia se origina aparentemente de la interacción química del agua con los minerales de hierro en las rocas (*véase* la reacción propuesta en la Figura 1*b*). Son reacciones conocidas de la química inorgánica, y en los estudios de laboratorio en los que el basalto triturado del río Columbia se mezcló con agua estéril en condiciones anóxicas, el H_2 se produjo con rapidez[2]. También se detectó el H_2 directamente en el agua subterránea que se percolaba por los basaltos. Por lo tanto, parece que el H_2 formado en los basaltos es el donador de electrones para los procariotas anaerobios que se encuentran en ellos. Si es verdad, estos organismos sobrevivirían estrictamente de un modo geoquímico y no dependerían de los materiales orgánicos generados fototróficamente

[1] Stevens, T. O. y J. P. McKinley. 1995. Lithoautotrophic microbial ecosystems in deep basalt aquifers. *Science* 270: 450-454.
[2] Anderson, R. T., F. H. Chapelle y D. R. Lovely. 1998. Evidence against hydrogen-based microbial ecosystems in basalt aquifers. *Science* 281: 976-977.

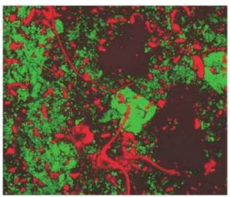
terias de la filosfera sobre las hojas o los tallos de las plantas fijan el nitrógeno (Secciones 20.14 y 24.15) y comparten el nitrógeno fijado con la planta, quien, a su vez, proporciona glúcidos y otros nutrientes a las bacterias.

Fitopatógenos

Una serie de microorganismos, que incluyen bacterias, hongos y virus, así como algunos gusanos microscópicos (nemátodos), causan enfermedades en las plantas. Los patógenos de las plantas se llaman **fitopatógenos**. Algunas bacterias fitopatógenas clave incluyen algunas especies de *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Xylella* y *Erwinia*. Los patógenos fúngicos principales incluyen *Phytophora* y *Fusarium*, y se sabe que infectan las plantas tanto virus de RNA como de DNA.

Los fitopatógenos pueden causar enfermedades en las plantas de diferentes modos. Algunos causan la degradación de componentes vegetales clave, como los pigmentos fotosintéticos. Otros causan daño físico directo a la planta, lo que abre la posibilidad a infecciones por insectos de plagas vegetales. Otros fitopatógenos causan problemas relacionados con el crecimiento que se manifiestan mediante reducción de la biomasa, de las semillas, de los frutos o de otros compuestos de las plantas. La planta sana y sin estrés constituye una barrera física natural para la infección microbiana. No obstante, el estrés de la planta debido a la sequía, las temperaturas elevadas, la limitación de nutrientes, la alimentación de insectos u otros factores puede aumentar su susceptibilidad a la infección microbiana y las enfermedades.

Vida microbiana en las profundidades de la Tierra *(continuación)*



(a)

Proceso productor de energía	Reacción
Metanogenesis:	$4H_2 + CO_2 \rightarrow CH_4 + 2\,H_2O$
Acetogenesis:	$4H_2 + 2HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_3COO^- + 4H_2O$
Reducción de sulfato:	$4H_2 + SO_4^{2-} + H^+ \rightarrow HS^- + 4H_2O$
Producción inorgánica de H_2:	$FeO + H_2O \rightarrow H_2 + FeO_2$

(b)

Figura 1 **Vida microbiana en la superficie profunda.** *(a)* Fotografía al microscopio láser confocal de una biopelícula microbiana adherida a la superficie de una lasca de basalto a una profundidad de 1.500 m. El verde corresponde a luz reflejada por la superficie del basalto y el rojo a las células bacterianas teñidas de rojo Nilo. Las células de la biopelícula crecieron con el H_2 del basalto tal y como se describe en la reacción de la parte inferior de la Figura 1*b*. *(b)* Reacciones metabólicas clave de los procariotas anaerobios que crecen en los acuíferos profundos anóxicos de basalto.

porque su aceptor de electrones (CO_2 en los metanógenos y los acetógenos, y SO_4^{2-} en las bacterias reductoras de sulfato) y donador de electrones (H_2) proceden de materiales inorgánicos.

Tal y como a veces sucede en la ciencia, otras investigaciones han cuestionado los resultados del basalto del río Columbia. Aunque no hay mucha materia orgánica en estos basaltos, algo hay y, por lo tanto, la fermentación podría ser la fuente de parte del H_2 utilizado por los quimiolitótrofos de la subsuperficie[2], como ocurre en las comunidades de la superficie anóxica.

¿Cuál es la importancia ecológica de los ecosistemas microbianos basados en el H_2 en la subsuperficie profunda? Se trata de una pregunta sin respuesta. Sin embargo, el hecho de que actualmente sospechemos que la cantidad total de procariotas en la subsuperficie profunda de la Tierra es muy grande (Sección 1.3), de hecho mayor que el número total de procariotas presentes en todos los demás ambientes, sugiere que estos microorganismos soterrados pueden ser los principales catalizadores del ciclo del carbono en la Tierra.

www.libros-universitarios.com

23.8 Minirrevisión

Los hábitats microbianos clave incluyen el rizoplano, la rizosfera y la filosfera.

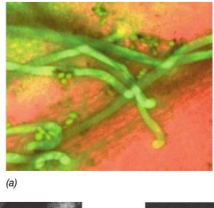
- ¿Por qué podría ser un ambiente más atractivo para las bacterias el suelo cerca de las raíces de las plantas que el suelo más alejado de ellas?
- ¿Qué es un fitopatógeno?

IV ECOSISTEMAS MICROBIANOS MARINOS

Los océanos difieren en muchos aspectos de los ambientes de agua dulce, en particular, en la salinidad, la temperatura media, la profundidad y el estado nutricional. Con las herramientas moleculares de la ecología microbiana, especialmente las tinciones genéticas y la secuenciación génica (Secciones 22.4 a 22.6), está emergiendo nueva información sobre los microorganismos marinos. Aquí nos centramos en los microorganismos en dos hábitats: 1) el mar abierto y 2) las profundidades marinas.

23.9 Mar abierto

En comparación con muchos ambientes de agua dulce, suele haber poca cantidad de nutrientes en el mar abierto (llamada la *zona pelágica*), especialmente en el caso de los nutrientes inorgánicos clave de los organismos fotótrofos: el nitrógeno, el fósforo y el hierro. Además, la



(a)

(b) (c)

Figura 23.13 Ejemplos de la vida microbiana de la filosfera y la rizosfera. *(a)* Fotografía al microscopio de fluorescencia del hongo *Aureobasidium pullulans* sobre la superficie de una hoja de un manzano. Las células se tiñeron mediante FISH, y tanto los filamentos fúngicos como las esporas se tiñen de verde. Un filamento fúngico mide unos 7 μm de diámetro. *(b)* Fotografía al microscopio confocal láser de barrido de las células bacterianas en la rizosfera/rizoplano de un trébol. *(c)* Fotografía al microscopio electrónico de barrido de las células de *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* adheridas a un pelo radical del trébol. Las células bacterianas en *(b)* y *(c)* miden aproximadamente 1 μm de diámetro.

temperatura del agua del mar es más fría y estacionalmente más constante que las de la mayor parte de los lagos de agua dulce. La actividad de los fotótrofos marinos está limitada por estos factores y, por lo tanto, la cantidad de células microbianas global es normalmente inferior en los mares que en las aguas dulces. Sin embargo, como los mares son tan grandes, el secuestro de dióxido de carbono y la producción de oxígeno conjunta de la fotosíntesis oxigénica que se lleva a cabo en el mar son factores importantes en el equilibrio del carbono de la Tierra. De hecho, actualmente se piensa que las comunidades microbianas marinas son decisivas desde las cadenas alimentarias hasta el clima del planeta.

La salinidad es más o menos constante en la zona pelágica, pero es más variable en las zonas costeras. Las aguas costeras normalmente contienen mayores cantidades de microorganismos que las aguas pelágicas debido a la afluencia de nutrientes u otros contaminantes del drenaje de tierra cercana y de actividades de los humanos. Estas entradas, junto con la ascensión de las aguas costeras profundas ricas en nutrientes, mantienen poblaciones más elevadas de microorganismos fotótrofos (**Figura 23.14**) y, a su vez, mantienen densidades mayores de bacterias heterótrofas y animales acuáticos, como peces y crustáceos. Las bahías y ensenadas marinas que reciben aguas residuales o drenajes industriales tienen poblaciones de fitoplancton y de bacterias muy elevadas. Si la contaminación es suficientemente intensa, las aguas marinas poco profundas se vuelven anóxicas intermitentemente al eliminarse el O_2 por la respiración y al producirse H_2S por las bacterias reductoras de sulfato.

Productividad primaria: *Prochlorococcus*

La mayor parte de la productividad primaria en el mar abierto, incluso a profundidades significativas, se debe a la fotosíntesis de los **procloróbitos**, fotótrofos procarióticos minúsculos que contienen clorofilas *a* y *b*, o *a* y *d*, que están relacionados filogenéticamente con las cianobacterias (Sección 16.8). El organismo *Prochlorococcus* contiene clorofilas *a* y *b* y es un productor primario particularmente importante (**Figura 23.15**). Debido a que *Prochlorococcus* carece de las ficobilinas, los pigmentos

www.medilibros.com

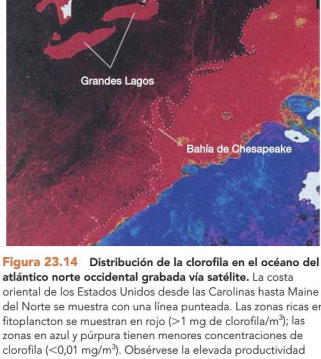
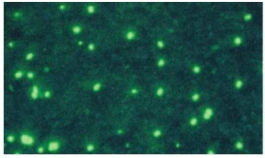


Figura 23.14 Distribución de la clorofila en el océano del atlántico norte occidental grabada vía satélite. La costa oriental de los Estados Unidos desde las Carolinas hasta Maine del Norte se muestra con una línea punteada. Las zonas ricas en fitoplancton se muestran en rojo (>1 mg de clorofila/m^3); las zonas en azul y púrpura tienen menores concentraciones de clorofila (<0,01 mg/m^3). Obsérvese la elevada productividad primaria de las zonas costeras y los Grandes Lagos.


Alexandra Z. Worden y Myra E. Breitbart

(a)

Penny Chisholm

(b)

Figura 23.15 ***Prochlorococcus*, el fotótrofo oxigénico más abundante en los océanos.** *a*) Células de *Prochlorococcus* teñidas con FISH en una muestra de agua marina. *b*) Una suspensión celular de *Prochlorococcus* que muestra el color verde oliva de las células que contienen clorofila *a* y *b*.

accesorios de las cianobacterias (Sección 20.3), las suspensiones de células de *Prochlorococcus* son verde oliva (como las algas verdes) en vez del color más verde azulado de las cianobacterias (Figura 23.15*b*). *Prochlorococcus* es el fotótrofo oxigénico dominante en los mares tropicales y subtropicales por todo el mundo. Las células de *Prochlorococcus* alcanzan una densidad de 10^5 células/ml, lo que da cuenta de casi el 40% de la biomasa de los fotótrofos marinos y hasta el 50% de la producción primaria neta. El proclorófito *Acaryochloris* contiene clorofilas *a* y *d*, y está presente tanto en aguas marinas como en lagos hipersalinos interiores (Figura 16.29*c*).

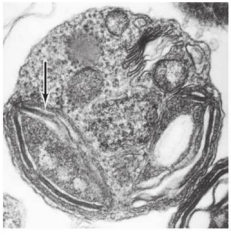
Resulta interesante que se conozcan al menos cuatro cepas (*ecotipos*, Sección 14.13) de *Prochlorococcus* y que cada uno habite su propio intervalo de profundidades en las aguas marinas pelágicas. Los diferentes ecotipos de *Prochlorococcus* son fisiológica y genéticamente distintos y están adaptados para realizar la fotosíntesis a diferentes intensidades de luz. Por lo tanto, *Prochlorococcus* se distribuye tanto por aguas superficiales como en aguas más profundas, hasta una profundidad de 200 m, cerca del final de la zona fótica donde la intensidad lumínica es muy baja (Figura 23.19). Se conoce la secuencia del genoma de *Prochlorococcus* y, sorprendentemente, el organismo contiene un genoma más bien pequeño (unas 1,7 Mpb), el genoma más pequeño conocido de un organismo fotótrofo oxigénico.

Otros fotótrofos pelágicos

En los océanos tropicales y subtropicales, la cianobacteria marina filamentosa planctónica *Trichodesmium* (**Figura 23.16*a***) es un fotótrofo común y abundante. Las células de *Trichodesmium* forman penachos de filamentos que constituyen una fracción significativa de la biomasa suspendida en estas aguas. *Trichodesmium* es una cianobacteria fijadora de nitrógeno. Las células forman penachos de filamentos que fijan el nitrógeno en aguas marinas tropicales de todo el mundo. Una célula mide unos 6 μm de diámetro. *b*) Fotografía al microscopio electrónico de transmisión de una célula de *Ostreococcus*, un alga diminuta (eucariota) que es muy numerosa en las aguas marinas costeras. La flecha señala el cloroplasto. Una célula de *Ostreococcus* mide unos 0,7 μm de diámetro.

Hans W. Paerl, University of North Carolina at Chapel Hill

(a)


Alexandra Z. Worden y Brian P. Palenik

(b)

Figura 23.16 ***Trichodesmium* y *Ostreococcus*.** *a*) La

www.medilibros.com

bacteria fijadora de nitrógeno, y se piensa que su producción de nitrógeno fijado es un eslabón importante en el ciclo del nitrógeno marino (Sección 24.3). *Trichodesmium* contiene ficobilinas, ausentes en los proclorófitos, por lo que difiere de ellos en sus propiedades de absorción (Sección 20.3).

En las aguas marinas costeras y pelágicas también habitan eucariotas fotótrofos muy pequeños, y algunos de ellos se encuentran entre las células eucariotas más pequeñas que se conocen. *Ostreococcus*, por ejemplo, es un miembro diminuto de las de las prasinofíceas, una familia de algas verdes muy antiguas (Sección 18.21). Las células de *Ostreococcus* son cocos que miden sólo unos 0,7 μm de diámetro (Figura 23.16*b*); es incluso más pequeño que una célula de *Escherichia coli*. Aunque las células de *Ostreococcus* y *Prochlorococcus* tienen aproximadamente el mismo tamaño y son fotótrofos oxigénicos, resulta interesante que el genoma de *Ostreococcus* tenga 12,6 Mpb (distribuido en 20 cromosomas) que es más de siete veces el tamaño del genoma de *Prochlorococcus*. En muchas aguas marinas hay unas 10^4 células eucariotas pequeñas por mililitro y es probable que todas sean especies fotótrofas, tanto de *Ostreococcus* como de otras muy relacionadas.

Microorganismos no fotótrofos en la zona pelágica: *Pelagibacter*

A pesar de los niveles increíblemente bajos de carbono orgánico, en aguas marinas pelágicas se encuentran poblaciones significativas (de 10^5-10^6 células/ml) de procariotas heterótrofos planctónicos muy pequeños. La más abundante de todas estas es *Pelagibacter*, una especie de alfaproteobacterias (Capítulo 15). Las células de *Pelagibacter* son bacilos que miden sólo de 0,2 a 0,5 μm, cerca de los límites de resolución del microscopio óptico (**Figura 23.17**). ¿Cómo viven estos minúsculos organismos?

Daniela Nicastro

Figura 23.17 ***Pelagibacter ubique*, el procariota más abundante en el mar**. Fotografía al microscopio electrónico tomada mediante tomografía de electrones, una técnica para introducir un efecto tridimensional en la imagen. Una sola célula de *P. ubique* mide unos 0,2 μm de diámetro.

Pelagibacter es un oligótrofo, al igual que la mayor parte de los procariotas del mar abierto. Un **oligótrofo** es un organismo que crece mejor a concentraciones muy bajas de nutrientes. *Pelagibacter* es un quimioorganótrofo y crece en un cultivo de laboratorio sólo hasta la densidad que se encuentra en la naturaleza. Sin embargo, además de respirar utilizando como sustrato materiales orgánicos, *Pelagibacter* tiene genes que codifican una forma del pigmento visual rodopsina. Las células utilizan este pigmento para convertir la energía luminosa en ATP. En la Sección 17.3 tratamos el caso bien estudiado de la *bacteriorrodopsina*, presente en el halófilo extremo *Halobacterium* (*arquea*) y cómo esta molécula interviene en la síntesis de ATP como una simple bomba de protones impulsada por la luz. La forma de la rodopsina en *Pelagibacter* y probablemente muchos otros procariotas pelágicos es muy similar a la bacteriorrodopsina y se ha denominado **proteorrodopsina** («proteo» se refiere a proteobacterias). Se cree que la proteorrodopsina complementa el metabolismo energético de *Pelagibacter*, de forma que no tiene que depender del escaso carbono orgánico como fuente de carbono y fuente de energía. Sin embargo, a pesar del hecho de que *Pelagibacter* y otros procariotas que contienen proteorrodopsina utilizan la energía luminosa para impulsar la síntesis de ATP, no se consideran «fotótrofos» en el sentido clásico porque carecen de los pigmentos de clorofila y los fotocomplejos que son la base de la fotosíntesis (Secciones 20.1 a 20.4) y, por lo tanto, se consideran bacterias quimiótrofas.

El genoma de *Pelagibacter* es muy pequeño: sólo de 1,3 Mpb. Es el genoma más pequeño conocido de una bacteria de vida libre (Capítulo 13). El genoma codifica un número inusualmente elevado de sistemas de transporte de tipo ABC, unos transportadores que tienen una afinidad extremadamente elevada por sus sustratos (Sección 4.5) y otras enzimas útiles para un organismo que vive en un ambiente muy diluido. Los estudios genómicos medioambientales de las aguas pelágicas (estudio del Mar de los Sargazos, Sección 22.6) han revelado una gran abundancia de genes de *Pelagibacter*, lo que confirma las mediciones directas que utilizan la FISH que indican que este organismo es el procariota dominante en las aguas del mar abierto por todo el mundo.

Fotótrofos anoxigénicos aerobios

Además de los fotótrofos oxigénicos y de los organismos que contienen proteorrodopsina, en las aguas marinas se encuentran otros procariotas que utilizan la energía lumínica: los fotótrofos anoxigénicos aerobios. Al igual que los fotótrofos anoxigénicos púrpuras (Sección 15.2), estos organismos contienen bacterioclorofila *a*. Sin embargo, a diferencia de los fotótrofos anoxigénicos púrpuras que hacen la fotosíntesis sólo en condiciones *anóxicas*, los fotótrofos anoxigénicos aerobios catalizan reacciones lumínicas de la fotosíntesis sólo en condiciones *aerobias*.

Los fotótrofos anoxigénicos aerobios incluyen organismos como *Erythrobacter, Roseobacter* y *Citromicrobium* (**Figura 23.18**), todos géneros de alfaproteobacte-

Figura 23.18 **Bacterias fotótrofas anoxigénicas aerobias.** Fotografía al microscopio electrónico de transmisión de células teñidas negativamente de *Citromicrobium*. Las células de este fotótrofo anoxigénico aerobio marino producen fotopigmentos sólo en condiciones óxicas y se dividen tanto por gemación como por fisión binaria, lo que produce células con formas inusuales e irregulares.

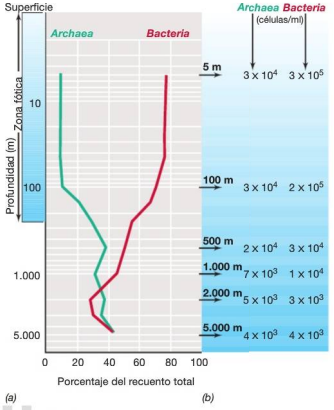


Figura 23.19 **Porcentaje de procariotas totales que pertenecen a los dominios *Archaea* y *Bacteria* en las aguas del Pacífico Norte.** *(a)* Distribución de arqueas y bacterias según la profundidad. *(b)* Números absolutos de arqueas y bacterias según la profundidad (por mililitro). Adaptado de los datos publicados en *Nature* 409:507-510 (2000).

rias. Los fotótrofos anoxigénicos aerobios sintetizan ATP mediante fotofosforilación cuando hay oxígeno, pero son incapaces de crecer de forma autótrofa y, por lo tanto, dependen del carbono orgánico para su fuente de carbono. Por lo tanto, al igual que con *Pelagibacter* y su proteorrodopsina, los fotótrofos anoxigénicos aerobios probablemente utilizan el ATP producido en sus fotocomplejos para complementar su metabolismo quimiótrofo.

Los registros han demostrado que existe una gran diversidad de fotótrofos anoxigénicos aerobios en las aguas marinas, especialmente en aguas costeras. Los lagos de agua dulce oligótrofos y muy óxicos también son hábitats para estas interesantes bacterias fotótrofas.

Distribución de arqueas y bacterias en las aguas pelágicas

El número de procariotas en mar abierto disminuye con la profundidad. En las aguas de la superficie, el promedio es de unas 10^6 células/ml. Sin embargo, por debajo de los 1000 m, el número total disminuye a entre 10^3 y 10^5 células/ml. Se ha rastreado la distribución de bacterias y arqueas con la profundidad en las aguas pelágicas mediante FISH (Sección 22.4). En general, las especies de bacterias predominan en las aguas más superiores (<1.000 m) y las cifras son casi iguales o muestran un ligero predominio de arqueas en aguas profundas (**Figura 23.19**). Las *Archaea* presentes en aguas más profundas son casi exclusivamente especies de crenarqueotas, un filum de arqueas que incluye los hipertermófilos (Secciones 17.9 a 17.12). De la extrapolación de los datos de la Figura 23.19 se ha estimado que en el conjunto de aguas marinas del mundo existen $1{,}3 \times 10^{28}$ y $3{,}1 \times 10^{28}$ células de arqueas y bacterias, respectivamente. Esto indica que los mares contienen la mayor cantidad de biomasa microbiana de toda la superficie de la Tierra (Sección 1.3).

Virus marinos

Los virus son los microorganismos más abundantes en el mar. En el agua marina típica, pueden llegar a unas 10^7 partículas de viriones por mililitro (Sección 13.14 y Figura 13.15). La mayor parte de estos son bacteriófagos, que infectan especies de bacterias, y virus de arqueas, que infectan especies de arqueas. El número de partículas víricas en el agua marina es aproximadamente diez veces mayor que el número medio de células procariotas en ella, lo que apunta a que infectan activamente sus hospedadores, se replican y se liberan al agua marina. En las aguas costeras en las que el número de células bacterianas es mayor, el número de virus también es mayor, hasta 10^8 por mililitro.

Supuestamente, los virus marinos ayudan a mantener las poblaciones de células hospedadoras a los niveles que se observan, pero también podrían tener otras funciones importantes, como serían el intercambio genético entre las células procariotas (Secciones 11.9 a 11.15) y la lisogenia, el estado en el que un genoma de virus se integra en el ge-

noma celular. A menudo, la lisogenia le confiere nuevas propiedades genéticas a la célula (Sección 10.10). El descubrimiento de que parte de los virus que infectan *Prochlorococcus* (Figura 23.15), el fotótrofo oxigénico más abundante en el mar (*véase* la explicación anterior), llevan genes de la fotosíntesis en sus genomas es un ejemplo de cómo se podría transferir una propiedad metabólica importante entre los ecotipos mediante lanzaderas víricas. Aunque la diversidad genética de los virus marinos se acaba de reconocer ahora, se ha estimado que la diversidad genética de los genomas víricos marinos podría sobrepasar incluso la de las células procariotas. Por lo tanto, las aguas marinas son claramente una reserva de la diversidad genética.

23.9 Minirrevisión

Aunque el agua marina es más deficiente en nutrientes que muchas aguas dulces, en los mares habitan cantidades considerables de procariotas. Muchos de ellos utilizan la luz para impulsar la síntesis de la ATP, bien mediante la fotosíntesis o por bombas de protones impulsadas por las rodopsinas. Las especies de bacterias tienden a predominar en las aguas de la superficie marina, mientras que las arqueas prevalecen más en las aguas más profundas. Los virus son los microorganismos más abundantes de todos en los mares.

- ¿Cómo contribuye el organismo *Prochlorococcus* a los ciclos del carbono y del oxígeno en los mares?
- ¿Qué es la proteorrodopsina y por qué se llama así?
- En comparación con *Escherichia coli*, enumere algunas de las propiedades inusuales de la bacteria *Pelagibacter*.

23.10 Profundidades marinas y barofilia

La luz visible penetra como máximo 300 m en las aguas pelágicas; esta región iluminada se llama la *zona fótica* (Figura 23.19). Por debajo de la zona fótica, hasta una profundidad de unos 1000 m, todavía existe una considerable actividad biológica. Sin embargo, el agua a una profundidad de más de 1.000 m es, por comparación, mucho menos activa desde el punto de vista biológico y se conoce como **profundidades marinas**. Más del 75% del agua del mar corresponde a las grandes profundidades marinas, principalmente a una profundidad entre los 1.000 y 6.000 m. Las aguas más profundas en los océanos se encuentran por debajo de los 10.000 m. Sin embargo, como las fosas a esta profundidad son muy raras, sólo suponen una proporción muy pequeña de las aguas pelágicas.

Condiciones en las profundidades marinas

Los organismos que habitan en las profundidades marinas se enfrentan a tres extremos medioambientales principales: 1) baja temperatura, 2) presión elevada y 3) bajos niveles de nutrientes. Además, las aguas de las profundidades marinas son completamente oscuras, de tal forma que resulta imposible realizar la fotosíntesis. Por lo tanto, los microorganismos que habitan en las profundidades marinas son quimiótrofos y son capaces de crecer en altas presiones y condiciones oligótrofas en el frío.

Por debajo de unos 100 m, la temperatura del agua marina permanece constante entre 2 y 3 °C. En las Secciones 6.12 a 6.14 ya se trataron las respuestas de los microorganismos a cambios en la temperatura. Como cabría esperar, las bacterias aisladas de las aguas marinas por debajo de 100 m son *psicrófilas* (amantes del frío) o *psicrotolerantes*. Los microorganismos de las profundidades marinas también deben ser capaces de resistir la enorme presión hidrostática de las grandes profundidades. La presión aumenta en torno a 1 atm cada 10 m de profundidad en una columna de agua. Así pues, un organismo que viva a una profundidad de 5.000 m deben ser capaz de resistir presiones de 500 atm. Veremos que los microorganismos son extraordinariamente tolerantes a las presiones hidrostáticas elevadas, pues muchas especies pueden resistir presiones de 500 atm y en algunos casos mucho más.

Bacterias barotolerantes y baróﬁlas

En los diferentes procariotas de las profundidades marinas se observan diferentes respuestas fisiológicas a la presión. Algunos organismos simplemente toleran la presión elevada, pero no crecen mejor bajo la presión y se denominan **barotolerantes**. En cambio, otros crecen realmente mejor bajo presión y se denominan **barófilos**. Los organismos aislados de las aguas entre la superficie y unos 3.000 m de profundidad son normalmente barotolerantes y tienen mayores tasas metabólicas a 1 atm que a 300 atm, aunque la velocidad de crecimiento a ambas presiones puede ser similar (**Figura 23.20**). Sin embargo, los aislados barotolerantes normalmente no crecen a presiones por encima de 500 atm.

En cambio, los cultivos obtenidos de muestras tomadas a unas profundidades mayores, de 4.000 a 6.000 m, son normalmente barófilos y crecen óptimamente a presiones en torno a 300 a 400 atm. No obstante, aunque los barófilos crecen mejor a presión, consiguen crecer a 1 atm (Figura 23.20). En aguas incluso más profundas (10.000 m) se han hallado los **barófilos extremos**. Estos organismos tienen unos requisitos de presión absolutos y mayores para el crecimiento. Por ejemplo, la bacteria *Moritella*, aislada de la Fosa de las Marianas (Océano Pacífico, >10.000 m de profundidad), crece óptimamente a una presión de 700 a 800 atm y podría crecer incluso a 1035 atm, que es la presión que experimenta en su hábitat natural (**Figuras** 23.20 y **23.21**).

A diferencia de los procariotas barotolerantes o barófilos, *Moritella* no crece a una presión de menos de 400 atm: tiene un requisito de presión *obligado* (Figura 23.20). Sin embargo, resulta interesante que *Moritella* pueda tolerar períodos moderados de descompresión. Sin

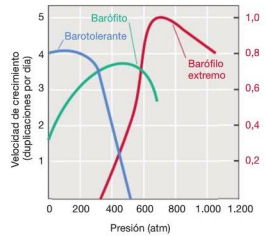


Figura 23.20 Crecimiento de bacterias barotolerantes, barófilas y barófilas extremas. El barófilo extremo (*Moritella*) se aisló de la Fosa de las Marianas (Figura 23.21). Obsérvese la menor velocidad de crecimiento del barófilo extremo (ordenada derecha) cuando se compara con las bacterias barotolerantes y barófilas (ordenada izquierda) y su incapacidad para crecer a bajas presiones.

embargo, se pierde la viabilidad cuando un cultivo del organismo se deja durante varias horas en un estado de descompresión. *Moritella* también es sensible a la temperatura. Su temperatura óptima de crecimiento es su temperatura ambiental (2 °C) y las temperaturas por encima de 10 °C alteran la viabilidad de manera significativa.

Efectos moleculares de las altas presiones

La presión afecta de muchos modos a la fisiología y la bioquímica de la célula. La presión disminuye la afinidad de las enzimas por sus sustratos. Así, las enzimas de los barófilos extremos deben plegarse de tal modo que minimicen los efectos de la presión. Otras dianas sensibles a la presión incluyen la síntesis de proteínas y el transporte. Un organismo que crece a altas presiones tiene una mayor proporción de ácidos grasos insaturados en la membrana citoplasmática que uno que crece a 1 atm. Los ácidos grasos insaturados permiten que las membranas permanezcan funcionales y no se gelifiquen a presiones elevadas o a temperaturas bajas (Sección 6.13). La velocidad de crecimiento más bien lenta de los barófilos extremos como *Moritella* en comparación con otras bacterias marinas (Figura 23.20) se deben probablemente a la combinación de los efectos de la alta presión y la temperatura baja, pues ésta última reduce la velocidad de reacción de las enzimas y esto tiene un efecto directo sobre el crecimiento celular (Secciones 6.12 y 6.13).

¿Cuáles son los secretos del modo de vida barófilo? En los barófilos gramnegativos capaces de crecer tanto a 1 atm como a 500-600 atm (Figura 23.21) se ha demostrado que el crecimiento a una presión elevada está acompañado principalmente de cambios en la composición de las proteínas de la membrana externa (Sección 4.7). En particular, una proteína de la membrana exterior específica llamada *OmpH* (por su nombre en inglés «*o*uter *m*embrane *p*rotein *H*», proteína H de la membrana externa) se sintetiza en células que crecen a una presión elevada, pero no a 1 atm. La OmpH es un tipo de *porina*, que son proteínas que forman canales para la difusión de moléculas orgánicas a través de la membrana externa y hacia el periplasma (Sección 4.7 y Figura 4.23). Según parece, la porina presente en la membrana externa de las células cultivadas a 1 atm no puede funcionar adecuadamente a una presión elevada y, por lo tanto, se debe sintetizar un nuevo tipo de porina. De forma sorprendente, parecen ser relativamente pocas las proteínas controladas por la presión, puesto que la mayor parte de las proteínas presentes en células cultivadas a 1 atm también aparecen en las células que crecen a una presión elevada. Esto indica que las alteraciones en sólo unas pocas proteínas clave pueden ser suficientes para permitir crecer a una presión hidrostática significativa, lo que sugiere que se necesita un número relativamente pequeño de cambios evolutivos para convertir las bacterias marinas de la superficie en organismos que habitan en las profundidades marinas.

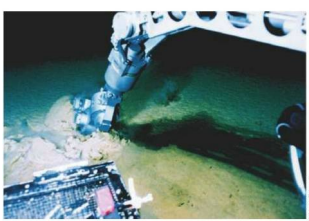


Figura 23.21 Muestreo de las profundidades marinas. Se muestra el sumergible teledirigido *Kaiko* recogiendo una muestra de sedimento del fondo marino de la Fosa de las Marianas (frente a las Filipinas, Océano Pacífico) a una profundidad de 10.897 m. Los tubos de sedimento se utilizan para el enriquecimiento y el aislamiento de bacterias barófilas.

23.10 Minirrevisión

Las profundidades marinas son un hábitat oscuro frío donde la presión hidrostática es elevada y los nutrientes escasean. Los barófilos crecen mejor a presión, pero no la requieren mientras que los barófilos extremos, obtenidos de las profundidades mayores, requieren que la presión sea alta para crecer.

- ¿Cómo cambia la presión con la profundidad en una columna de agua?
- ¿Qué adaptaciones moleculares tienen los barófilos que les permiten crecer óptimamente a presión?

UNIDAD 4

Glosario de términos

Anóxico: ambiente sin oxígeno.

Barófilo: que crece mejor a una presión de más de 1 atm.

Barófilo extremo: organismo barófilo incapaz de crecer a una presión de 1 atm y que normalmente requiere varios cientos de atmósferas de presión para crecer.

Barotolerante: que es capaz de crecer en altas presiones, pero que crece mejor a 1 atm.

Biogeoquímica: estudio de las transformaciones químicas de origen biológico.

Biopelícula: colonias de células microbianas encastradas en una matriz porosa y adheridas a una superficie.

Comensalismo: tipo de simbiosis en el que sólo se beneficia uno de los dos organismos que intervienen en la relación.

Demanda bioquímica de oxígeno (DBO): las propiedades de consumo microbiano de oxígeno en una muestra de agua.

Ecosistema: una comunidad de organismos y su ambiente natural.

Epilimnion: las aguas de superficie, más calientes y menos densas, de un lago estratificado.

Fitopatógeno: microorganismo que causa una enfermedad vegetal.

Gremio: población de microorganismos relacionados metabólicamente.

Hábitat: porción de un ecosistema en el que podría residir una comunidad microbiana.

Hipolimnion: las aguas del fondo más frías, más densas y a menudo óxicas de un lago estratificado.

Microambiente: el entorno ambiental inmediato de una célula, o grupo de células, microbiana.

Mutualismo: tipo de simbiosis en la que se benefician los dos organismos que establecen la relación.

Nicho: en la teoría ecológica, la residencia de un organismo en una comunidad, que incluye tanto los factores bióticos como los abióticos.

Oligótrofo: organismo que crece sólo, o mejor, con pocos nutrientes.

Óxico: ambiente que contiene oxígeno, por lo general con un E_0' elevado.

Parasitismo: relación simbiótica entre dos organismos en la que el organismo hospedador resulta dañado en el proceso.

Proclorófito: procariota fotótrofo que contiene clorofilas *a* y o bien *b* o bien *d*, y que carece de ficobilinas.

Productor primario: organismo que utiliza la luz para sintetizar nuevo material orgánico a partir del CO_2.

Profundidad marina: aguas marinas por debajo de una profundidad de 1.000 m.

Proteorrodopsina: proteína sensible a la luz presente en algunos miembros del dominio *Bacteria* del mar abierto que cataliza la formación de ATP.

Rizosfera: región inmediatamente adyacente a las raíces de las plantas.

Simbiosis: relación entre dos o más organismos.

www.mibrofem.com

Preguntas de repaso

1. Diferencie entre parásito, mutualista y comensal (Sección 23.1).
2. Enumere algunos de los recursos y condiciones clave que necesitan los microorganismos para prosperar en sus hábitats (Sección 23.2).
3. Explique por qué se pueden aislar bacterias anaerobias estrictas y aerobias estrictas a partir de la misma muestra del suelo (Sección 23.3).
4. La superficie de una roca en una corriente de agua suele contener una biopelícula. ¿Qué ventajas tiene para las bacterias el crecer en una biopelícula en comparación con el crecimiento dentro de la corriente? (Sección 23.4).
5. ¿Cómo pueden las biopelículas complicar el tratamiento de las enfermedades infecciosas (Sección 23.5)?
6. ¿Cómo y de qué manera afecta el aporte de materia orgánica, como aguas residuales, al contenido de oxígeno de un río o corriente de agua (Sección 23.6)?
7. ¿En qué horizonte del suelo son mayores la cantidad y la actividad microbiana? ¿Por qué (Sección 23.7)?
8. ¿Qué parte de una planta es la que los microorganismos suelen colonizar más (Sección 23.8)?
9. Enumere algunos procariotas importantes que se encuentran en el mar abierto y describa cómo fabrican el ATP (Sección 23.9).
10. Suponiendo que la proteorrodopsina sea un análogo funcional de la bacteriorrodopsina, describa cómo esta molécula podría beneficiar a una célula que vive en un ambiente muy pobre en materia orgánica como el del mar abierto (Sección 23.9).
11. ¿Cuál es la diferencia entre las bacterias barotolerantes y las barófilas? ¿Y entre estos dos grupos y los barófilos extremos? ¿Qué propiedades tienen en común las bacterias barotolerantes, barófilas y barófilas extremas (Sección 23.10)?

Ejercicios prácticos

1. Supongamos una planta depuradora que libera aguas residuales que contienen una concentración elevada de amonfaco y fosfato, pero muy poco carbono orgánico. ¿Qué tipos de organismos proliferarían en estas aguas residuales? ¿En qué variaría el perfil del oxígeno cerca y lejos del punto de vertido respecto a lo mostrado en la Figura 23.9a?

2. Observe los datos de la Figura 23.19. Teniendo presente que las aguas del mar abierto son muy óxicas, prediga los posibles estilos de vida metabólicos de las arqueas y bacterias de mar abierto. ¿Por qué la proteorrodopsina podría estar sólo presente en un grupo de organismos pero no en el otro?

www.medilibros.com

24

Ciclos de los nutrientes, biorremediación y simbiosis

I CICLOS DEL CARBONO Y DEL OXÍGENO 769

24.1 El ciclo del carbono **769**

24.2 Sintrofismo y metanogenesis **771**

II CICLOS DEL NITRÓGENO, DEL AZUFRE Y DEL HIERRO 774

24.3 El ciclo del nitrógeno **774**

24.4 El ciclo del azufre **775**

24.5 El ciclo del hierro **777**

III BIORREMEDIACIÓN MICROBIANA 780

24.6 Lixiviación microbiana de las menas minerales **781**

24.7 Transformación del mercurio y otros metales pesados **783**

24.8 Biodegradación del petróleo **785**

24.9 Biodegradación de los xenobióticos **786**

IV SIMBIOSIS ENTRE ANIMALES Y MICROORGANISMOS 789

24.10 El rumen y los rumiantes **789**

24.11 Ecosistemas microbianos de las fuentes hidrotermales **793**

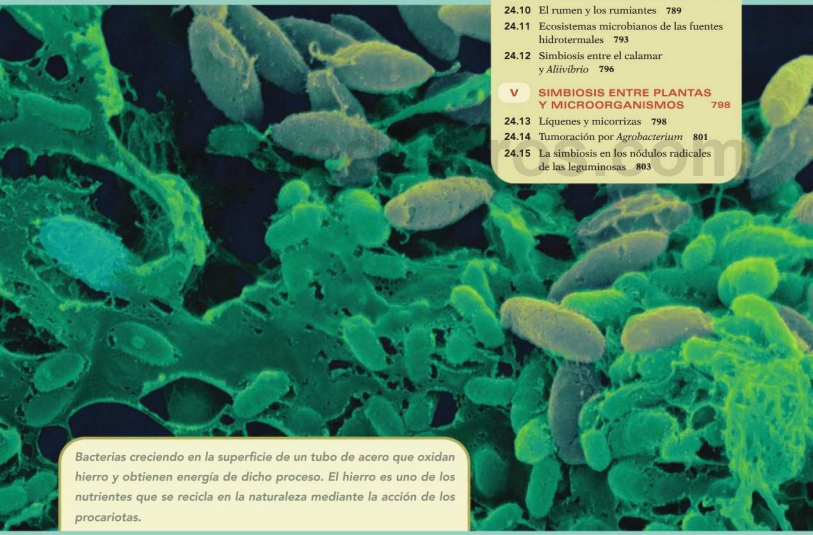
24.12 Simbiosis entre el calamar y *Alivibrio* **796**

V SIMBIOSIS ENTRE PLANTAS Y MICROORGANISMOS 798

24.13 Líquenes y micorrizas **798**

24.14 Tumoración por *Agrobacterium* **801**

24.15 La simbiosis en los nódulos radicales de las leguminosas **803**



Bacterias creciendo en la superficie de un tubo de acero que oxidan hierro y obtienen energía de dicho proceso. El hierro es uno de los nutrientes que se recicla en la naturaleza mediante la acción de los procariotas.

En el capítulo anterior examinamos los hábitats microbianos más frecuentes para preparar el terreno del estudio de algunas actividades microbianas importantes en este capítulo. Este capítulo se divide en tres temas principales: ciclos de nutrientes, biorremediación y simbiosis. Utilizando las herramientas descritas en el Capítulo 22 y teniendo presentes los tipos y dinámicas de los hábitats microbianos, aquí estamos ya preparados para abordar la biogeoquímica microbiana.

I CICLOS DEL CARBONO Y DEL OXÍGENO

El ciclo global del carbono requiere la actividad tanto de los microorganismos como de los macroorganismos. Las principales áreas de interés del ciclo del carbono están en la magnitud de los depósitos de carbono, las principales fuentes y sumideros de CO_2 y CH_4 y el ritmo del reciclaje dentro y entre compartimentos.

24.1 El ciclo del carbono

Considerado de forma global, el carbono recircula por todos los depósitos principales de la Tierra: la atmósfera, el medio terrestre, los océanos y otros ambientes acuáticos, sedimentos y rocas, y la biomasa (**Figura 24.1**). Tal y como ya hemos visto para los ambientes de agua dulce, los ciclos del carbono y del oxígeno están estrechamente relacionados (Sección 23.6) tanto en el suelo como en los demás ambientes de la Tierra.

Depósitos de carbono

El mayor depósito (o reservorio) de carbono lo constituyen las rocas de la corteza terrestre (**Tabla 24.1**), pero tarda tanto en reciclarse que las salidas de dicho compartimento son insignificantes en la escala de tiempo humana. Desde el punto de vista de los organismos vivos, en las plantas terrestres se encuentra una gran cantidad de carbono orgánico, que corresponde al carbono de los bosques, praderas y cultivos, y constituye el principal lugar de fijación fotosintética de CO_2. Sin embargo, la materia orgánica muerta, denominada **humus** o **mantillo**, contiene más cantidad de carbono que los seres vivos. El humus consiste en una mezcla compleja de materia orgánica que procede de los microorganismos muertos del suelo que han resistido la descomposición junto con el material orgánico vegetal resistente. Algunas sustancias húmicas son muy estables, con un tiempo global de reciclaje de décadas, pero otros se descomponen mucho más rápidamente.

La manera más rápida de transferencia global del carbono es mediante el CO_2 de la atmósfera: se retira de la atmósfera principalmente por la fotosíntesis de las plantas terrestres y los organismos marinos, y vuelve a la atmósfera por la respiración de los animales y los microorganismos quimioorganótrofos. El aporte de CO_2 más importante a la atmósfera procede de la descomposición microbiana de la materia orgánica muerta, incluido el humus. En épocas más recientes, sin embargo, la actividad humana ha añadido una enorme cantidad de CO_2 nuevo a la atmósfera a partir del carbono encerrado en los depósitos fósiles debido a su combustión. Por ejemplo, sólo en los últimos 40 años, la cantidad de CO_2 en la atmósfera ha aumentado cerca de un 15%, lo que ha contribuido significativamente a que la temperatura global esté aumentando continuamente, lo que se denomina *el calentamiento global*.

Importancia de la fotosíntesis en el ciclo del carbono

La única vía importante de producción de carbono orgánico nuevo sobre la Tierra procede de la fijación fotótrofa y quimiolitótrofa del CO_2 y la mayor parte del carbono orgánico procede de la fotosíntesis. Por lo tanto, los organismos fotótrofos se encuentran en la base del ciclo del carbono (Figura 24.1), aunque abundan en la naturaleza casi exclusivamente en los hábitats donde hay luz dispo-

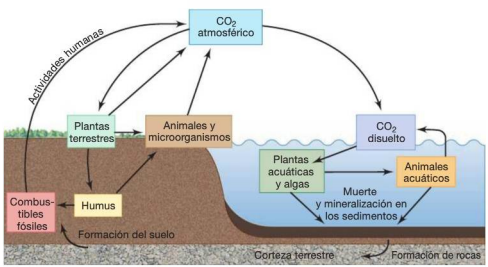


Figura 24.1 El ciclo del carbono. Los ciclos del carbono y del oxígeno están estrechamente relacionados ya que la fotosíntesis oxigénica retira el CO_2 y produce O_2, mientras que los procesos respiratorios producen CO_2 y retiran el O_2. El depósito de carbono más grande con diferencia en la Tierra está en las rocas y sedimentos, y en mayor parte se trata de carbono inorgánico (carbonatos).

UNIDAD 4

Tabla 24.1 Principales depósitos de carbono en la Tierra

Depósito	*Carbono (gigatoneladas)*[a]	*Porcentaje del carbono total en la Tierra*
Océanos	38×10^3 (>95% es C inorgánico)	0,05
Rocas y sedimentos	75×10^6 (>80% es C inorgánico)	>99,5[b]
Biosfera terrestre	2×10^3	0,003
Biosfera acuática	1 a 2	0,000002
Combustibles fósiles	$4{,}2 \times 10^3$	0,006
Hidratos de metano	10^4	0,014

[a] Una gigatonelada son 10^9 toneladas. Datos adaptados de *Science* 290:291-295 (2000).
[b] La mayor parte del carbono orgánico se encuentra en las células procariotas

nible. De ahí que en las profundidades marinas y otros hábitats de oscuridad permanente no haya fotótrofos indígenas.

Los organismos fotótrofos oxigénicos se pueden dividir en dos grandes grupos: las *plantas* y los *microorganismos*. Las plantas son los organismos fotótrofos que predominan en los ambientes terrestres, mientras que los microorganismos fotótrofos predominan en los ambientes acuáticos.

El ciclo redox del carbono (**Figura 24.2**) comienza con la fotosíntesis:

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow[\text{luz}]{} (CH_2O) + O_2$$

en la que el (CH_2O) representa la materia orgánica en el estado de oxidación del material celular, como los polisacáridos (la principal forma en la que se almacena en la célula la materia orgánica fotosintetizada). Los organismos fotótrofos también realizan la respiración, tanto en presencia de luz como en la oscuridad. La ecuación general de la respiración es la inversa de la anterior:

$$(CH_2O) + O_2 \xrightarrow[\text{luz u oscuridad}]{} CO_2 + H_2O$$

en la que (CH_2O) de nuevo representa los polisacáridos de reserva. Para que un organismo fotótrofo aumente su número de células o su masa, la velocidad de la fotosíntesis debe superar a la de la respiración. Si el organismo crece, parte del carbono fijado a partir del CO_2 en polisacáridos se convierte en el material de partida para la biosíntesis. De este modo, los organismos autótrofos construyen la biomasa a partir del CO_2, y esta biomasa finalmente mantiene las necesidades de carbono orgánico de todos los organismos heterótrofos.

Descomposición

El carbono fijado fotosintéticamente lo degradan finalmente los microorganismos, quedando dos formas principales de carbono: *metano* (CH_4) y *dióxido de carbono* (CO_2) (Figura 24.2). Estos dos gases proceden de las actividades metanógenas y quimioorganótrofas, respectivamente. En hábitats anóxicos, el CH_4 se genera de la reducción del CO_2 con el H_2 y de ciertos compuestos orgánicos, como el acetato. Sin embargo, prácticamente cualquier compuesto orgánico se puede convertir en CH_4 a partir de la actividad combinada de las bacterias metanógenas y otras (síntrofas). El H_2 generado por la degradación fermentativa de los compuestos orgánicos llevada a cabo por los síntrofos lo consumen los metanógenos y lo convierten en CH_4, como se explicará en el siguiente apartado. El metano producido en los hábitats anóxicos es insoluble y fluye hacia ambientes óxicos, en los que se oxida a CO_2 por la acción de los metanótrofos (Figura 24.2). En consecuencia, todo el carbono orgánico revierte posteriormente a CO_2, con lo que se completa el ciclo.

El equilibrio entre la parte oxidativa y la reductora del ciclo del carbono es crítico: los productos metabólicos de algunos organismos son sustratos para otros. El ciclo necesita mantenerse en equilibro si es que ha de continuar durante miles de millones de años. Cualquier cambio significativo en las concentraciones de las formas gaseosas del carbono puede tener consecuencias globales, como las que estamos experimentando en forma de calentamiento global debido al aumento de la cantidad de CO_2 en la atmósfera debido a la deforestación y a la quema de

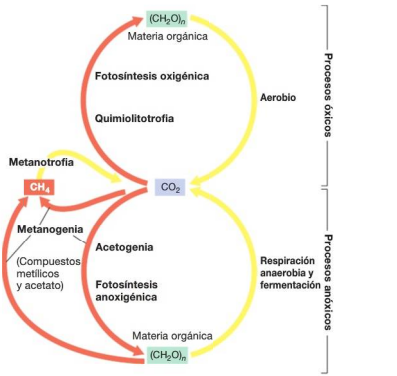


Figura 24.2 Ciclo redox del carbono. La figura compara los procesos autótrofos ($CO_2 \rightarrow$ compuestos orgánicos) y heterótrofos (compuestos orgánicos $\rightarrow CO_2$). Las flechas amarillas indican oxidaciones y las rojas reducciones.

www.medilibros.com

los combustibles fósiles. El CO_2 que libera la actividad microbiana sobrepasa con mucho el producido por los eucariotas superiores, especialmente en los ambientes anóxicos, que se verán a continuación.

24.1 Minirrevisión

Los ciclos del carbono y del oxígeno están interconectados a través de las actividades complementarias de los organismos autótrofos y heterótrofos. La descomposición microbiana es la mayor fuente de emisión de CO_2 a la atmósfera.

- ¿Cómo se genera la materia orgánica nueva en la naturaleza?
- ¿De qué manera están relacionadas la fotosíntesis oxigénica y la respiración?

24.2 Sintrofismo y metanogenesis

La metanogenesis biológica es de capital importancia para el reciclaje del carbono en los hábitats anóxicos. La metanogenesis la realizan un grupo de arqueas, las metanógenas, que son anaerobios estrictos. Ya tratamos la bioquímica de la metanogenesis en la Sección 21.10 y los propios metanógenos en la Sección 17.4. La mayoría de ellos utilizan el CO_2 como aceptor de electrones último en la respiración anaerobia, reduciéndolo a CH_4 con los electrones del H_2. Sólo unas pocas sustancias, principalmente el acetato, se convierten directamente en CH_4 por la acción de los metanógenos. Para convertir la mayoría de los compuestos orgánicos en CH_4, los metanógenos deben colaborar con otros microorganismos para que les aporten los precursores convertibles en metano. Esta es la labor de los sintróficos.

Descomposición anóxica y sintrofismo

En la Sección 21.5 explicamos la energética de la sintrofia, un proceso en el que dos o más organismos cooperan para degradar de forma anaerobia los compuestos orgánicos. Ahora trataremos la interacciones de las bacterias síntrofas con su organismo asociado y su importancia para el ciclo anóxico del carbono. Nos centraremos en los sedimentos anóxicos de las aguas dulces, donde la metanogenesis es típicamente el principal proceso.

Los polisacáridos, las proteínas, los lípidos y los ácidos nucleicos de los organismos muertos van a parar a los hábitats anóxicos. Tras hidrolizarse, los monómeros son unos donadores de electrones excelentes para el metabolismo energético. Para degradar un polisacárido típico como la celulosa (**Figura 24.3** y **Tabla 24.2**), el proceso comienza con la hidrólisis de la celulosa en celobiosa (glucosa-glucosa) y luego en glucosa gracias a las bacterias *celulolíticas*. La glucosa la fermentan los fermentadores *primarios* para formar ácidos grasos de cadena corta (acetato, propionato y butirato) y alcoholes, H_2, y CO_2. El H_2 y el acetato lo retiran rápidamente los metanógenos, pero la mayor parte del carbono orgánico permanece en forma de ácidos grasos y alcoholes que los metanógenos son incapaces de catabolizar directamente. El catabolismo de estos compuestos requiere la **sintrofismo** y las importantes actividades fermentativas de las bacterias sintróficas (Sección 21.5) (Figura 24.3).

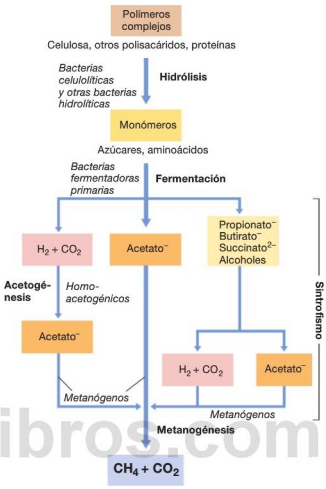


Figura 24.3 Descomposición anóxica. Se muestra el proceso global de la descomposición anóxica, en la que varios grupos de anaerobios fermentativos cooperan en la conversión de materiales orgánicos complejos en metano (CH_4) y CO_2. La figura es válida para los ambientes en los que las bacterias reductoras de sulfato son poco importantes, por ejemplo en los sedimentos lacustres, los biorreactores de aguas residuales o el rumen.

Función de los sintróficos

Las bacterias clave en la conversión de la materia orgánica en metano son los síntrofos, unos organismos *fermentadores secundarios* porque fermentan los productos de la fermentación primaria que son principalmente H_2, CO_2 y acetato. Por ejemplo, *Syntrophomonas wolfei* oxida ácidos grasos C_4 a C_8 y produce acetato, CO_2 (si el ácido graso contiene un número impar de átomos de carbono) y

UNIDAD 4

www.elibros.com

Tabla 24.2 Principales reacciones que tienen lugar en la conversión anóxica de los compuestos orgánicos en metano[a]

		Incremento de energía libre (kJ/reacción)	
Tipo de reacción	***Reacción***	$\Delta\Delta G'^{0}$[b,]Δ	ΔG[c]
Fermentación de glucosa a acetato, H_2 y CO_2	$Glucosa + 4H_2O \rightarrow 2\,Acetato^- + 2HCO_3^- + 4H^+ + 4H_2$	−207	−319
Fermentación de glucosa a butirato, CO_2 y H_2	$Glucosa + 2H_2O \rightarrow Butirato^- + 2HCO_3^- + 2H_2 + 3H^+$	−135	−284
Fermentación de butirato a acetato y H_2	$Butirato^- + 2H_2O \rightarrow 2\,Acetato^- + H^+ + 2H_2$	+48,2	−17,6
Fermentación de propionato a acetato, CO_2 y H_2	$Propionato^- + 3H_2O \rightarrow Acetato^- + HCO_3^- + H^+ + H_2$	+76,2	−5,5
Fermentación de etanol a acetato y H_2	$2\,Etanol + 2H_2O \rightarrow 2\,Acetato^- + 4H_2 + 2H^+$	+19,4	−37
Fermentación de benzoato a acetato, CO_2 y H_2	$Benzoato^- + 7H_2O \rightarrow 3\,Acetato^- + 3H^+ + HCO_3^- + 3H_2$	+70,1	−18
Metanogenia a partir de H_2 y CO_2	$4H_2 + HCO_3^- + H^+ \rightarrow CH_4 + 3H_2O$	−136	−3,2
Metanogenia a partir de acetato	$Acetato^- + H_2O \rightarrow CH_4 + HCO_3^-$	−31	−24,7
Acetogenia a partir de H_2 y CO_2	$4H_2 + 2\,HCO_3^- + H^+ \rightarrow Acetato^- + 4H_2O$	−105	−7,1

[a] Datos adaptados de Zinder, S. 1984. «Microbiology of anaerobic conversion of organic wastes to methane: Recent developments», *Am. Soc. Microbiol.* 50:294-298.
[b] Condiciones estándar: solutos a 1 M, gases a 1 atm y 25 °C.
[c] Concentración de los reactantes en un ecosistema anóxico de agua dulce: ácidos grasos a 1 mM; HCO_3^- a 20 mM; glucosa a 10 µM; CH_4 a 0,6 atm; H_2 a 10^{-4} atm. Para calcular el ΔG a partir de $\Delta G'^{0}$, *véase* el Apéndice 1.

H_2 (Tabla 24.2). Otras especies de *Syntrophomonas* utilizan ácidos grasos de hasta C_{18}, incluidos algunos ácidos grasos insaturados. *Syntrophobacter wolinii* está especializado en la fermentación del propionato (C_3) y genera acetato, CO_2 y H_2, y *Syntrophus gentianae* degrada compuestos aromáticos, como el benzoato, a acetato, CO_2 y H_2 (Tabla 24.2). Sin embargo, los síntrofos son incapaces de realizar estas reacciones síntrofas en un cultivo axénico porque requieren para crecer un organismo asociado consumidor de H_2. Este requisito tiene que ver con la energética del proceso síntrofo.

Como se ha descrito en la Sección 21.5, el consumo del H_2 por el organismo asociado es crucial para el crecimiento de los síntrofos: cuando las reacciones de la Tabla 24.2 se escriben con todos los reactantes en condiciones estándares (solutos a 1 M, gases a 1 atm y 25 °C), las reacciones producen cambios de energía libre que son positivos , esto es, el $\Delta G'^{0}$ (Sección 5.6) de estas reacciones es endergónico (Tabla 24.2). Pero el consumo de H_2 cambia drásticamente el estado energético al convertir la reacción en exergónica y permitir que se conserve la energía. Esto se puede contemplar en la Tabla 24.2, en la que los valores de ΔG (incremento de energía libre medida en las condiciones reales del hábitat) son exergónicos si la concentración de H_2 se mantiene muy baja porque lo consume el organismo asociado.

Los productos finales de la asociación sintrófica son CO_2 y CH_4 (Figura 24.3) y prácticamente cualquier compuesto orgánico que entre en un hábitat metanógeno acabará convirtiéndose en estos productos. Esto incluye incluso los compuestos aromáticos complejos y los hidrocarburos alifáticos. Otros organismo además de los mostrados en la Figura 24.3 podrían participar en tales degradaciones, pero a la larga se acaban generando ácidos grasos y alcoholes que se convertirán en sustratos metanógenos gracias a los sintróficos.

Simbiontes metanógenos

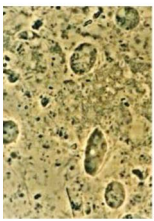
Además de la enorme diversidad de metanógenos de vida libre, también se han encontrado metanógenos endosimbióticos en determinados protistas. Varios protistas, incluidos amebas y flagelados acuáticos de vida libre que aparecen en el intestino de algunos insectos, soportan metanógenos. En las termitas, por ejemplo, los metanógenos están presentes ante todo dentro de las células de las tricomonas que se encuentran en el intestino de las termitas (**Figura 24.4**). Los simbiontes metanogénicas de los protistas son especies con forma de bacilo del género *Methanobacterium* o *Methanobrevibacter* (Sección 17.4), pero su relación exacta con los metanógenos de vida libre no está clara. Se piensa que los metanógenos endosimbióticos (junto con los acetógenos, *véase* más adelante) del intestino de las termitas, benefician a sus protistas hospedadores al consumir el H_2 generado por la fermentación de la glucosa en los protistas celulolíticos.

Metanogenesis global

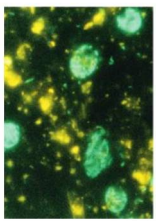
Aunque el nivel de metanogenesis sea elevado en los ambientes anóxicos, tales como las ciénagas, los sedimentos lacustres y los humedales, o en el rumen de los rumiantes (Sección 24.10) en los hábitats que se consideran óxicos, como el suelo de los bosques y las praderas, se produce algo de metano. En tales hábitats, el metano se produce en microambientes anóxicos, por ejemplo en el interior de los terrones de suelo. Además, ciertas plantas fabrican metano también, aunque se desconozcan los mecanismos con los que se forma el metano y el aporte global con este origen.

La **Tabla 24.3** enumera la producción de metano de diferentes hábitats. Obsérvese que la producción biótica de metano supera con mucho la producción desde los pozos de gas y otras fuentes abióticas. Los eructos de los rumiantes y la liberación de CH_4 de las termitas, los arroza-

(a)



(b)



(c)

Figura 24.4 Termitas y su metabolismo del carbono. *(a)* Se muestra la larva de una termita obrera subterránea frecuente en el este de los EE.UU. por debajo de un intestino extraído de otra obrera diferente. El animal mide unos 0,5 cm. En estas termitas, la acetogenia es la principal forma de metabolismo anóxico del carbono, aunque también realiza metanogenia. *(b, c)* Microorganismos del intestino de la termita: *Zootermopsis angusticolis*. Se ha fotografiado el mismo campo al microscopio con dos métodos diferentes: *(b)* contraste de fases y *(c)* epifluorescencia, que muestra el color típico de los metanógenos debido a su elevado contenido de la coenzima fluorescente F_{420} (compárese con la Figura 21.20). Los metanógenos aparecen dentro de las células del protista *Tricercomitis* spp. Las partículas vegetales emiten fluorescencia amarilla. El diámetro medio de una célula del protista es de 15 a 20 μm.

les y las tierras pantanosas son la mayor fuente de metano biótico (Tabla 24.3).

Hábitats acetogénicos

La *acetogenesis* es un proceso competidor de la metanogenia que consume H_2 (formación de acetato, Sección 21.9). En algunos hábitats, por ejemplo el rumen, los acetógenos compiten mal con los metanógenos, por lo que la metanogenesis se convierte en el principal proceso consumidor de H_2. Pero en otros hábitats, como el intestino de las termitas, en el que el metano lo generan los metanógenos que viven dentro de los protistas (Figura 24.4), la acetogenesis es un proceso mucho más importante desde el punto de vista cuantitativo.

Tabla 24.3 Estimaciones de la liberación de CH_4 a la atmósfera[a]

Fuente	*Emisión de CH_4 (10^{12} g/año)*	
Biótica		
Rumiantes	80-100	
Termitas	25-150[b]	
Arrozales	70-120	
Humedales naturales	120-200	
Vertederos	5-70	
Océanos y lagos	1-20	
Tundra	1-5	
Abiótica		
Minería del carbón	10-35	
Emisiones naturales de gas	10-35	
Escapes industriales de gasoductos	10-45	
Combustión de la biomasa	10-40	
Hidratos de metano	2-4	
Volcanes	0,5	
Automóviles	0,5	
Total	350-820	
Total biótico	302-665	81-86% del total
Total abiótico	48-155	13-19% del total

[a] Datos adaptados de las estimaciones de Tyler, S. C. 1991. «The global methane budget», pp. 7258, en E. J. Rogers y W. B. Whitman (eds.), *Microbial Production and Consumption of Greenhouse Gases: Methane, Nitrogen Oxides, and Halomethanes*, American Society for Microbiology, Washington, DC (Estados Unidos).
[b] Las estimaciones más recientes indican que el valor más bajo probablemente sea más exacto.

Partiendo de unas consideraciones energéticas simples, la metanogenesis a partir de H_2 es más favorable que la acetogenesis (−131 kJ frente a −105 kJ, respectivamente), por lo que los metanógenos deben tener ventaja competitiva en todos los hábitats en los que compitan los dos procesos. Sin embargo, no ocurre así en las termitas. Existen al menos tres razones que lo explican. Primera, de alguna manera, los acetógenos son capaces de colocarse más cerca de la fuente de H_2 que los metanógenos en el intestino de las termitas, de manera que consumen la mayor parte del H_2 producido por la fermentación de la celulosa antes de que llegue a los metanógenos endosimbiónticos (Figura 24.4*c*). Segundo, a diferencia de los metanógenos, los acetógenos fermentan glucosa (que se obtiene de la celulosa). Y tercero, las termitas se alimentan de madera, que contiene mucha lignina, una sustancia que se puede degradar de manera que se favorezca la producción de compuestos aromáticos metoxilados, que también son sustrato para los acetógenos (Sección 21.9). Por lo tanto, a pesar de que las termitas son metanógenas, el carbono y el flujo de electrones favorecen la acetogenesis en este ambiente anóxico. Otros hábitats en los que la acetogenesis es un importante proceso incluyen los ambientes muy fríos, como los suelos de permafrost, en los que los acetógenos toleran mejor las bajas temperaturas que los metanógenos.

www.medilibro.com

Metanogenesis frente a sulfurogenesis

La metanogenesis y la acetogenesis están más extendidas en los sedimentos de las aguas dulces anóxicas y en los medios terrestres que en los sedimentos marinos. La razón es que las bacterias reductoras de sulfato abundan en los sedimentos marinos y superan a los metanógenos y acetógenos en la captura del H_2. El fundamento de esto reside en el hecho de que la energética de la reducción del sulfato con H_2 es más favorable que la reducción del CO_2 con el H_2 a CH_4 o a acetato: bioquímicamente está favorecida la reducción de sulfato. Sin embargo, en el agua dulce en la que la sulfurogenia es típicamente muy baja porque escasea el sulfato, dominan la metanogenesis y la acetogenesis.

24.2 Minirrevisión

En condiciones anóxicas, la materia orgánica se degrada a CH_4 y CO_2. El CH_4 se forma principalmente a partir de la reducción del CO_2 por el H_2 y a partir de acetato, suministrados por las bacterias sintróficas. Estos organismos dependen del consumo del H_2 para equilibrar su energética. Desde el punto de vista global, la fuente biótica de CH_4 es mucho mayor que la abiótica.

- ¿Qué tipo de organismos crecen en cocultivo con *Syntrophomonas*?
- ¿Cuál es el producto final de la acetogenesis? ¿En qué hábitat anóxico es mayor la acetogenesis que la metanogenesis?
- ¿Por qué la metanogenesis a partir de H_2 no es un proceso importante en los sedimentos marinos?

II CICLOS DEL NITRÓGENO, DEL AZUFRE Y DEL HIERRO

Además del carbono, los microorganismos también metabolizan otros elementos clave, entre los que se encuentran el *nitrógeno*, el *azufre* y el *hierro*, cuyos ciclos trataremos a continuación.

24.3 El ciclo del nitrógeno

El nitrógeno, N, un constituyente clave de las células, se puede encontrar en varios estados de oxidación. Ya hemos tratado cuatro transformaciones microbianas del nitrógeno hasta ahora: nitrificación, desnitrificación, anamox y fijación del nitrógeno (Secciones 20.12 a 20.14 y 21.7). Estas y otras transformaciones clave del nitrógeno se resumen en el ciclo redox mostrado en la **Figura 24.5**.

Fijación de nitrógeno

El nitrógeno gaseoso (N_2) es la forma más estable de este elemento y es el principal depósito de nitrógeno en la Tierra. Sin embargo, sólo un pequeño número de procariotas es capaz de utilizar el N_2 como fuente de nitrógeno para la célula mediante la *fijación de nitrógeno* ($N_2 + 8H \rightarrow 2NH_3 + H_2$) (Sección 20.14). El nitrógeno de la Tierra que se recicla es, en su mayor parte, en formas de nitrógeno fijado, tales como amoníaco (NH_3) y nitrato (NO_3^-). Sin embargo, en muchos ambientes el pequeño aporte de tales compuestos hace muy ventajosa la fijación biológica del nitrógeno. Retomaremos este importante proceso

Procesos clave y procariotas del ciclo del nitrógeno

Procesos	Organismos
Nitrificación ($NH_4^+ \rightarrow NO_3^-$)	
$NH_4^+ \rightarrow NO_2^-$	*Nitrosomonas*
$NO_2^- \rightarrow NO_3^-$	*Nitrobacter*
Desnitrificación ($NO_3^- \rightarrow N_2$)	*Bacillus*, *Paracoccus*, *Pseudomonas*
Fijación de N_2 ($N_2 + 8H \rightarrow NH_3 + H_2$)	
De vida libre	
Aerobios	*Azotobacter*
	Cianobacterias
Anaerobios	*Clostridium*, bacterias verdes y púrpuras
Simbióticos	*Rhizobium*
	Bradyrhizobium
	Frankia
Amonificación (N orgánico $\rightarrow NH_4^+$)	Pueden hacerla muchos organismos
Anamox ($NO_2^- + NH_3 \rightarrow 2N_2$)	*Brocadia*

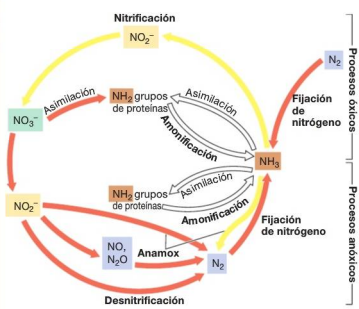


Figura 24.5 Ciclo redox del nitrógeno. Las reacciones de oxidación se muestran con flechas amarillas y las de reducción con flechas rojas. Las reacciones sin cambio redox aparecen en blanco. La reacción anamox es $NO_2^- + NH_3 + H^+ \rightarrow N_2 + 2H_2O$.

más adelante en este capítulo (Sección 24.15) cuando describamos la fijación simbiótica del N_2.

Desnitrificación

En la Sección 21.7 hemos tratado la función del nitrato como aceptor de electrones alternativo en la respiración anaerobia. En la gran mayoría de condiciones, el producto final de la reducción del nitrato son los compuestos gaseosos N_2, NO o N_2O, en lo que se denomina *desnitrificación* (Figura 24.5), que es la principal forma biológica de producción de N_2. Por otro lado, la desnitrificación es un proceso perjudicial. Por ejemplo, en los terrenos fertilizados con nitrato de potasio, el fertilizante pasa al agua después de las lluvias fuertes, de manera que se presentan condiciones anóxicas donde se puede desnitrificar extensivamente, con lo que se retira del suelo el nitrógeno fijado. Por otro lado, la desnitrificación puede ayudar al tratamiento de las aguas residuales (Sección 36.2): al retirar el nitrato, la desnitrificación minimiza el crecimiento de las algas cuando las aguas residuales tratadas se descargan en lagos y ríos.

La producción de N_2O y NO mediante desnitrificación tiene consecuencias medioambientales. El N_2O se puede oxidar fotoquímicamente en NO en la atmósfera. El NO reacciona con el ozono (O_3) en las capas superiores de la atmósfera para formar nitrito (NO_2^-), que vuelve a la Tierra como ácido nítrico (HNO_2). De esta forma, la desnitrificación contribuye tanto a la destrucción del ozono como a la lluvia ácida, lo que hace que pase más radiación ultravioleta a la superficie de la Tierra y se acidifiquen los suelos, respectivamente. El aumento de la acidez del suelo cambia la estructura y funcionamiento de la comunidad microbiana y, a la larga, la fertilidad del suelo, lo que tiene repercusiones tanto sobre la diversidad vegetal como sobre la producción agrícola de cultivos.

Flujos de amoníaco, nitrificación y anamox

El amoníaco se libera durante la descomposición de los compuestos orgánicos nitrogenados tales como aminoácidos y nucleótidos, un proceso denominado *amonificación*) (Figura 24.5). A pH neutro, el amoníaco se encuentra en forma de ion amonio (NH_4^+). La mayor parte del amonio liberado por la descomposición en el suelo se recicla rápidamente y se convierte en aminoácidos en las plantas y los microorganismos. Sin embargo, dado que el amoníaco es volátil, algo se pierde de los suelos alcalinos por vaporización, y las mayores pérdidas de amonio a la atmósfera se producen en los lugares con una densa población animal (por ejemplo, corrales). A escala global, sin embargo, el amoníaco constituye sólo el 15% del nitrógeno liberado a la atmósfera, puesto que la mayor parte la forman el N_2 y el N_2O de la desnitrificación.

La *nitrificación* es la oxidación del NH_3 a NO_3^- y se produce con facilidad en los suelos bien drenados a pH neutro mediante las actividades de las bacterias nitrificantes (Secciones 15.3 y 20.12) (Figura 24.5). Mientras que la desnitrificación *consume* nitrato, la nitrificación los *produce*. Si se añade a los suelos materia orgánica rica en proteínas, como estiércol o aguas residuales, aumenta la tasa de nitrificación. Aunque las plantas asimilen con facilidad el nitrato, es muy hidrosoluble y se lixivia o se desnitrifica de los suelos que reciben mucha agua de lluvia. Por consiguiente, la nitrificación no es beneficiosa para la agricultura. Por otra parte, el amoníaco está cargado positivamente y se adsorbe con fuerza en las arcillas que están cargadas negativamente.

El amoníaco anhidro se utiliza ampliamente como abono nitrogenado, y se le añaden productos químicos para inhibir la nitrificación. Uno de los inhibidores habituales es una piridina sustituida, la *nitrapirina* (2-cloro-6-triclorometilpiridina, también conocida como N-SERVE). La nitrapirina inhibe específicamente la primera etapa de la nitrificación, la oxidación del NH_3 a NO_2^- (Sección 20.12), lo que bloquea las dos etapas de la nitrificación porque la segunda etapa, $NO_2^- \rightarrow NO_3^-$, depende del primero. La adición de inhibidores de la nitrificación al amonio anhidro ha aumentado enormemente la eficacia de la fertilización de los cultivos y ha ayudado a prevenir la contaminación de las vías fluviales con el nitrato lixiviado desde los suelos fertilizados.

El amoníaco se puede catabolizar de forma anaerobia mediante *Brocadia* y los organismos relacionados en el proceso denominado *anamox*. En esta reacción, el amoníaco se oxida con nitrito (NO_2^-) como aceptor de electrones y libera N_2 como producto final (Figura 24.5) a la atmósfera. Aunque se trate de un proceso abundante en los sedimentos y las aguas residuales, el anamox no es significativo en los suelos bien drenados. La microbiología y la bioquímica del anamox se trató en la Sección 20.13.

24.3 Minirrevisión

El nitrógeno gaseoso (N_2) es la principal forma de nitrógeno en la Tierra, pero sólo la pueden utilizar como fuente de nitrógeno las bacterias fijadoras de nitrógeno. El amoníaco que se produce por la fijación del nitrógeno o por la amonificación se puede asimilar en materia orgánica u oxidar a nitrato. La desnitrificación y el anamox provocan pérdidas de nitrógeno de la biosfera.

- ¿Qué es la fijación del nitrógeno y por qué es importante para el ciclo del nitrógeno?
- ¿En qué se diferencian los procesos de nitrificación y desnitrificación? ¿En qué se diferencian la nitrificación y el anamox?
- ¿De qué manera el compuesto nitrapirina es beneficioso para la agricultura y el medio?

24.4 El ciclo del azufre

Las transformaciones del azufre debidas a los microorganismos son aún más complejas que las del nitrógeno debido al gran número de estados de oxidación del azufre y al

hecho de que algunas de sus transformaciones se producen de manera abiótica. La reducción del sulfato y la oxidación quimiolitótrofa del azufre se describieron en las Secciones 21.8 y 20.10, respectivamente. El ciclo redox de las transformaciones del azufre se muestra en la **Figura 24.6.**

Aunque el azufre se puede encontrar en varios estados de oxidación, sólo tres tienen importancia en la naturaleza: −2 (sulfhidrilo, R-SH, y sulfuro, HS^-), 0 (azufre elemental, S^0) y +6 (sulfato, SO_4^{2-}). La mayor parte del azufre de nuestro planeta se encuentra en sedimentos y rocas en forma de minerales de sulfato, principalmente el yeso ($CaSO_4$) y minerales de sulfuro (pirita, FeS_2), aunque el mar constituye el depósito más importante de azufre (como sulfato) para la biosfera.

Sulfuro de hidrógeno y reducción de sulfato

El sulfuro de hidrógeno (H_2S) es el principal gas volátil de azufre. El sulfuro se forma a partir de la reducción bacteriana del sulfato ($SO_4^{2-} + 8H^+ \rightarrow H_2S + 2H_2O + 2OH^-$) (Figura 24.6) o por las emisiones geoquímicas de fuentes de sulfuro y volcanes. Aunque el H_2S sea volátil, la forma de sulfuro presente en un ambiente es dependiente del pH: por debajo de pH 7 predomina el H_2S y por encima predomina el S^{2-}.

Las bacterias productoras de sulfato son un grupo grande y variado (Sección 15.18), y están ampliamente distribuidas en la naturaleza. Sin embargo, en muchos hábitats anóxicos, como las aguas dulces y muchos suelos, la reducción del sulfato se ve limitada por la escasez de sulfato. Más aún, como para mantener la reducción del sulfato se necesitan donadores de electrones orgánicos (o H_2, que es un producto de la fermentación de los compuestos orgánicos), sólo se puede producir cuando hay cantidades significativas de productos orgánicos.

En los sedimentos marinos, la tasa de reducción de sulfato está normalmente limitada por el carbono y se puede aumentar significativamente al añadir materia orgánica. Eso es importante porque el vertido de aguas residuales, lodos y basuras en el mar aumenta notablemente la cantidad de materia orgánica de los sedimentos y desencadena la reducción de sulfato. Como el H_2S es tóxico para muchas plantas y animales, la formación de HS^- por la reducción del sulfato posiblemente sea peligroso (el sulfuro es tóxico porque se combina con el hierro de los citocromos y bloquea la respiración). El sulfuro se destoxifica habitualmente en el ambiente al combinarse con el hierro y formar los minerales insolubles FeS y FeS_2 (pirita). El color negro de los sedimentos sulfúricos se debe a estos minerales de sulfuros metálicos (Figura 15.49g).

Oxidación y reducción del sulfuro y el azufre elemental

En condiciones óxicas, el sulfuro se oxida rápida y espontáneamente a pH neutro. Las bacterias quimiolitótrofas que oxidan el azufre, que en su mayoría son aerobias, catalizan la oxidación del sulfuro. Sin embargo, debido a la rapidez con la que se produce la reacción química, las bacterias oxidan cantidades significativas de sulfuro sólo en las zonas en las que el H_2S procedente de las zonas anóxicas más profundas se encuentra con el O_2 que desciende de las zonas óxicas. Además, si hay luz, se puede producir la oxidación anóxica del sulfuro, catalizada por las bacterias verdes y púrpuras del azufre (Secciones 15.2 y 16.15).

El azufre elemental (S^0) es químicamente estable, pero se oxida por la acción de las bacterias quimiolitótrofas que oxidan azufre, como *Thiobacillus* y *Acidithio-*

Procesos clave y procariotas del ciclo del azufre

Procesos	Organismos
Oxidación de sulfuro/azufre ($H_2S \rightarrow S^0 \rightarrow SO_4^{2-}$)	
Aerobia	Quimiolitótrofos del azufre (*Thiobacillus*, *Beggiatoa*, otros)
Anaerobia	Bacterias fotótrofas verdes y púrpuras, algunos quimiolitótrofos
Reducción de sulfato (anaerobia) ($SO_4^{2-} \rightarrow H_2S$)	*Desulfovibrio*, *Desulfobacter*
Reducción de azufre (anaerobia) ($S^0 \rightarrow H_2S$)	*Desulfuromonas*, muchas arqueas hipertermófilas
Dismutación del azufre ($S_2O_3^{2-} \rightarrow H_2S + SO_4^{2-}$)	*Desulfovibrio* y otros
Oxidación o reducción de compuestos orgánicos azufrados	($CH_3SH \rightarrow CO_2 + H_2S$) ($DMSO \rightarrow DMS$) Muchos organismos pueden hacerlo
Desulfurilación (S orgánico $\rightarrow H_2S$)	Muchos organismos pueden hacerlo

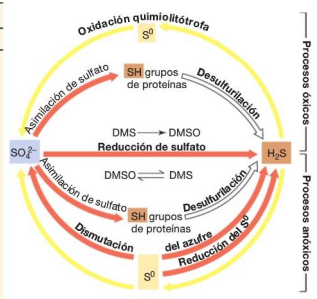


Figura 24.6 Ciclo redox del azufre. Las reacciones de oxidación se muestran con flechas amarillas y las de reducción con flechas rojas. Las reacciones sin cambio redox aparecen en blanco. DMSO: dimetilsulfóxido; DMS: dimetilsufuro.

bacillus (Secciones 15.4 y 20.10). El azufre elemental es insoluble y por eso las bacterias que lo oxidan se adhieren fuertemente a los cristales de azufre para obtener su sustrato (Figura 20.26*b*). La oxidación del azufre elemental forma ácido sulfúrico (H_2SO_4) y realiza la disminución característica del pH del ambiente. El azufre elemental se añade a veces a los suelos alcalinos para bajar el pH, confiando en que los ubicuos tiobacilos se encarguen del proceso de la acidificación.

El azufre elemental puede ser tanto reducido como oxidado. La reducción de azufre a sulfuro (una forma de respiración anaerobia) es un proceso ecológico importante, especialmente entre las arqueas hipertermófilas (Capítulo 17). Aunque las bacterias reductoras de sulfato también llevan a cabo esta reacción, el grueso de la reducción del azufre en la naturaleza lo realizan probablemente organismos filogenéticamente distintos que son incapaces de reducir el sulfato. Sin embargo, los hábitats de los reductores de azufre son, por lo general, los de los reductores de sulfato, de manera que desde el punto de vista ecológico, los dos grupos coexisten y forman una especie de gremio metabólico (Figura 23.2).

Compuestos orgánicos azufrados

Además de las formas *inorgánicas* del azufre, las bacterias también metabolizan numerosos compuestos azufrados *orgánicos* que también entran en el reciclaje biogeoquímico del azufre. Muchos de estos compuestos de olor fuerte son muy volátiles, por lo que pasan a la atmósfera. El compuesto orgánico azufrado más abundante en la naturaleza es el *dimetilsufuro* (CH_3-S-CH_3), que se origina principalmente en los ambientes marinos como producto de degradación del propionato de dimetilsulfonio (Figura 6.26), un soluto osmorregulador importante en las algas marinas. Los microorganismos pueden utilizar el propionato de dimetilsulfonio como fuente de carbono y como donador de electrones y lo catabolizan a dimetilsufuro y acrilato. El acrilato es un derivado del ácido graso propionato y se utiliza para el crecimiento.

El dimetilsufuro liberado a la atmósfera se oxida fotoquímicamente en metanosulfonato ($CH_3SO_3^-$), SO_2 y SO_4^{2-}. Por el contrario, los microorganismos pueden transformar el dimetilsufuro producido en los hábitats anóxicos de al menos tres maneras: (1) por metanogenesis (se produce CH_4 y H_2S), (2) como donador de electrones para la fijación fotosintética del CO_2 en las bacterias fotótrofas púrpuras (se produce dimetilsulfóxido, DMSO), y (3) como donador de electrones en el metabolismo energético en determinados quimioorganótrofos y quimiolitótrofos (también se produce DMSO). El DMSO también puede actuar como aceptor de electrones en la respiración anaerobia (Sección 21.12) con producción de dimetilsufuro. Otros muchos compuestos orgánicos azufrados afectan al ciclo global del azufre, entre ellos el metanotiol (CH_3SH), el dimetildisulfuro (H_3C-S-S-CH_3) y el disulfuro de carbono (CS_2), pero, en su conjunto, el dimetilsufuro es lo más significativo.

24.4 Minirrevisión

Las bacterias desempeñan funciones importantes tanto en las reacciones de oxidación como en las de reducción del ciclo del azufre. Las bacterias oxidadoras de sulfuro y del azufre producen sulfato, mientras que las bacterias reductoras de sulfato consumen sulfato y producen sulfuro de hidrógeno. Como el sulfuro es tóxico y reacciona con varios metales, la reducción del sulfato es un proceso biogeoquímico importante. El dimetilsufuro es el principal compuesto orgánico azufrado de importancia ecológica en la naturaleza.

- ¿El H_2S es sustrato o producto de las bacterias reductoras de sulfato? ¿Y de las bacterias quimiolitótrofas del azufre?
- ¿Por qué la oxidación bacteriana provoca una caída del pH?
- ¿Qué compuesto orgánico azufrado es el más abundante en la naturaleza?

UNIDAD 4

24.5 El ciclo del hierro

El hierro es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre. En la superficie de la Tierra, el hierro se presenta en dos estados de oxidación: ferroso (Fe^{2+}) y férrico (Fe^{3+}). Existe un tercer estado de oxidación, el Fe^0, que sólo se produce por la actividad humana por la fundición de las menas de hierro para formar el hierro fundido. En la naturaleza, el hierro se recicla entre las formas ferrosa y férrica principalmente, cuyas reacciones redox incluyen tanto oxidaciones como reducciones. El Fe^{3+} se reduce tanto químicamente como de resultas de la respiración anaerobia, y el Fe^{2+} se oxida tanto químicamente como de resultas del metabolismo quimiolitótrofo (**Figura 24.7**).

Reducción bacteriana del hierro

Algunos microorganismos utilizan el hierro férrico como aceptor de electrones en la respiración anaerobia (Sección 21.12). La reducción del hierro férrico es muy corriente en los suelos encharcados, ciénagas y sedimentos lacustres anóxicos. El movimiento de las aguas del fondo, ricas en hierro, en las ciénagas anóxicas o en los suelos encharcados dan lugar al transporte de cantidades considerables de hierro ferroso. Cuando estas aguas cargadas de hierro alcanzan las regiones óxicas, el hierro ferroso se oxida químicamente o por la acción de las bacterias del hierro. Entonces, los compuestos férricos precipitan y forman depósitos de hierro marrones (Figura 20.28):

$$Fe^{2+} + \tfrac{1}{4}O_2 + 2\tfrac{1}{2}H_2O \rightarrow Fe(OH)_3 + 2H^+$$

El precipitado de hierro férrico interacciona con otras sustancias no biológicas, como el humus (Sección 24.1),

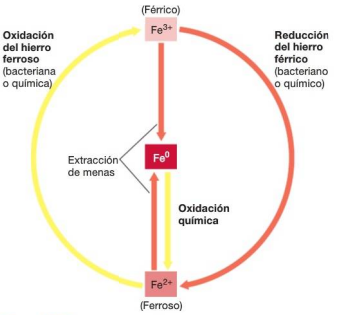
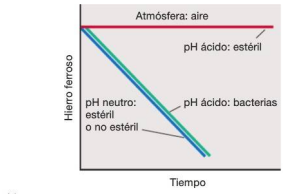


Figura 24.7 Ciclo redox del hierro. Las formas principales de hierro en la naturaleza son Fe^{2+} y Fe^{3+}. El Fe^0 es un producto primario de las actividades humanas en la extracción de menas de hierro. Las oxidaciones corresponden a las flechas amarillas y las reducciones a las flechas rojas.



(a)

Ricardo Amils

(b)

Figura 24.8 Oxidación del hierro ferroso (Fe^{2+}). *(a)* Oxidación del hierro ferroso en función del pH y de la presencia de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans*. Obsérvese que el Fe^{2+} es estable en condiciones ácidas en ausencia de las células bacterianas. *(b)* Un tapete de bacterias que contiene algas verdes acidófilas y varios procariotas oxidadores de hierro en Río Tinto. El río es muy ácido y contiene gran cantidad de metales disueltos, en particular Fe^{2+}. Los precipitados color teja contienen $Fe(OH)_3$.

para reducir de vuelta el Fe^{3+} a Fe^{2+} (Figura 24.7). El hierro férrico también puede formar complejos con diferentes constituyentes orgánicos de manera que se solubiliza y vuelve a estar disponible como aceptor de electrones para las bacterias reductoras de hierro férrico.

Hierro férrico y oxidación de pirita a pH ácido

El único aceptor de electrones que puede oxidar abióticamente el Fe^{2+} es el O_2. En los hábitats de pH neutro, el Fe^{2+} lo oxida las bacterias del hierro, como *Gallionella* y *Leptothrix* (Sección 15.15). Sin embargo, esto ocurre principalmente en las interfases entre las aguas subterráneas anóxicas ricas en hierro ferroso y el aire. La oxidación bacteriana más intensa del hierro ocurre a pH ácido, en el que el Fe^{2+} es estable. En los hábitats extremadamente ácidos, el quimiolitótrofo acidófilo *Acidithiobacillus ferrooxidans* y los oxidadores de hierro acidófilos oxidan el Fe^{2+} a Fe^{3+} (**Figura 24.8**). En la oxidación del hierro ferroso a férrico se genera muy poca energía (Sección 20.11), por lo que estas bacterias deben oxidar grandes cantidades de hierro para poder crecer; en consecuencia, incluso una pequeña población puede conseguir precipitar una gran cantidad de hierro. *A. ferrooxidans* es un acidófilo estricto que se encuentra con frecuencia en el drenaje ácido de las minas y es responsable de la precipitación de la mayor parte del hierro férrico en condiciones de pH moderadamente ácido (de 2 a 4).

A. ferrooxidans y *Leptospirillum ferrooxidans* viven en ambientes en los que el ácido sulfúrico es el ácido dominante y donde hay gran cantidad de sulfatos. A 20-20 °C y pH moderadamente ácido domina *A ferrooxidans*, mientras que a 30-50 °C y pH más ácido (de 1 a 2) predomina *L. ferrooxidans*. En estas condiciones, el hierro férrico no precipita en forma de hidróxido, sino como un mineral de sulfato complejo llamado *jarosita* [$HFe_3(SO_4)_2(OH)_6$]. La jarosita es un precipitado amarillento o amarronado que constituye uno de los principales contaminantes del drenaje ácido de las minas, una solución amarilla desagradable denominada «el chico amarillo» por los mineros de los EE.UU (Figura 20.28 y Figura 24.8). *A. ferrooxidans* y *L. ferrooxidans* son distintos desde el punto de vista morfológico, fisiológico y metabólico: mientras que *L. ferrooxidans* crece sólo en Fe^{2+}, *A. ferrooxidans* crece como quimiolitótrofo tanto con Fe^{2+} como con S^0 como donante de electrones.

Una de las formas más habituales de hierro natural es la **pirita** (FeS_2), que se forma cuando el azufre reacciona

con el sulfuro ferroso (FeS) para dar un mineral cristalino insoluble. La pirita es muy frecuente en los carbones bituminosos y en muchos otros depósitos minerales (**Figura 24.9**). La oxidación bacteriana de la pirita tiene gran importancia para la aparición de las condiciones de acidez en las actividades mineras (Figura 24.9*b*). Además, la oxidación de la pirita por las bacterias tiene una importancia considerable en la lixiviación microbiana de las menas que se describe en el siguiente apartado.

La oxidación de la pirita es una combinación de reacciones catalizadas química y enzimáticamente, en las que intervienen dos aceptores de electrones: el oxígeno molecular (O_2) y el ion férrico (Fe^{3+}). Cuando la pirita queda expuesta, como en la minería (Figura 24.9*b*), se produce la reacción química lenta con O_2 que se muestra en la **Figura 24.10***a*. Esta reacción, denominada la *reacción de iniciación*, conduce a la oxidación del sulfuro a sulfato y al desarrollo de condiciones ácidas en las que el hierro ferroso que se forma es estable en presencia de oxígeno. *A. ferrooxidans* y *L. ferrooxidans* catalizan entonces la oxidación del hierro ferroso a férrico. El Fe^{3+} que se forma en estas condiciones ácidas, al ser soluble, reacciona espontáneamente con más pirita y la oxida a iones ferroso más ácido sulfúrico:

$$FeS_2 + 14Fe^{3+} + 8H_2O \rightarrow 15Fe^{2+} + 2SO_4^{2-} + 16H^+$$

Los iones ferroso formados se oxidan de nuevo a ion férrico por las bacterias, y estos iones, a su vez, reaccionan con más pirita. Por lo tanto, la tasa de oxidación de la pirita aumenta progresiva y rápidamente en lo que se conoce como *ciclo de propagación* (Figura 24.10*b*). En condiciones naturales, se lixivia parte del hierro ferroso que generan las bacterias y se transporta por las aguas subterráneas hasta las corrientes de agua próximas. No obstante, como el oxígeno está presente en el drenaje aireado, la oxidación bacteriana del hierro ferroso tiene lugar en estas salidas y se forma un precipitado de hierro férrico insoluble.

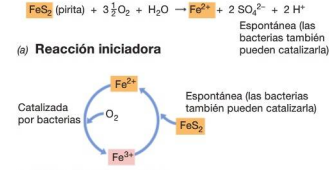


Figura 24.10 Papel de las bacterias oxidadoras de hierro en la oxidación de la pirita mineral. *(a)* Reacción de iniciación no biológica principal. *(b)* El ciclo de propagación, que incluye componentes bióticos y abióticos.

Drenaje ácido de las minas

La oxidación bacteriana de los minerales sulfurosos resulta significativa en el **drenaje ácido de las minas**, un problema medioambiental de las regiones contaminadas por la minería del carbón (**Figura 24.11**). La mezcla de las aguas ácidas de la mina con la de los ríos y lagos degrada gravemente la calidad del agua porque tanto el áci-

Figura 24.9 Pirita y carbón. *(a)* Pirita presente en el carbón que pueden oxidar las bacterias oxidadoras de hierro y de azufre. Se muestra la sección de una pieza de carbón procedente de la formación Black Mesa en el norte de Arizona (EE.UU.). Los discos esféricos dorados (de alrededor de 1 mm de diámetro) son las partículas de pirita: FeS_2. *(b)* Veta de carbón en una actividad minera al aire libre. La exposición del carbón al oxígeno y la humedad estimula las actividades de las bacterias oxidadoras de hierro que crecen en la pirita del carbón.

Figura 24.11 Drenaje ácido de la mina en una región de carbón bituminoso. Obsérvese que el color rojo-amarillento debido a la precipitación de óxidos de hierro (Figura 20.28).

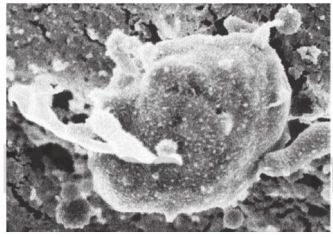
www.libros.com

do como los metales disueltos son tóxicos para los organismos acuáticos. Además, dichas aguas contaminadas no son aptas para el consumo humano ni para el uso industrial. La degradación de la pirita conduce finalmente a la formación de ácido sulfúrico e hierro ferroso, y a valores de pH por debajo de 1. El ácido que se forma ataca otros minerales asociados al carbón y la pirita, lo que origina la degradación de la estructura de la roca. El aluminio, uno de los principales elementos formadores de rocas, sólo es soluble a pH bajo y es frecuente que aparezca en grandes cantidades como Al^{3+}, muy tóxico para los organismos acuáticos, en las aguas ácidas de las minas.

Los requisitos de oxígeno para la oxidación del hierro ferroso a férrico explica cómo se desarrolla el drenaje ácido de las minas. En tanto no se extraiga carbón, no se puede oxidar la pirita porque el aire, el agua y las bacterias no pueden alcanzarla. Sin embargo, cuando la veta de carbón queda expuesta (Figura 24.9*b*), se contamina rápidamente con *A. ferrooxidans* y se introducen O_2 y agua, de manera que se puede oxidar la pirita. El ácido que se forma se puede lixiviar a las corrientes cercanas (Figura 24.11).

Donde el drenaje ácido de las minas es extenso, es normal que aparezca la especie muy acidófila de arquea *Ferroplasma*. Este procariota aerobio oxidador de hierro es capaz de crecer a pH 0 y a temperaturas de 50 °C. *Ferroplasma acidarmanus* forma masas celulares viscosas adheridas a la superficie de la pirita en los depósitos de mena de hierro. En Iron Mountain, California (EE.UU.) (**Figura 24.12**), un lugar donde se ha estudiado particularmente bien el drenaje ácido de las minas, la gruesa biopelícula de *F. acidarmanus* mantiene el pH cercano a 0. Cuando la concentración de hierro se aproxima a 30 g/l en este lugar, el tapete de *F. acidarmanus* está constantemente bañado por nuevo sustrato (Fe^{2+}) a partir del cual se genera más ácido mediante las reacciones descritas anteriormente. *Ferroplasma* es un procariota sin pared que está emparentado filogenéticamente con *Thermoplasma* (Figura 24.12*b* y Sección 17.5).

(a)



(b)

Figura 24.12 ***Ferroplasma acidarmanus***. Arquea oxidadora de hierro extremoacidófila responsable de los drenajes ácidos graves de las minas. *(a)* Cintas de células de *F. acidarmanus* que crecen en una corriente de drenaje ácido de las minas ácida (pH cercano a 0) en Iron Mountain (CA, EE.UU.). *(b)* Fotografía al microscopio electrónico de barrido de una célula de *F. acidarmanus* entre el material mineral.

24.5 Minirrevisión

El hierro está presente en la naturaleza en dos estados de oxidación: ferroso (Fe^{2+}) y férrico (Fe^{3+}). Las bacterias reducen el hierro férrico en ambientes anóxicos y oxidan el hierro ferroso de forma aerobia a pH ácido. La oxidación del hierro ferroso se produce normalmente en las regiones con minería de carbón, en las que causa un tipo de contaminación denominada drenaje ácido de las minas.

- ¿Cuál es el estado de oxidación del hierro en el mineral $Fe(OH)_3$? ¿Y en el FeS? ¿Cómo se forma el $Fe(OH)_3$?
- ¿Por qué la oxidación biológica del Fe^{2+} en condiciones óxicas se produce principalmente a pH ácido?

III BIORREMEDIACIÓN MICROBIANA

El potencial biogeoquímico de los microorganismos parece ilimitado y a menudo se ha dicho que son los mejores químicos de la Tierra. Y como tales se han utilizado para extraer metales valiosos de menas con poco mineral (lixiviado microbiano) y como agentes para adecentar el ambiente. El término **biorremediación** se refiere a la eliminación de aceites, sustancias químicas tóxicas u otros contaminantes de un ambiente mediante microorganismos. La biorremediación es una manera económica de limpiar los contaminantes y, en algunos casos, es la única manera práctica de hacerlo.

24.6 Lixiviación microbiana de las menas minerales

La producción ácida y la disolución por las bacterias acidófilas que se acaban de tratar en el apartado anterior se pueden explotar en la minería de las menas metálicas. Los sulfuros forman minerales insolubles con muchos metales, y muchas de las menas de las que se extraen estos metales son sulfuros. Si la concentración del metal en la mena es baja, puede que no resulte económicamente rentable concentrar el mineral con los medios químicos convencionales. En estas condiciones se suele llevar a cabo la **lixiviación microbiana**. La lixiviación es especialmente útil en las menas de cobre porque el sulfato de cobre que se forma durante la oxidación de las menas de sulfuro de cobre es muy hidrosoluble. De hecho, aproximadamente la cuarta parte del cobre mundial se obtiene mediante lixiviación.

Acidithiobacillus ferrooxidans y otras bacterias quimiolitótrofas oxidadoras de metales catalizan la oxidación de los minerales sulfurosos, lo que ayuda a solubilizar el metal. En la **Figura 24.13** se ilustra la tasa de oxidación relativa de un mineral de cobre en presencia y en ausencia la bacteria. La susceptibilidad a la oxidación también varía entre los minerales, y los que se oxidan con más facilidad se prestan más a la lixiviación microbiana. De este modo, las menas de sulfuro de cobre y de hierro como la pirrotina (FeS) y la covelita (CuS) se lixivian con facilidad, mientras que cuesta mucho más con las menas de plomo y molibdeno.

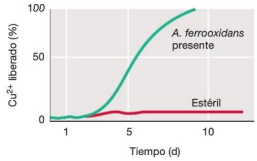


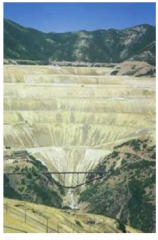
Figura 24.13 Efecto de la bacteria *Acidithiobacillus ferrooxidans* sobre la lixiviación del cobre a partir del mineral covelita (CuS). La lixiviación se realizó en una columna de laboratorio y la solución del lixiviado contenía los nutrientes inorgánicos necesarios para el crecimiento de la bacteria. La actividad lixiviadora se monitorizó analizando el cobre soluble en la solución lixiviada en el fondo de la columna. La solución de la lixiviación se hizo recircular continuamente de manera que el sistema era esencialmente cerrado.

UNIDAD 4

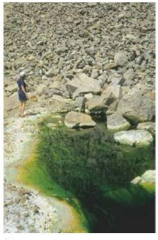
El proceso de lixiviación

En la lixiviación microbiana, la mena de baja ley se amontona en una gran pila (el apilamiento de lixiviación) y se percola por ella una solución diluida de ácido sulfúrico (pH 2) (**Figura 24.14**). El líquido que sale del fondo

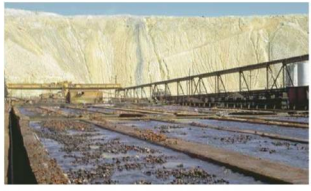
WWW.MANUALSOLUCIONARIO.COM



(a)



(b)



(c)

(d)

Figura 24.14 La lixiviación de las menas de cobre de baja ley mediante bacterias oxidadoras de hierro. *(a)* Formación típica de lixiviación. La mena de baja ley se ha machacado y amontonado en una gran pila para que la superficie expuesta sea la mayor posible. Las cañerías distribuyen el agua ácida de lixiviación por la superficie de la pila. El agua ácida percola lentamente por la pila y sale por abajo. *(b)* Efluente de una formación de lixiviación de cobre. El agua ácida es muy rica en Cu^{2+}. *(c)* Recuperación del cobre en forma de cobre metálico (Cu^0) al pasar el agua enriquecida en Cu^{2+} por hierro metálico en un caño largo. *(d)* Una pequeña pila de cobre metálico retirado del caño y listo para la purificación.

de la pila (Figura 24.14*b*) es rico en metales disueltos y se transporta a la planta de precipitación y purificación (Figura 24.14*d*). El líquido se vuelve a bombear sobre la pila y se repite el ciclo. Cuando es necesario, se añade ácido para mantener el pH bajo.

Ilustraremos la lixiviación de la mena de cobre con el ejemplo de la covelita (CuS), en el que el cobre tiene una valencia de +2. Como se muestra en la Figura 24.15, *A. ferrooxidans* oxida el sulfuro CuS a SO_4^{2-}, por lo que se libera el cobre como Cu^{2+}, si bien esta reacción también puede ocurrir espontáneamente. De hecho, la reacción clave de la lixiviación del cobre es la oxidación química del CuS con los iones férrico generados por la oxidación bacteriana de los iones ferroso (**Figura 24.15**). En cualquier mena de cobre también se encuentra pirita (FeS_2), y su oxidación por las bacterias conduce a la formación de Fe^{3+} (Figura 24.15). La reacción espontánea del CuS con el Fe^{3+} forma Cu^{2+} más Fe^{2+}. Es importante tener en cuenta que esta reacción puede tener lugar en el amontonamiento lixiviado donde las condiciones son anóxicas.

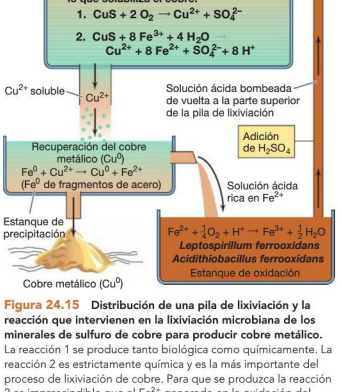


Figura 24.15 Distribución de una pila de lixiviación y la reacción que intervienen en la lixiviación microbiana de los minerales de sulfuro de cobre para producir cobre metálico. La reacción 1 se produce tanto biológica como químicamente. La reacción 2 es estrictamente química y es la más importante del proceso de lixiviación de cobre. Para que se produzca la reacción 2 es imprescindible que el Fe^{2+} generado en la oxidación del sulfuro del CuS en sulfato se vuelva a oxidar a Fe^{3+} por la acción de los quimiolitótrofos del hierro.

Recuperación del metal

La planta de precipitación es donde se recupera el Cu^{2+} de la solución de lixiviación (Figura 24.14*c*). Se añaden limaduras de hierro, Fe^0, al estanque de precipitación para recuperar el cobre del líquido de lixiviación mediante la reacción que se muestra en la parte inferior de la Figura 24.15, que a su vez produce Fe^{2+}. Este líquido rico en Fe^{2+} se transfiere a un estanque de oxidación donde *A. ferrooxidans* crece y oxida el Fe^{2+} a Fe^{3+}. Este líquido ahora rico en hierro férrico se bombea a la parte superior de la pila y el Fe^{3+} se utiliza para oxidar más CuS (Figura 24.15). Toda la operación de lixiviación se mantiene gracias a la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} por las bacterias oxidadoras de hierro.

Las altas temperaturas pueden constituir un problema en las operaciones de lixiviación. *A. ferrooxidans* es un mesófilo, pero la temperatura dentro de la carga de lixiviación aumenta espontáneamente de resultas del calor generado por las actividades microbianas. Por lo tanto, los quimiolitótrofos oxidadores de hierro termófilos como las especies termófilas de *Thiobacillus, Leptospirillum ferrooxidans* y *Sulfobacillus* o, a elevadas temperaturas (60 a 80 °C), el organismo *Sulfolobus* (Sección 17.10), también son importantes en la lixiviación de las menas.

Otros procesos de lixiviación microbiana: uranio y oro

Los microorganismos también se utilizan en la lixiviación de las menas con uranio y oro. Aunque *A. ferrooxidans* oxida el U^{4+} a U^{6+} con O_2 como aceptor de electrones, es posible que la lixiviación del uranio dependa más de la oxidación abiótica del U^{4+} por el Fe^{3+}, en la que *A. ferrooxidans* contribuiría principalmente con la reoxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+} como en la lixiviación del cobre (Figura 24.15). La reacción observada es la siguiente:

$$\underset{(U^{4+})}{UO_2} + \underset{(Fe^{3+})}{Fe_2(SO_4)_3} \rightarrow \underset{(U^{6+})}{UO_2SO_4} + \underset{(Fe^{2+})}{2FeSO_4}$$

A diferencia del UO_2, el mineral de uranio oxidado es soluble y se recupera con otros procesos.

El oro se encuentra normalmente asociado con minerales que contienen arsénico y pirita. *A ferrooxidans* y los organismos emparentados con él atacan y solubilizan los minerales de arsenopirita, liberándose el oro (Au) atrapado:

$$2FeAsS[Au] + 7O_2 + 2H_2O + H_2SO_4 \rightarrow Fe_2(SO_4)_3 + 2H_3AsO_4 + [Au]$$

El oro se acompleja después con cianuro mediante los métodos tradicionales de la minería del hierro. A diferencia del cobre, en el que la lixiviación da lugar a una gran pila de lavado (Figura 24.14*a*), la lixiviación del oro se realiza en biorreactores relativamente pequeños y cerrados (**Figura 24.16**), en la que más del 95% del oro atrapa-

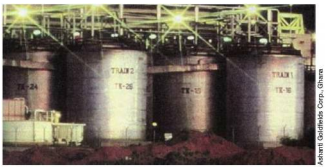


Figura 24.16 **Lixiviación del oro.** Tanques de lixiviación de oro en Ghana (África). Dentro de los tanques hay una mezcla de *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans* y *Leptospirillum ferrooxidans* que solubiliza el mineral de pirita/arsénico que contiene atrapado el oro y lo libera.

do se libera. Además, aunque el arsénico y el cianuro son residuos tóxicos del proceso minero, ambos se retiran del biorreactor de lixiviación del oro: el arsénico como un precipitado férrico y el cianuro (CN^-) mediante la oxidación microbiana a CO_2 y urea en las etapas finales del proceso de recuperación del hierro. La lixiviación microbiana del oro a pequeña escala se ha convertido en un método popular y alternativo a las técnicas convencionales de extracción de oro más costosas y perjudiciales para el medio ambiente. Se están desarrollando procesos piloto para la biolixiviación del cinc, el plomo y el níquel mediante métodos con biorreactores.

24.6 Minirrevisión

La solubilización bacteriana del cobre es un proceso que se denomina lixiviación microbiana. La lixiviación es importante a la hora de recuperar cobre, uranio y oro de menas de baja ley. La oxidación bacteriana del hierro ferroso es la reacción clave del proceso de lixiviación microbiana porque el hierro férrico por sí mismo oxida los metales en las menas.

- ¿Cómo se puede oxidar el CuS en condiciones anóxicas?
- ¿Por qué es importante mantener ácida la solución de aspersión en el proceso de lixiviación de la mena de cobre?
- Desde el punto de vista de la oxidación de los metales, ¿en qué se diferencia la lixiviación del cobre de la del oro?

24.7 Transformación del mercurio y otros metales pesados

Los metales se presentan normalmente poco concentrados en las rocas, suelos, aguas y en la atmósfera. Algunos se encuentran en cantidades despreciables en las células (por ejemplo, cobalto, cobre, cinc, níquel y molibdeno). En concentraciones elevadas, sin embargo, estos metales son tóxicos. De ellos, algunos son lo suficientemente volátiles para contaminar también el aire, entre los que se incluyen el mercurio, el plomo, el arsénico, el cadmio y el selenio. Por los problemas medioambientales y la participación microbiana, nos centraremos en la biogeoquímica del mercurio.

Ciclo global del mercurio y el metilmercurio

Aunque el mercurio se encuentre en concentraciones muy bajas en la mayoría de los ambientes naturales, alrededor de 1 ng/l, se trata de un producto muy utilizado en la industria que forma parte de muchos plaguicidas. Debido a su tendencia a acumularse en los tejidos vivos y a su elevada toxicidad, el mercurio cuenta con una enorme importancia medioambiental. Por ejemplo, la explotación de los yacimientos de mercurio y la quema de combustibles fósiles liberan al ambiente unas 40.000 *toneladas* de mercurio cada año; con los procesos biogeoquímicos abióticos se libera una cantidad aún mayor. El mercurio también es un producto secundario de la industria electrónica (especialmente la fabricación de pilas y cables), la industria química y la incineración de las basuras. La principal forma de mercurio en la atmósfera es el mercurio elemental (Hg^0), que es volátil y se oxida fotoquímicamente al ion mercúrico (Hg^{2+}). La mayor parte del mercurio penetra en los ambientes acuáticos en forma de Hg^{2+} (**Figura 24.17**).

Ciclo redox microbiano del mercurio

El Hg^{2+} se adsorbe fácilmente en la materia particulada, a partir de la cual lo metabolizan los microorganismos. La actividad microbiana da lugar a la metilación del mercurio, lo

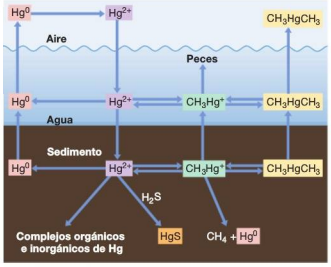


Figura 24.17 **Ciclo biogeoquímico del mercurio.** Los depósitos principales de mercurio se encuentran en el agua y en los sedimentos, desde los que se concentra en los tejidos animales o se precipita como HgS, respectivamente. Las formas de mercurio que se encuentran con más frecuencia en los ambientes acuáticos se indican en diferentes colores.

UNIDAD 4

www.libros.com

que produce *metilmercurio*, CH_3Hg^+ (Figura 24.17). El metilmercurio es muy tóxico para los animales porque se absorbe por la piel y es una potente neurotoxina. Pero, además, el metilmercurio es soluble y se puede concentrar en la cadena alimentaria, empezando por los peces, o puede ser posteriormente metilado por los microorganismos para producir el compuesto volátil dimetilmercurio: CH_3-Hg-CH_3.

Tanto el metilmercurio como el dimetilmercurio se acumulan en los animales, especialmente en el músculo. El metilmercurio es unas 100 veces más tóxico que el Hg^0 o el Hg^{2+}, y su acumulación resulta especialmente problemática en los lagos de agua dulce y las aguas marinas costeras donde se han detectado concentraciones elevadas en los últimos años en los peces capturados para el consumo humano. El mercurio también daña el riñón y el hígado humanos y de otros animales.

A escala global se producen varias transformaciones del mercurio que incluyen las reacciones que las que intervienen bacterias reductoras de sulfato ($H_2S + Hg^{2+} \rightarrow HgS$) y metanógenos ($CH_3Hg^+ \rightarrow CH_4 + Hg^0$) (Figura 24.17). La solubilidad del HgS es muy baja, por lo que, en los sedimentos anóxicos reductores de sulfato, la mayoría del mercurio se presenta en forma de HgS que, cuando se airea, los tiobacilos lo oxidan para formar inicialmente Hg^{2+} y SO_4^{2-} y, finalmente, metilmercurio.

Resistencia al mercurio

A concentraciones suficientemente altas, el Hg^{2+} y el CH_3Hg^+ son tóxicos no sólo para los organismos superiores, sino también para los microorganismos. A pesar de todo, algunas bacterias pueden llevar a cabo la biotransformación del mercurio tóxico en formas no tóxicas. En las bacterias gramnegativas resistentes al mercurio, la enzima mercúrico-reductasa ligada a NADPH reduce el Hg^{2+} a Hg^0, que es volátil pero no resulta tóxico para los humanos ni los microorganismos. La conversión bacteriana del Hg^{2+} en Hg^0 permite convertir más CH^3Hg^+ en Hg^{2+}.

En las bacterias gramnegativas *Pseudomonas aeruginosa*, los genes de resistencia al mercurio residen en un plásmido. Estos genes, denominados genes *mer*, están organizados en un operón bajo el control de la proteína reguladora MerR (**Figura 24.18**). MerR funciona como represor y como activador de la transcripción. En ausencia del Hg^{2+}, MerR funciona como un represor y se une a la región operadora del operón *mer,* lo que impide la transcripción de *merTPCAD*. Sin embargo, cuando hay Hg^{2+}, éste forma un complejo con MerR que activa la transcripción del operón *mer*.

La proteína MerP es una proteína de unión a Hg^{2+} periplásmica. MerP se une al Hg^{2+} y lo transfiere a la proteína de membrana MerT, que transporta el Hg^{2+} al interior de la célula para que lo reduzca la mercúrico-reductasa (Figura 24.18*b*). El resultado final es la reducción del Hg^{2+} a Hg^0 (que, como ya se ha expuesto, es volátil y no es tóxico) y la liberación del Hg^0 desde la célula (Figura 24.18*b*).

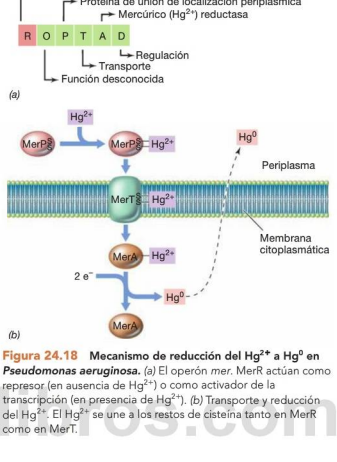


Figura 24.18 Mecanismo de reducción del Hg^{2+} a Hg^0 en *Pseudomonas aeruginosa*. *(a)* El operón *mer*. MerR actúan como represor (en ausencia de Hg^{2+}) o como activador de la transcripción (en presencia de Hg^{2+}). *(b)* Transporte y reducción del Hg^{2+}. El Hg^{2+} se une a los restos de cisteína tanto en MerR como en MerT.

Resistencia microbiana a otros metales pesados

Se ha observado que los plásmidos aislados de diferentes bacterias grampositivas y gramnegativas codifican la resistencia a los metales pesados. Ciertos plásmidos que confieren resistencia a antibióticos también contienen genes para la resistencia al mercurio y al arsénico. El mecanismo de resistencia varía para cada metal en concreto. Por ejemplo, las resistencias al cadmio y al arseniato se deben a la actividad de enzimas que expulsan el arseniato o el cadmio que entre en la célula, lo que evita la acumulación de estos metales y que desnaturalicen las proteínas. En otras resistencias intervienen cambios redox en el metal. Las bacterias que son resistentes por naturaleza a cantidades elevadas de diferentes metales contienen a menudo varios plásmidos que codifican las resistencias. Tales organismos multirresistentes son corrientes en las salidas de aguas residuales de la industria de procesamiento de metales o en las extracciones mineras, donde los metales pesados se lixivian junto con el hierro y el cobre (Sección 24.6).

24.7 Minirrevisión

La principal forma tóxica del mercurio es el metilmercurio, que puede dar lugar a Hg^{2+}, que las bacterias reducen a Hg^0. A menudo, la capacidad de las

bacterias para resistir la toxicidad de los metales pesados se debe a la presencia de plásmidos específicos que codifican enzimas capaces de detoxificar o expulsar los metales

- ¿Qué formas de mercurio son las más tóxicas para los organismos?
- ¿Cómo se detoxifica el mercurio en las bacterias?

24.8 Biodegradación del petróleo

El petróleo es una rica fuente de materia orgánica y, por ello, los microorganismos atacan rápidamente los hidrocarburos cuando el petróleo se pone en contacto con el aire y la humedad. En determinadas circunstancias, como el almacenamiento en grandes tanques, no se desea que los microorganismos crezcan. Sin embargo, en los vertidos de petróleo se busca la biorremediación y se estimula con la adición de nutrientes inorgánicos. La importancia de los procariotas en la biorremediación del petróleo se ha demostrado en los últimos años en varios casos de vertidos importantes de crudo (**Figura 24.19**).

La bioquímica del catabolismo del petróleo se ha estudiado en las secciones 21.13 y 21.15. Se puede llevar a cabo tanto la biodegradación aerobia como la anaerobia. En condiciones óxicas resaltamos la importancia de las oxigenasas por introducir átomos de oxígeno en los hidrocarburos. Aquí nos centraremos en los procesos aerobios porque las oxigenasas sólo funcionan cuando hay oxígeno y los hidrocarburos se oxidan con rapidez.

Descomposición de los hidrocarburos

Numerosas bacterias, hongos, y unas pocas cianobacterias y algas verdes son capaces de oxidar de forma aerobia los derivados del petróleo. Es muy frecuente la contaminación a pequeña escala por petróleo de los ecosistemas acuáticos y terrestres debido tanto a la actividad humana como a causas naturales. Los microorganismos que oxidan petróleo crecen con rapidez sobre las películas y manchas de éste.

La actividad oxidadora de petróleo es más eficaz si la temperatura y la concentración de los nutrientes inorgánicos (principalmente nitrógeno y fósforo) son las óptimas. Como el petróleo es insoluble en agua y es menos denso, flota sobre su superficie y forma manchas. Entonces, las bacterias degradadoras de hidrocarburos se adhieren a las gotículas insolubles de petróleo (**Figura 24.20**) y finalmente lo descomponen y dispersan las manchas. Algunas especies especialistas en la degradación del petróleo, como *Alcanivorax borkumensis*, una bacteria que crece sólo sobre hidrocarburos, ácidos grasos o piruvato, sintetiza glucolípidos tensioactivos que ayudan a fraccionar el petróleo y solubilizarlo. Una vez solubilizado, puede ser captado con más facilidad y catabolizado como fuente de energía.

(a)

(b)

(c)

Figura 24.19 Consecuencias medioambientales de los grandes vertidos de petróleo y el efecto de la biorremediación. *(a)* Una playa contaminada a lo largo de la costa de Alaska (EE.UU.) por el vertido del petrolero *Exxon Valdez* en 1989. *(b)* La zona rectangular central (flecha) se trató con nutrientes inorgánicos para estimular la biorremediación mediante microorganismos del petróleo, mientras que las regiones de la derecha y la izquierda no se trataron. *(c)* Vertido de petróleo en el mar Mediterráneo desde la planta de producción de electricidad de Jiyyeh (Líbano), que fluyó hasta el puerto de Byblos durante la guerra de 2006 en el Líbano.

En los vertidos grandes, las fracciones de hidrocarburos volátiles se evaporan con rapidez y dejan los componentes aromáticos y alifáticos de cadena media a larga, que son lo que hay que retirar con cuadrillas de limpieza y

UNIDAD 4

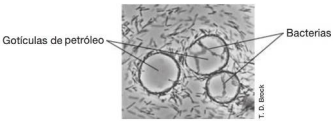


Figura 24.20 Bacterias oxidadoras de hidrocarburos asociadas a las gotículas de petróleo. Las bacterias se concentran claramente en la interfase petróleo-agua, pero nunca dentro de la gota.

tratar con microorganismos. Los microorganismos consumen el petróleo al oxidarlo a CO_2. Cuando se emprenden actividades biorremediadoras con la utilización de nutrientes inorgánicos, las bacterias oxidadoras de petróleo crecen con rapidez después de un vertido (Figura 24.20*b*). En las condiciones ideales, se puede oxidar hasta el 80% de los componentes no volátiles del petróleo al año del vertido. Sin embargo, algunas fracciones del petróleo, como las que contienen los hidrocarburos policíclicos y los ramificados, permanecen en el ambiente mucho más tiempo. El petróleo que alcanza los sedimentos se degrada más lentamente y puede tener un impacto significativo a largo plazo sobre el rendimiento de la pesca y otras actividades relacionadas que dependan de las aguas no contaminadas.

Las **interfases** entre el petróleo y el agua son extensas. Por ejemplo, es casi imposible evitar la acumulación de humedad dentro de un tanque de almacenamiento de crudo porque se forma una capa de agua por debajo del petróleo. La gasolina y el crudo se almacenan en tanques (**Figura 24.21**) que son posibles hábitats para los microorganismos oxidadores de hidrocarburos. Si el agua tiene suficiente sulfato, las bacterias reductoras de sulfato pueden crecer en los tanques, consumiendo los hidrocarburos en condiciones anóxicas (Sección 21.13). El sulfuro (H_2S) producido es muy corrosivo y puede agujerear los tanques, con el consiguiente goteo y acidificación del combustible.

Figura 24.21 Biodegradación del petróleo. Los tanques de almacenamiento del combustible en bruto suelen contener un crecimiento microbiano masivo en las interfases petróleo-agua.

Producción de petróleo

Además de la *degradación* microbiana del petróleo, algunos microorganismos también *producen* petróleo, particularmente las algas verdes. Por ejemplo, el crecimiento del alga colonial *Botryococcus braunii* va acompañado de la excreción de hidrocarburos de cadena larga (C_{30}-C_{36}) que tienen la consistencia del petróleo crudo (**Figura 24.22**). En *B. braunii*, un 30% de la masa celular seca es petróleo y existe un cierto interés por utilizar esta y otras algas productoras de petróleo como fuentes renovables del mismo. Incluso existen indicios de que el petróleo en ciertos tipos de formaciones de esquitos petrolíferos se originaron a partir de algas como *B. braunii* que crecían en el fondo de los lagos en tiempos antiguos.

24.8 Minirrevisión

Los hidrocarburos están sujetos a la oxidación microbiana. Las bacterias que oxidan hidrocarburos sirven para la biorremediación de los vertidos de petróleo y su acción se ve potenciada por la adición de nutrientes inorgánicos. Algunas algas son capaces de sintetizar hidrocarburos.

- ¿Qué es la biorremediación?
- ¿Por que la adición de los nutrientes inorgánicos estimula la degradación del petróleo mientras que no lo consigue la adición de glucosa?

24.9 Biodegradación de los xenobióticos

Un compuesto **xenobiótico** es una sustancia química sintética que no existe de manera natural. Los xenobióticos incluyen plaguicidas, bifenilos policlorados (PCB), mu-

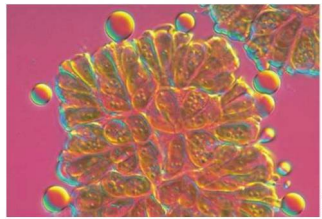


Figura 24.22 Producción fotótrofa de petróleo. Fotografía por contraste de interferencia de Nomarski de células del alga verde *Botryococcus braunii*. Obsérvense las gotículas de petróleo excretadas en el borde de las células.

niciones, colorantes y disolventes clorados entre otras cosas. Algunos xenobióticos están relacionados estructuralmente con compuestos naturales y se degradan lentamente por las enzimas que degradan los compuestos naturales. Sin embargo, la mayoría de los xenobióticos tienen una estructura química tan diferente a cualquier compuesto natural que un microorganismo haya encontrado anteriormente, que su degradación es extremadamente lenta, si es que se produce. Vamos a centrarnos aquí en los plaguicidas, como un ejemplo de posible degradación microbiana de xenobióticos.

Catabolismo de los plaguicidas

Algunos de los xenobióticos más ampliamente distribuidos son los plaguicidas, que son componentes habituales de los residuos tóxicos. Se han comercializado unos 1.000 plaguicidas para controlar químicamente diferentes plagas, entre los que se incluyen *herbicidas*, *insecticidas* y *fungicidas*. La química de los plaguicidas es muy diversa e incluye compuestos clorados, aromáticos, nitrogenados y fosforados (**Figura 24.23**). Algunas de estas sustancias sirven como fuente de carbono y donador de electrones para los microorganismos, mientras que otros no.

Si una sustancia xenobiótica se puede biodegradar, acabará desapareciendo del hábitat. Esta degradación en el suelo es deseable porque se evita la acumulación tóxica del compuesto. No obstante, incluso compuestos estrechamente relacionados se pueden biodegradar de formas muy diferentes, como se muestra en la **Tabla 24.4**. Algunos compuestos permanecen relativamente inalterados durante años en el suelo, mientras que otros se degradan significativamente en cuestión de semanas o meses. Por ejemplo, algunos de los insecticidas clorados son tan recalcitrantes que permanecen durante varios años en el suelo (Tabla 24.4).

La tasa de persistencia relativa de los xenobióticos es sólo aproximada debido a que los factores mediambientales (temperatura, pH, aireación y contenido en materia orgánica del suelo) también influyen en la descomposición. Es más, la desaparición de un pesticida de un ecosistema no significa necesariamente que lo hayan degradado los microorganismos, ya que también se pueden retirar por volatilización, lixiviación, o descomposición química espontánea. La disponibilidad del sustrato también rige el ataque microbiano de los compuestos xenobióticos, muchos de los cuales son bastante hidrófobos y poco hidrosolubles. La adsorción de esos xenobióticos a la materia orgánica y la arcilla de suelos y sedimentos impide que los microorganismos accedan a ellos. De este modo, la adición de tensioactivos o emulsionantes suele aumentar la biodisponibilidad, y por ende la biodegradación, del compuesto xenobiótico.

Muchas bacterias y hongos metabolizan plaguicidas y herbicidas. Algunos plaguicidas pueden servir tanto de fuente de energía como de carbono y se oxidan completa-

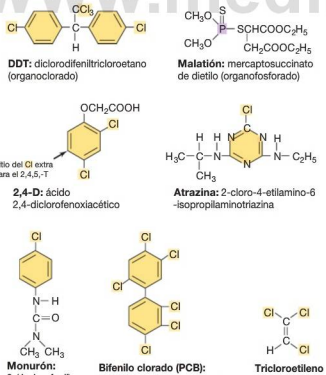


Figura 24.23 **Ejemplos de compuestos xenobióticos.** Aunque ninguno de estos compuestos existe en la naturaleza, existen microorganismos capaces de degradarlos.

Tabla 24.4 **Persistencia de los herbicidas y los insecticidas en el suelo**

Sustancia	*Tiempo requerido para la desaparición del 75 al 100%*
Insecticidas clorados	
DTT [1,1,1-tricloro-2,2-bis-(*p*-clorofenil)etano][a]	4 años
Aldrina	3 años
Clordano	5 años
Heptacloro	2 años
Lindano (hexaclorociclohexano)	3 años
Insecticidas organofosforados	
Diazinón	12 semanas
Malatión[a]	1 semana
Paratión	1 semana
Herbicidas	
2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético)[a]	4 semanas
2,4,5-T (ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético)	20 semanas
Dalapina	8 semanas
Atrazina	40 semanas
Simazina	48 semanas
Propazina	1,5 años

[a] En la Figura 24.23 se muestra la estructura.

www.medil

mente a CO_2, mientras que otros compuestos son atacados ligeramente, si acaso. Algunos compuestos se pueden degradar tanto parcial como totalmente con tal de que haya otra materia orgánica que actúe de fuente primaria de energía, lo que se conoce con el nombre de **cometabolismo**. No obstante, cuando la degradación sólo es parcial, el producto de la degradación microbiana puede ser incluso más tóxico que el compuesto original. Por eso, desde el punto de vista medioambiental, el cometabolismo de los xenobióticos no siempre resulta beneficioso.

Decloración reductora

Ya se ha descrito anteriormente una forma de respiración anaerobia denominada **decloración reductora**, un proceso en el que los compuestos orgánicos clorados se utilizan de aceptores de electrones finales en condiciones anóxicas (Sección 21.12). La bacteria *Desulfomonile* ha sido un modelo de laboratorio para estudiar la decloración reductora del clorobenzoato a benzoato:

$$C_7H_4O_2Cl^- + 2H \rightarrow C_7H_5O_2^- + HCl$$

Sin embargo, desde el punto de vista de la biorremediación, otros compuestos clorados son mucho más importantes ecológicamente que el clorobenzoato. Por ejemplo, se ha visto la decloración reductora de los compuestos dicloro-, tricloro- y tetracloro- (percloro-)etileno, cloroformo, diclorometano y los bifenilos policlorados (Figura 24.23), así como la deshalogenación de varios compuestos bromados y fluorados. Estos compuestos tóxicos, algunos de los cuales están relacionados con el cáncer (en particular el tricloroetileno, Figura 24.23), se utilizan extensamente en la industria como disolventes, desengrasantes y aislantes en los transformadores eléctricos. Se introducen en los ambientes anóxicos mediante vertidos accidentales y a partir de fugas lentas de los contenedores de almacenamiento o de los transformadores eléctricos abandonados. Finalmente acaban llegando a las aguas subterráneas, que es donde se detectan con más frecuencia en los Estados Unidos. Se ha mostrado un gran interés por el desarrollo de las estrategias de biorremediación con descloradores reductores para retirar de los ambientes anóxicos estos compuestos tan tóxicos.

Decloración aerobia

También es posible declorar de forma aerobia los xenobióticos clorados. Por ejemplo, la pseudomonas *Burkholderia* crecerá en el pesticida 2,4,5-T (Figura 24.23) para declorarla y liberar el Cl^- (**Figura 24.24**). La biodegradación aerobia de los compuestos aromáticos clorados se produce mediante oxigenasas (Sección 21.14). En el catabolismo aerobio del 2,4,5-T después de la decloración, el anillo aromático se rompe por la acción de una dioxigenasa, lo que genera compuestos que se pueden metabolizar en el ciclo del ácido cítrico (Figura 24.24*b*).

Aunque la degradación aerobia de los xenobióticos clorados es de una importancia ecológica indudable, la decloración reductora es de particular importancia por la rapidez con la que aparecen las condiciones anóxicas en los hábitats microbianos contaminados y las restricciones bioquímicas (necesidad de oxígeno, Figura 24.24*b*) que esto conlleva para los organismos aerobios que, de otro modo, degradarían el compuesto.

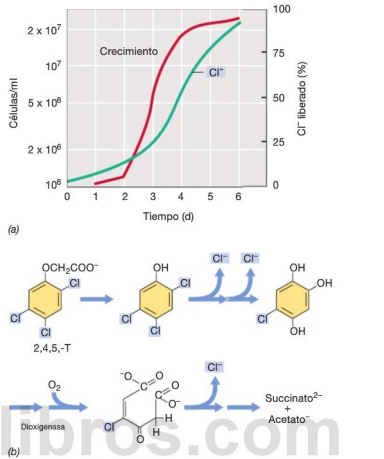


Figura 24.24 Biodegradación del herbicida 2,4,5-T. *(a)* Crecimiento de *Burkholderia cepacia* sobre 2,4,5-T como única fuente de carbono y energía. La cepa de enriqueció desde su estado natural utilizando un quimiostato para mantener baja la concentración del herbicida. El crecimiento aquí es aerobio en 1,5 g/l de 2,4,5-T. La liberación del cloro desde la molécula indica biodegradación. *(b)* Vía de la degradación aerobia del 2,4,5-T.

Plásticos biodegradables

Otro tema de especial importancia desde el punto de vista ambiental, además de la biodegradación de los residuos tóxicos, como los plaguicidas y otros hidrocarburos clorados, lo constituye la biodegradación de los residuos sólidos, en particular los plásticos. La industria del plástico produce en la actualidad cerca de 40.000 *millones* de kilogramos de plástico al año, de los que casi la mitad va a parar a los vertederos. Los plásticos son polímeros xenobióticos de diferentes tipos: polietileno, polipropileno y poliestireno son los ejemplos más típicos (**Figura 24.25**). Muchos de estos polímeros sintéticos permanecen esencialmente inalterados durante décadas en los vertederos

ilibros.com

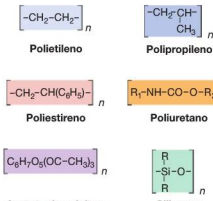
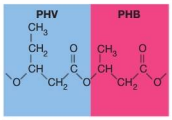


Figura 24.25 **Química de los polímeros sintéticos.** Se muestra la estructura monomérica de los polímeros sintéticos más corrientes.



(a)

(b)

Helmut Brandt

Figura 24.26 **Plásticos bacterianos**. *(a)* Copolímero de poli-β-hidroxibutirato (PHB) y poli-β-hidroxivalerato (PHV). *(b)* Una marca de champú que antes se comercializaba en Alemania y que se envasaba en una botella hecha con el copolímero PHB/PHV. Al tratarse de un producto natural, la botella se degrada fácilmente tanto aerobia como anaerobiamente.

y otros puntos de acumulación de residuos. Este problema ha sido un incentivo para investigar alternativas biodegradables (denominadas **biopolímeros**) que reemplacen algunos de los polímeros sintéticos que se usan hoy en día.

Se conocen algunos biopolímeros con propiedades similares al plástico. Los plásticos fotobiodegradables son polímeros cuya estructura se altera por la exposición a la radiación ultravioleta (procedente del sol) y genera polímeros modificados susceptibles al ataque microbiano. Los plásticos a base de almidón utilizan el almidón (un polímero de glucosa) como conector de los fragmentos cortos de un segundo polímero biodegradable. Este diseño acelera la biodegradación porque las bacterias que digieren almidón en el suelo atacan el almidón y liberan fragmentos del polímero que luego se degradan por la acción de otros microorganismos. La glucosa que se libera de la biodegradación del almidón también se puede utilizar como fuente de carbono y energía, lo que ayuda al cometabolismo del polímero.

Los plásticos microbianos están basados en el poli-β-hidroxibutirato, un polímero de reserva de carbono, y compuestos relacionados (PHA, Sección 4.10). Estos polímeros de reserva tienen muchas de las propiedades buscadas en un plástico sintético y se pueden biosintetizar de diferentes formas. Un *copolímero* que contiene aproximadamente la misma cantidad de poli-β-hidroxibutirato y de poli-β-hidroxivalerato (**Figura 24.26***a*) ha sido el de mayor éxito comercial hasta ahora. Sin embargo, por motivos económicos, los plásticos derivados del petróleo siguen copando casi todo el mercado de plásticos a día de hoy.

24.9 Minirrevisión

Muchos compuestos de síntesis química, como los insecticidas, los herbicidas y los plásticos, se denominan xenobióticos pero a menudo los pueden degradar las bacterias. Se conocen mecanismos aerobios y anaerobios.

- ¿Qué clase química de plaguicidas son los más resistentes al ataque microbiano?
- ¿Qué es la decloración reductora y en qué se diferencia de las reacciones mostradas en la Figura 24.24?
- ¿Qué ventajas tienen los biopolímeros sobre los polímeros sintéticos en la industria de los plásticos?

IV SIMBIOSIS ENTRE ANIMALES Y MICROORGANISMOS

Los microorganismos forman una relación simbiótica estrecha con los animales superiores. Como se explicó en el Capítulo 23, algunas simbiosis son relaciones comensales que benefician sólo a uno de los asociados, normalmente el microorganismo. Pero otras simbiosis son mutualismos, en el que se benefician ambos, el animal superior y el microorganismo. Examinaremos aquí tres mutualismos bien estudiados entre animales y microorganismos, centrándonos en cada caso en la manera en que los simbiontes asociados interaccionan entre sí para beneficiarse mutuamente.

24.10 El rumen y los rumiantes

Los rumiantes son animales herbívoros que poseen un órgano digestivo especial, el **rumen**, en el que se digieren la celulosa y otros polisacáridos vegetales con la ayu-

UNIDAD 4

www.elibro.com

da de microorganismos. Algunos de los animales domésticos más abundantes (vacas, ovejas y cabras) son rumiantes. La fermentación microbiana de los azúcares liberados de estos polisacáridos generan los ácidos grasos que alimentan a los rumiantes. Como la economía de la alimentación humana depende en gran medida de estos animales, la microbiología del rumen tienen un significado económico importante.

Anatomía y actividad del rumen

La mayor parte de la materia orgánica de las plantas terrestres se encuentra en forma de polisacáridos insolubles, de los que la celulosa es el más importante. Los mamíferos, como casi todos los animales, carecen de las enzimas necesarias para digerir la celulosa, pero los rumiantes sí la metabolizan gracias a que utilizan los microorganismos como agentes digestivos. El rumen, como lugar de digestión de celulosa, presenta características singulares como su tamaño relativamente grande (100 a 150 litros en una vaca, 6 litros en una oveja) y que se sitúa en el tubo digestivo antes del estómago ácido. La temperatura cálida y constante (39 °C), el pH constante (entre 5,5 y 7, dependiendo de cuándo se alimentó por última vez) y el ambiente anóxico del rumen son también factores importantes para el funcionamiento global de la misma.

En la **Figura 24.27a** se muestra la relación del rumen con las otras partes del aparato digestivo rumiante. La digestión y microbiología del rumen se ha estudiado muy bien, en parte porque ha sido posible crear un puerto de muestreo, denominado *fístula*, en el rumen de una vaca (Figura 24.27*b*) o una oveja y retirar muestras para analizarlas. El alimento llega a la redecilla y se bombea rápidamente al rumen, donde se mezcla con una saliva que contiene bicarbonato (HCO_3^-) y se bate con un movimiento rotatorio. Este movimiento peristáltico tritura la celulosa y la convierte en una fina suspensión que facilita la adherencia microbiana. A continuación, la masa de alimento se transfiere de vuelta a la redecilla, donde se forman unas pequeñas porciones llamadas *bolos alimenticios* que se regurgitan a la boca y se mastican de nuevo. Estos sólidos finamente divididos y bien mezclados con saliva se vuelven a engullir, pero ahora van a parar al libro para luego terminar en el cuajar, que es un órgano más parecido a un verdadero estómago (ácido). Aquí se inicia el proceso de digestión química que continúa por el intestino delgado y el grueso.

Fermentación microbiana en el rumen

El alimento permanece en el rumen durante unas 9 a 12 horas, durante las cuales los microorganismos celulolíticos hidrolizan la celulosa hasta dar glucosa libre. La glucosa es fermentada por las bacterias con la producción de **ácidos grasos volátiles** (AGV), principalmente *acético, propiónico* y *butírico*, y los gases CO_2 y CH_4 (**Figura 24.28**). Estos ácidos grasos atraviesan la pared del rumen y pasan a la sangre, y se oxidan como fuente principal de energía para el animal.

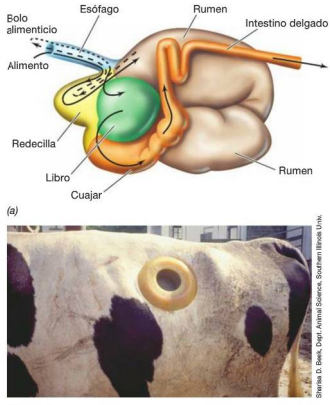


Figura 24.27 **El rumen.** *(a)* Esquema del rumen y el aparato digestivo de una vaca. El alimento se desplaza desde el esófago hasta el rumen y luego se regurgita y va a la redecilla, libro, cuajar e intestinos, en este orden. El libro es una cavidad ácida, análoga al estómago de los animales monogástricos como el cerdo y los humanos. *(b)* Fotografía de una vaca Holstein fistulada. La fístula, que se muestra sin conectar, es una entrada que permite el muestreo al acceder directamente al rumen.

El rumen contiene un gran numero de procariotas (10^{10} a 10^{11} bacterias/g de fluido en el rumen). Además de servir para la digestión, los microorganismos del rumen sintetizan aminoácidos y vitaminas que son la principal fuente de estos nutrientes esenciales para el animal. La mayoría de las bacterias se adhieren estrechamente al material vegetal y las partículas de comida. Estos materiales avanzan por el tubo digestivo del animal, donde se ve sometido a otros procesos digestivos similares a los de los animales no rumiantes. Las células microbianas del rumen se digieren en el cuajar ácido y constituyen la principal fuente de proteínas y vitaminas para el animal. Como esta proteína microbiana se recupera y la utiliza el animal, un rumiante es nutricionalmente superior a los demás animales cuando tienen que subsistir con alimentos deficientes en proteínas, como la hierba.

Las bacterias del rumen

Como el rumen es anóxico, dominan las bacterias anaerobias. Es más, como la celulosa se convierte en CO_2 y CH_4 en una cadena alimenticia microbiana de varias

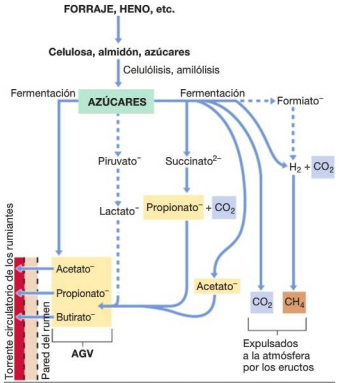


Figura 24.28 **Reacciones bioquímicas en el rumen.** Se han resaltado el sustrato principal de partida, la glucosa, y los productos finales. Las líneas discontinuas indican vías menores. La cantidad aproximada en equilibrio en el rumen de ácidos grasos volátiles (AGV) son 60 mM de acetato, 20 mM de propionato y 10 mM de butirato. Los AGV los consume el rumiante y se convierten en las proteínas del animal.

etapas, en este proceso acaban interviniendo diferentes anaerobios. (**Tabla 24.5**). Muchas bacterias distintas del rumen son capaces de hidrolizar la celulosa en azúcares que luego fermentan en ácidos grasos volátiles. *Fibrobacter succinogenes* y *Ruminococcus albus* son los dos anaerobios celulolíticos más abundantes en el rumen. Aunque ambos produzcan celulasas, *Fibrobacter*, una bacteria gramnegativa, contiene una celulasa periplásmica (Sección 4.9). Por ello, las células de *Fibrobacter* deben permanecer adheridas a las fibrillas de celulosa mientras la digiere. Por el contrario, *Ruminococcus* excreta la celulasa al rumen (esta celulasa es una *exoenzima*), donde degrada la celulosa fuera de la célula bacteriana.

Si se cambia la dieta de un rumiante de celulosa a rica en almidón (cereales, por ejemplo), crecerán en el rumen un gran numero de bacterias que digieren almidón como *Ruminobacter amylophilus* y *Succinomonas amylolitica*, organismos poco abundantes cuando la dieta es pobre en almidón. Si un animal se alimenta a base de heno de leguminosas, que es muy rico en pectinas, entonces la bacteria que digiere pectina *Lachnospira multiparus* se hará abundante en la comunidad microbiana del rumen.

En el rumen, algunos de los productos de la fermentación de la microbiota sacarolítica se utilizan como fuente de energía en los fermentadores secundarios. Así, el succinato se fermenta a propionato más CO_2 (Figura 24.28) en la bacteria *Schwartzia*, y el lactato se fermenta a acético y otros ácidos en *Selenomonas* y *Megasphaera* (Tabla 24.5). El hidrógeno (H_2) producido en el rumen por los procesos fermentativos nunca se acumula porque los metanógenos lo consumen rápidamente. A pesar del elevado contenido de AGV en el rumen, los sintróficos (Sección 24.2) no tienen un papel importante aquí porque el propio animal es un sumidero importante de ácidos grasos (Figura 24.28). Esto es, al consumir el animal el propionato y el butirato, no se necesitan los metabolismos sintróficos en el rumen.

Cambios peligrosos en la microbiota del rumen

Los cambios en la composición microbiana del rumen puede causar la enfermedad o incluso la muerte del animal. Por ejemplo, si una vaca cambia abruptamente de una dieta de forraje a una de cereales, la bacteria grampositiva *Streptococcus bovis* crecerá rápidamente en el rumen. La cantidad normal de *S. bovis* es de unas 10^7 células/g, insignificante en términos de la población bacteriana total del rumen, pero si irrumpen abruptamente los cereales, las cifras de *S. bovis* aumentan rápidamente para dominar la microbiota del rumen, hasta alcanzar las 10^{10} células/g. Eso ocurre porque *S. bovis* crece rápidamente con almidón, pero no es celulolítico, y los cereales contienen mucho almidón mientras que la hierba contiene principalmente celulosa.

Como *S. bovis* es una bacteria del ácido láctico (Secciones 16.1 y 21.2), si su población aumenta, el metabolismo fermentador del almidón eleva la cantidad de ácido láctico en el rumen. El ácido láctico es mucho más ácido que los AGV producidos durante el funcionamiento normal del rumen, por lo que ésta se acidifica por debajo de su límite funcional de pH 5,5, interrumpiéndose la funcionalidad del rumen. Su acidificación, una enfermedad que se conoce como *acidosis*, provoca la inflamación del epitelio ruminal, y la acidificación intensa puede provocar hemorragias (sangrado) en el rumen e infecciones de otros órganos debidas a escapes de la microbiota del rumen.

Además de los problemas debidos a *S. bovis*, rumiantes como las vacas pueden alimentarse exclusivamente de cereales. Sin embargo, para evitar la acidosis, se debe cambiar paulatinamente la alimentación de los animales desde el forraje a los cereales durante unos pocos días. La introducción lenta del almidón selecciona las bacterias que degradan almidón y producen AGV en lugar de *S. bovis*, por lo que prosigue el funcionamiento normal del rumen y el animal permanece sano. Los animales que padecen acidosis se pueden tratar retirando la fuente de

Tabla 24.5 Características de algunos procariotas del rumen

Organismo	*Tinción de Gram*	*Dominio filogenético*[a]	*Morfología*	*Movilidad*	*Productos de la fermentación*
Degradadores de celulosa					
Fibrobacter succinogenes[b]	Negativa	B	Bacilo	−	Succinato, acetato, formiato
Butyrivibrio fibrisolvens[c]	Negativa	B	Bacilo curvado	+	Acetato, formiato, lactato, butirato, H_2, CO_2
Ruminococcus albus[b]	Positiva	B	Coco	−	Acetato, formiato, H_2, CO_2
Clostridium lochheadii	Positiva	B	Bacilo (endosporas)	+	Acetato, formiato, butirato, H_2, CO_2
Degradadores de almidón					
Prevotella ruminicola	Negativa	B	Bacilo	−	Formiato, acetato, succinato
Ruminobacter amylophilus	Negativa	B	Bacilo	−	Formiato, acetato, succinato
Selenomonas ruminantium	Negativa	B	Bacilo curvado	+	Acetato, propionato, lactato
Succinomonas amylolytica	Negativa	B	Ovalado	+	Acetato, propionato, succinato
Streptococcus bovis	Positiva	B	Coco	−	Lactato
Degradadores de lactato					
Selenomonas lactilytica	Negativa	B	Bacilo curvado	+	Acetato, succinato
Megasphaera elsdenii	Positiva	B	Coco	−	Acetato, propionato, butirato, valerato, caproato, H_2, CO_2
Degradador de succinato					
Schwartzia succinovorans	Negativa	B	Bacilo	+	Propionato, CO_2
Degradador de pectina					
Lachnospira multiparus	Positiva	B	Bacilo curvado	+	Acetato, formiato, lactato, H_2, CO_2
Metanógenos					
Methanobrevibacter ruminantium	Positiva	A	Bacilo	−	CH_4 (a partir de H_2 + CO_2 o formiato)
Methanomicrobium mobile	Negativa	A	Bacilo	+	CH_4 (a partir de H_2 + CO_2 o formiato)

[a] B: bacteria; A: arquea.
[b] Estas especies también degradan xilano, un polisacárido muy abundante en la pared celular de las plantas (Sección 21.17).
[c] También degrada almidón

www.medilibros.com

almidón e introduciendo tampones fuertes, como el carbonato de calcio, en el rumen para ayudar a que el pH de ésta vuelva al nivel normal.

Protistas y hongos del rumen

Ademas de procariotas, el rumen tiene una biota característica (unas 10^6/ml) compuesta casi exclusivamente por protistas ciliados (Sección 18.9) Muchos de estos protistas son anaerobios estrictos, una propiedad que no es frecuente en los eucariotas. Aunque estos protistas no son esenciales para la fermentación en el rumen contribuyen al conjunto del proceso. De hecho, algunos protistas con capaces de hidrolizar la celulosa y el almidón, y fermentar la glucosa para producir los mismos AGV que sintetizan las bacterias (Figura 24.28 y Tabla 24.5). Los protistas del rumen también ingieren las bacterias de su ambiente como fuente de alimento y se cree que son importantes para controlar la densidad de bacterias en el rumen.

En el rumen también hay hongos anaerobios que desempeñan una función importante en el proceso digestivo. Estos hongos son normalmente especies que alternan una forma flagelada y otra filamentosa; los estudios con cultivos axénicos demuestran que pueden fermentar la glucosa a AGV. Por ejemplo, *Neocallimastix* es un hongo anaerobio estricto que fermenta la glucosa a formiato, acetato, lactato, etanol, H_2 y CO_2. Aunque es un eucariota, este hongo carece de mitocondrias y de citocromos, por lo que lleva una existencia fermentativa por necesidad. Sin embargo, las células de *Neocallimastix* contienen un orgánulo redox análogo a las mitocondrias denominado *hidrogenosoma*, que produce H_2 y que hasta ahora sólo se ha encontrado en determinados protistas (Sección 18.2). Los hongos del rumen también desempeñan una función importante en la degradación de los polisacáridos distintos de la celulosa, incluida la degradación parcial de la lignina (el compuesto que refuerza las paredes celulares de las plantas leñosas), la hemicelulosa (un derivado de la celulosa que contiene pentosas y otros azúcares) y pectinas (un polisacárido que contiene una mezcla de ácidos urónicos C_6 y C_5).

Otros animales herbívoros: aquellos con intestino ciego

Los rumiantes más conocidos son las vacas y las ovejas, pero cabras, camellos, bisontes, ciervos, renos, caribúes y antílopes también lo son. En cambio, los caballos y los

conejos son herbívoros mamíferos que no son rumiantes y, de hecho, tienen un sólo estómago, aunque utilizan un órgano llamado *intestino ciego*: un órgano digestivo que se sitúa en la parte posterior del intestino delgado y anterior al intestino grueso, y que sirve como recipiente de fermentación celulósica al contener microorganismos celulolíticos. Desde el punto de vista nutricional, los rumiantes son superiores a los animales con intestino ciego porque la microbiota celulolítica de los rumiantes circula a través de un estómago auténtico (ácido), lo que produce su muerte y la convierte en fuente de proteínas para el animal. Por el contrario, la microbiota celulolítica de caballos y conejos sale del animal en las heces porque el intestino ciego se localiza en el tubo digestivo después del estómago ácido.

24.10 Minirrevisión

Los rumiantes tienen un órgano digestivo denominado rumen que está especializado en la digestión de la celulosa. Las bacterias, protistas y hongos del rumen generan ácidos grasos volátiles que utiliza el propio rumiante. Además de su importancia en el proceso digestivo, los microorganismos del rumen sintetizan vitaminas y aminoácidos y son la fuente principal de proteínas para el rumiante.

- ¿Qué condiciones físicas y químicas prevalecen en el rumen?
- ¿Que son los AGV y para qué valen?
- ¿Por qué es especialmente preocupante el metabolismo de *Streptococcus bovis* para la nutrición de los rumiantes?
- ¿En que se diferencia la anatomía del tubo digestivo de los rumiantes y los animales con intestino ciego?

24.11 Ecosistemas microbianos de las fuentes hidrotermales

Aunque ya hayamos descrito las profundidades marinas como un ambiente lejano, de bajas temperaturas y altas presiones, adecuado sólo para bacterias barotolerantes y barófilas de lento crecimiento (Sección 23.10), existen algunas excepciones sorprendentes. Se han encontrado por todo el mundo comunidades animales prósperas agrupadas alrededor de las fuentes hidrotermales de los fondos marinos. Estas fuentes se localizan a unos 2.500 m de la superficie del mar en las regiones del fondo del mar en las que el magma volcánico ha provocado fisuras. El agua de mar que se filtra en estas grietas se mezcla con los minerales calientes y vuelve a salir a gran presión. Estas emisiones calientes subterráneas se denominan fuentes hidrotermales (**Figura 24.29**).

Se conocen dos tipos principales de fuentes hidrotermales: las fuentes templadas, que emiten fluido hidrotermal a temperaturas entre 6 y 23 °C, y las fuentes calientes, que emiten el fluido hidrotermal a 270-380 °C y se denominan **chimeneas negras** porque el agua, muy rica en minerales, forma una nube oscura de material precipitado al mezclarse con el agua marina fría. Como veremos a continuación, en estos chorros calientes submarinos, y cerca de ellos, viven una sorprendente diversidad de procariotas

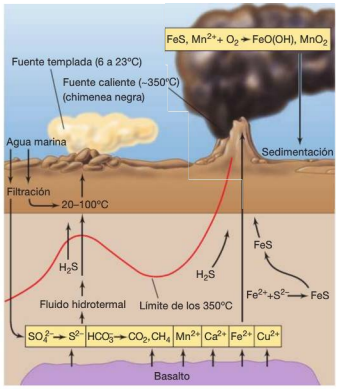


Figura 24.29 **Fuentes hidrotermales.** Diagrama de las formaciones geológicas y las especies químicas principales de las fuentes templadas y las chimeneas negras. En las fuentes templadas, el fluido hidrotermal caliente se enfría con el agua del mar que está a 2-3 °C que se infiltra en los sedimentos. En las chimeneas negras, el fluido hidrotermal caliente próximo a los 350 °C llega al fondo del mar directamente.

Animales que viven en las fuentes hidrotermales

Cerca de las fuentes hidrotermales se desarrollan varias comunidades de invertebrados, que incluyen gusanos tubícolas de unos 2 m de longitud y un gran número de mejillones y almejas gigantes (**Figura 24.30**). Estas comunidades animales no se pueden sostener con la fotosíntesis porque se encuentran por debajo de la zona fótica. Sin embargo, las fuentes hidrotermales contienen una gran cantidad de materiales inorgánicos reducidos, como H_2S, Mn^{2+}, H_2 y CO, si bien algunas fuentes contienen grandes cantidades de NH_4^+ en lugar de H_2S. Todos ellos son buenos donadores de electrones para los procariotas quimiolitótrofos (Capítulo 20). Los animales que viven en las fuentes hidrotermales son capaces de sobrevivir en per-

www.medilibros.com

(a)

(b)

(c)

Figura 24.30 Invertebrados que viven cerca de las fuentes termales submarinas. *(a)* Gusano tubícola (de la familia *Pogonophora*) que muestra la cutícula (blanca) y el penacho (rojo). *(b)* Primer plano del penacho de un gusano. *(c)* Banco de bivalvos cerca de una fuente templada. Obsérvense los depósitos amarillos de azufre elemental. Véase la Tabla 24.6 para saber qué procariotas quimiolitótrofos se pueden encontrar cerca de las fuentes hidrotermales.

manente oscuridad porque se alimentan de estas bacterias auxótrofas en una asociación simbiótica. De hecho, las bacterias viven dentro de los tejidos del animal y le proporcionan el carbono orgánico a cambio de una residencia segura y de fácil acceso a los donadores de electrones necesarios para su metabolismo energético.

Procariotas de las fuentes hidrotermales

Cerca de las fuentes hidrotermales que emiten sulfuro viven numerosos quimiolitótrofos oxidadores de azufre, como *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiothrix* y *Beggiatoa* (Sección 15.4). Algunas fuentes mantienen bacterias nitrificantes, oxidadoras de hidrógeno, oxidadoras de hierro y manganeso, o bacterias metanótrofas, estas últimas presumiblemente crecen gracias al metano y el monóxido de carbono (CO) que desprenden las fuentes. La **Tabla 24.6** resumen los donadores y aceptores de electrones inorgánicos que se cree que son importantes en el metabolismo quimiolitótrofo de las fuentes hidrotermales.

Mediante las poderosas herramientas de la genómica medioambiental (Secciones 13.13 y 22.6), los estudios sobre la diversidad procariótica cerca de las fuentes hidrotermales han revelado la existencia de una gran cantidad de bacterias diferentes. Estas comunidades están dominadas por especies de proteobacterias, en particular epsilonproteobacterias (Sección 15.19). También abundan las alpha-, delta- y gammaproteobacterias, mientras que no hay betaproteobacterias. Muchas epsilon- y gammaproteobacterias oxidan azufre y sulfuro como donadores de electrones, y con oxígeno o nitrato como aceptor de electrones. En cambio, la mayoría de las deltaproteobacterias se han especializado en el metabolismo anaerobio que utiliza los compuestos azufrados como aceptores de electrones. En el Capítulo 15 se trata cada uno de estos grupos en más detalle.

A diferencia del dominio *Bacteria*, la diversidad de *Archaea* cerca de las fuentes hidrotermales es poca. Las estimaciones del número de filotipos únicos (un filotipo es una secuencia de rRNA 16S que es diferente de las otras secuencias en al menos un 3% (Secciones 14.12 y 22.5) indican que la diversidad de las bacterias cerca de las fuentes hidrotermales es unas 10 veces la de las arqueas. La mayoría de las arqueas detectadas cerca de las fuentes hidrotermales son o metanógenos (Sección 17.4) o representantes de los grupos marinos *Crenarchaeota* y *Euriarqueotas* (Sección 17.12).

Nutrición de los animales que habitan junto a las fuentes hidrotermales

Como ya se ha mencionado, algunos quimiolitótrofos, en lugar de vivir libres cerca de las fuentes, han evolucionado para formar asociaciones con los animales de las fuentes hidrotermales. Por ejemplo, los gusanos tubícolas de 2 m de longitud (Figura 24.30) carecen de boca, intestino o ano, pero contienen un órgano que consiste principalmente en un tejido esponjoso denominado el *trofosoma*. Esta estructura, que constituye la mitad de la masa del

Tabla 24.6 Procariotas quimiolitótrofos presentes cerca de las fuentes hidrotermales submarinas[a]

Quimiolitótrofos	*Donador de electrones*	*Aceptor de electrones*	*Producto a partir del donador*
Oxidadores del azufre	HS^-, S^0, $S_2O_3^{2-}$	O_2, NO_3^-	S^0, SO_4^-
Nitrificantes	NH_4^+, NO_2^-	O_2	NO_2^-, NO_3^-
Reductores del azufre	H_2	S^0, SO_4^{2-}	H_2S
Metanógenos	H_2	CO_2	CH_4
Oxidadores del hidrógeno	H_2	O_2, NO_3^-	H_2O
Oxidadores del hierro y el manganeso	Fe^{2+}, Mn^{2+}	O_2	Fe^{3+}, Mn^{4-}
Metilótrofos[b]	CH_4, CO	O_2	CO_2

[a] *Véanse* las Secciones 15.3 a 15.5 y 20.8 a 20.13 para una explicación del metabolismo quimiolitótrofo.
[b] *Véanse* las Secciones 15.6 y 21.16 para una discusión sobre la metilotrofia.

gusano, está rellena de gránulos de azufre y enormes poblaciones de procariotas esféricos oxidadores de azufre (**Figura 24.31**). Las bacterias del trofosoma tienen las actividades enzimáticas del ciclo de Calvin, la vía principal de la autotrofia (Sección 20.6), pero resulta interesante el hecho de que contenga las enzimas del ciclo inverso del ácido cítrico, una segunda vía autótrofa (Sección 20.7), así como que muestre una colección de enzimas oxidadoras de azufre necesarias para obtener energía de los compuestos azufrados reducidos (Sección 20.10). Los gusanos tubícolas se alimentan así de los compuestos orgánicos sintetizados a partir de CO_2 que excretan los quimiolitótrofos del azufre.

Además de los gusanos tubícolas, los mejillones gigantes (Figura 24.30*c*) son los habitantes más numerosos de las fuentes templadas, y se han encontrado en simbiosis con las bacterias oxidadoras de azufre que residen en las branquias. Los análisis filogenéticos (Capítulo 14) han mostrado que todos los animales que viven en las fuentes submarinas albergan una bacteria simbionte principal cuya especie varía con el animal. Aunque se encuentra estrechamente relacionado con los quimiolitótrofos del azufre de vida libre, no se ha obtenido ningún simbionte animal en los cultivos de laboratorio.

El penacho rojo del gusano tubícola (Figura 24.30*b*) contiene muchos vasos sanguíneos y se utiliza para atrapar y transportar los sustratos inorgánicos para las bacterias simbiontes. El gusano tubícola contiene unas hemoglobinas poco frecuentes que captan tanto el H_2S como el O_2 y lleva ambos sustratos al trofosoma, donde quedan a disposición de la bacteria simbionte. El contenido de CO_2 de la sangre del gusano tubícola es unos 25 mM y presumiblemente se libera en el trofosoma como fuente de carbono para los simbiontes. Además, el análisis de isótopos estables (Sección 22.8) del azufre elemental desde el trofosoma ha mostrado que su composición $^{34}S/^{32}S$ es la misma que la del sulfuro que emiten las fuentes hidrotermales. Esta proporción es diferente a la del sulfato del agua de mar y constituye otra prueba de que el sulfuro geotérmico penetra en el gusano en grandes cantidades.

Otros animales marinos también han establecido simbiosis con bacterias para su nutrición. Por ejemplo, se han encontrado metanótrofos simbiontes en las almejas gigantes que viven cerca de las emanaciones naturales de gases en aguas relativamente poco profundas del Golfo de México (Figura 15.15). Aunque no sean exactamente autótrofos (el CH_4 es un compuesto orgánico), estos metanótrofos proporcionan a los animales su sustento al utilizar el CH_4 como donador de electrones y fuente de carbono, y excretar carbono orgánico a las almejas.

(a) *(b)*

Figura 24.31 Bacterias quimiolitótrofas oxidadoras de azufre asociadas al tejido del trofosoma de los gusanos tubícolas de las fuentes hidrotermales. *(a)* Imagen al microscopio electrónico de barrido del tejido del trofosoma, en la que se observan bacterias quimiolitótrofas oxidadoras de azufre esféricas, de unos 3 a 5 μm de diámetro. *(b)* Fotografía al microscopio electrónico de transmisión de bacterias en una sección del tejido del trofosoma. Las células aparecen con frecuencia en parejas, rodeadas por una membrana externa de origen desconocido. Reproducido con autorización de *Science* 213;340-342 (1981), © AAAS.

Agua muy caliente: chimeneas negras

Debido a la enorme presión hidrostática, el agua no hierve en las profundidades de las fuentes hidrotermales a menos que alcance temperaturas superiores a los 450 °C. En algunas fuentes se emite un fluido hidrotermal muy caliente con temperaturas de hasta 350 °C. Estos fluidos contienen contienen sulfuros metálicos, especialmente

sulfuro de hierro, y se enfrían rápidamente a medida que se mezclan con el agua fría del mar. Los sulfuros metálicos precipitados forman una torre denominada «chimenea» por encima del punto de emisión (**Figura 24.32**), de la que se pueden aislar procariotas.

Aunque está claro que los procariotas no viven en el propio fluido hidrotermal tan caliente, los organismos termófilos e hipertermófilos viven en los *gradientes* que se forman a medida que el agua caliente de enfría al mezclarse con el agua fría del mar. Por ejemplo, en las paredes del tubo de la chimenea abundan los hipertermófilos como *Methanopyrus*, una especie de las arqueas que oxida H_2 y genera metano a 110 °C (Sección 17.6). La tinción filogenética con FISH (Sección 14.9) ha detectado células de bacterias y arqueas en las paredes de las chimeneas (**Figura 24.33**). Los procariotas más termófilos de todos los conocidos pertenecen a especies de *Pyrolobus* y *Pyrodictium* (Secciones 17.11 y 17.13 a 17.15) se aislaron de las paredes de las chimeneas negras.

Cuando las chimeneas se obturan con restos minerales, los hipertermófilos presumiblemente se desplazan para colonizar chimeneas activas y, de alguna manera, se integran en su pared en crecimiento. Sorprendente, aunque requieren temperaturas muy elevadas para crecer, los hipertermófilos toleran muy bien el oxígeno y las bajas temperaturas. Por lo tanto, el transporte de las célula de una chimenea a otra en el agua de mar fría y óxica no supone ningún problema.

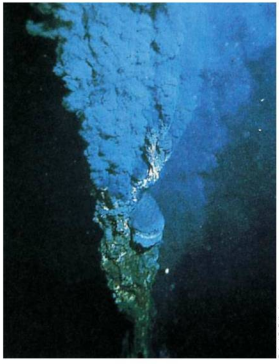


Figura 24.32 Chimenea negra de una fuente hidrotermal que libera agua rica en sulfuros y minerales a temperaturas de 350 °C. Las paredes de la chimenea negra muestran un gradiente brusco de temperatura y contienen varios tipos de procariotas.

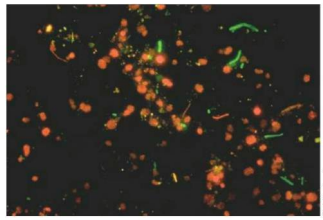


Figura 24.33 Tinción filogenética FISH del material procedente de una chimenea negra. La chimenea negra Snake-Pit en la cordillera submarinas del Atlántico Medio (a 3.500 m de profundidad). Se conjugó un colorante fluorescente verde con una sonda del ARNr 16S para el dominio *Bacteria* y un colorante rojo con una sonda del ARNr 16S para el dominio *Archaea*. El fluido hidrotermal que pasaba a través de esta chimenea estaba a 300 °C.

24.11 Minirrevisión

Las fuentes hidrotermales son emisiones calientes submarinas donde la actividad volcánica genera fluidos que contienen grandes cantidades de donadores de electrones inorgánicos que pueden utilizar las bacterias quimiolitótrofas. Algunos de estos organismos establecen relaciones mutualistas estrechas con invertebrados marinos insólitos.

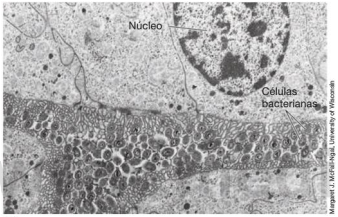
- ¿Cuál es la diferencia física y química de una fuente hidrotermal templada y una chimenea negra?
- ¿De qué forma se alimentan los gusanos tubícolas gigantes?
- ¿Por qué los 350 °C con que sale el agua de las chimeneas negras no hacen que hierva?

24.12 Simbiosis entre el calamar y *Aliivibrio*

Entre la bacteria gramnegativa marina *Aliivibrio fischeri* y un pequeño invertebrado marino, el calamar sepiólide hawaiano *Euprymna scolopes* (un adulto mide unos 4 cm de largo [**Figura 24.34***a*]), ha evolucionado una simbiosis mutualista fascinante. El calamar sepiólide secuestra grandes poblaciones de la bioluminicente *A. fischeri* (Sección 15.12) en un órgano luminoso que se encuentra en su parte ventral. La bacteria emite una luz que se parece a la de la luna penetrando el agua de mar, y se piensa que sirve al calamar de camuflaje frente a los depredadores que atacan desde debajo, por lo que le confiere una ventaja de supervivencia adicional. Algunas otras especies de

www.medilibros.com

(a)



(b)

Figura 24.34 **Simbiosis calamar-*Aliivibrio*.** *(a)* El calamar sepiólide hawaiano *Euprymna scolopes*. Se trata de un animal de unos 4 cm de largo. *(b)* Fotografía al microscopio electrónico de una sección fina del órgano luminoso que muestra la densa población de células bioluminiscentes de *Aliivibrio fischeri*.

Euprymna habitan las aguas marinas cerca de Japón, Australia y el Mediterráneo, y también contienen simbiontes de *Aliivibrio*.

El sistema calamar-*Aliivibrio* como simbiosis modélica

Son muchas las características de la simbiosis entre *E. scolopes* y *Aliivibrio* que la hacen un modelo de cómo establecer una simbiosis entre animales y bacterias. Entre ellas se encuentra, en particular, el hecho de que los animales se pueden criar en el laboratorio y que sólo hay una especie de bacteria en la simbiosis en lugar de la gran cantidad que habita en el intestino delgado de los mamíferos (Sección 28.4) o el rumen (Sección 24.10). Además, la simbiosis no es esencial: tanto el calamar como la bacteria se pueden cultivar por separado en el laboratorio. Esto permite criar calamares jóvenes sin simbiosis bacteriana y luego permitir la colonización experimentalmente. Mediante estos análisis de colonización se ha estudiado la especificidad de la simbiosis, el número de células bacterianas necesarias para iniciar la infección, la capacidad de iniciar la infección del calamar que tienen los mutantes de *A. fischeri* definidos genéticamente, y muchos otros aspectos de la relación. es más, como el genoma de *A. fischeri* está totalmente secuenciado, se pueden aplicar las poderosas técnicas de genómica microbiana para estudiar la simbiosis.

Cómo se establece la simbiosis entre el calamar y *Aliivibrio*

Los calamares que acaban de eclosionar del huevo no contienen células de *A. fischeri*. Por lo tanto, la transmisión de las células bacterianas al joven calamar es un fenómeno horizontal (ambiental) y no vertical (transovárica). Las células de *A. fischeri* del agua circundante comienzan a colonizar los tejidos de los calamares jóvenes casi inmediatamente después de que hayan surgido de los huevos, penetrando en el animal a través de los conductos ciliados que terminan en el órgano luminoso inmaduro. Increíblemente, el órgano luminoso lo coloniza específicamente *A. fischeri* y no otra de las muchas especies de bacterias gramnegativas presentes en el agua del mar. Incluso aunque se le ofrezcan otras muchas especies de bacterias bioluminiscentes al calamar joven junto con un pequeño número de células de *A. fischeri*, sólo esta última establecerá su residencia en el órgano luminoso. Esto implica que el animal, de alguna manera, reconoce las células de *A. fischeri* y excluye las otras especies.

La simbiosis calamar-*Aliivibrio* se desarrolla en varias etapas. El contacto del calamar con cualquier célula bacteriana desencadena el reconocimiento de una manera general. Tras el contacto con el peptidoglucano (un componente de la pared celular de las bacterias, Sección 4.6), el joven calamar secreta una mucosidad desde su órgano luminoso en desarrollo. Esta mucosidad constituye la primera etapa de la especificidad de la simbiosis, ya que permite formar agregados de bacterias gramnegativas, pero no de grampositivas. Dentro de los agregados de células gramnegativas suele haber un número muy pequeño de células de *A. fischeri*, pero consigue ganar a las demás para formar finalmente un monocultivo. Todos estos acontecimientos tienen lugar en menos de 2 h desde que el calamar eclosionó el huevo. Las células de *A. fischeri*, que tienen gran movilidad, presentes en el agregado migran entonces a los conductos que llevan a los tejidos del órgano luminoso. Una vez ahí, pierden el flagelo y la movilidad, y se dividen para formar poblaciones densas (Figura 24.3*b*). El órgano luminoso de un animal maduro contiene entre 10^8 y 10^9 células de *A. fischeri*. Tras la colonización, las células bacterianas desencadenan una serie de procesos del desarrollo que conducen a la maduración del órgano luminoso del hospedador.

La colonización específica de *A. fischeri* en el calamar también está apoyada por el óxido nítrico (NO), que es una respuesta de defensa bien conocida de las células

animales para luchar contra las bacterias patógenas: el gas es un potente oxidante que provoca daños oxidativos en las células bacterianas, suficientes para destruirlas (Sección 29.2). El óxido nítrico generado por el calamar se incorpora a los agregados en la mucosidad y está presente en el propio órgano luminoso. A medida que *A. fischeri* coloniza el órgano luminoso, disminuye rápidamente la cantidad de NO. Parece que las células de *A. fischeri* toleran la exposición al NO y lo consumen mediante enzimas inactivadoras de NO. Que las otras bacterias gramnegativas del agregado en la mucosidad no consigan destoxificar el NO ayudaría a explicar el repentino enriquecimiento de *A. fischeri* antes de la colonización real del órgano luminoso. Entonces, la producción continuada de NO en el órgano luminoso ayudaría a perpetuar a *A. fischeri* y a prevenir la colonización de otras especies bacterianas.

Cómo se propaga la simbiosis

El calamar se vuelve adulto a los dos meses y entonces lleva una existencia estrictamente nocturna, en la que se alimenta de pequeños crustáceos y otros mariscos. Durante el día, el animal se entierra en la arena y permanece inactivo. Cada mañana, el calamar deja casi vacío su órgano luminoso de células de *A. fischeri* y comienza el desarrollo de una nueva población de bacterias antes de comenzar su rutina nocturna de alimentación. Las células bacterianas crecen rápidamente en el órgano luminoso: a media tarde, la estructura contiene una densa población de *A. fischeri* que se necesitará par producir luz visible. La emisión de luz requiere una determinada densidad de células y está controlada por un mecanismo de regulación que se denomina *percepción de quórum* (Sección 9.6). La expulsión diurna de las células de la bacteria se cree que sirve para alimentar el ambiente con células del simbionte bacteriano, lo que, por supuesto, aumenta las posibilidades de colonización de la siguiente generación de calamares.

A. fischeri crece mucho más rápido en el órgano luminoso que en el mar abierto, muy probablemente porque recibe nutrientes del calamar. De esta forma, *A. fischeri* se beneficia de la simbiosis al conseguir un hábitat alternativo al ambiente marino, en el que además crece con rapidez para formar grandes poblaciones. Cuando se expulsan del órgano luminoso las células de *A. fischeri*, la comunidad procariota ve incrementado el número de estos organismos. Como *A. fischeri* no es una bacteria marina particularmente abundante, su enriquecimiento gracias a la relación simbiótica con el calamar probablemente ayudará a que se mantengan poblaciones mayores del microorganismo en el agua de lo que conseguiría viviendo sólo de forma libre. Como el éxito competitivo de las especies microbianas se debe en gran parte al tamaño de la población (Sección 23.1), este empujón al número de células puede conferir a *A. fischeri* una importante ventaja ecológica en su hábitat marino.

24.12 Minirrevisión

El calamar sepiólide hawaiano tiene un órgano emisor de luz en su cara ventral que está lleno de las células de un procariota: la bacteria marina bioluminicente *Aliivibrio fischeri*. Esta relación simbiótica es muy específica y beneficia a ambos.

- ¿En que beneficia la simbiosis calamar-*Aliivibrio* al calamar? ¿Y a la bacteria?
- ¿Qué características de la simbiosis entre el calamar y *Aliivibrio* la hacen un modelo ideal para estudiar las simbiosis entre animales y bacterias?

V SIMBIOSIS ENTRE PLANTAS Y MICROORGANISMOS

Concluiremos este capítulo con cuatro ejemplos de interacciones entre organismos: dos que se refieren a plantas y bacterias, una entre plantas y hongos y la tercera es una simbiosis exclusiva entre microorganismos. Existen muchas asociaciones simbióticas beneficiosas: líquenes, micorrizas y los nódulos de la raíz de las plantas leguminosas son buen ejemplo de ellas. Sin embargo, también existen asociaciones entre plantas y microorganismos que causan enfermedades a las plantas. Como ejemplo, veremos las agallas de corona de *Agrobacterium*, que es interesante porque se trata de una enfermedad con rasgos únicos y porque se transmite mediante microorganismos.

24.13 Líquenes y micorrizas

Los **líquenes** son simbiosis microbianas foliáceas o incrustantes que crecen muy a menudo sobre rocas desnudas, el tronco de los árboles, los tejados de las casas y las superficies de los suelos desnudos (**Figura 24.35**). Los líquenes consisten en una relación mutualista entre dos microorganismos, un hongo y un alga (o cianobacteria), y no entre un macro- y un microorganismo. El alga es el asociado fotótrofo y produce la materia orgánica, que es de lo que se alimenta el hongo. El hongo, incapaz de fotosintetizar, proporciona al componente fotótrofo un anclaje firme en el que puede crecer protegida de la erosión por el viento o la lluvia. Los líquenes suelen localizarse en las superficies donde no crecen otros organismos, y su éxito en la colonización de dichos ambientes se deben a las relaciones mutualistas.

Estructura y ecología de los líquenes

Los líquenes consisten en una asociación estrecha de células fúngicas en las que se embeben las células del fotótrofo (**Figura 24.36**). La forma del liquen viene determinada principalmente por el hongo (muchos hongos

(a)

(b)

Figura 24.35 **Líquenes.** *(a)* Crecimiento de un líquen sobre una rama de un árbol muerto. *(b)* Líquenes cubriendo la superficie de una gran roca.

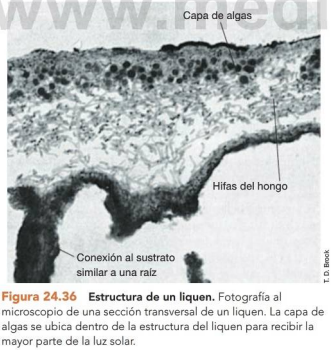


Figura 24.36 **Estructura de un líquen.** Fotografía al microscopio de una sección transversal de un líquen. La capa de algas se ubica dentro de la estructura del líquen para recibir la mayor parte de la luz solar.

pueden formar líquenes), mientras que la diversidad de los tipos de fotótrofos es mucho menor (muchos líquenes diferentes tienen el mismo fotótrofo). Los líquenes que contienen cianobacterias suelen portar especies fijadoras de N2, como *Anabaena* o *Nostoc*. Las células fotótrofas se encuentran normalmente en capas definidas o en agrupaciones en el interior de la estructura del liquen (Figura 24.36).

El hongo se beneficia claramente de la asociación con el alga, pero habría que preguntarse cuál es el beneficio que obtiene el fotótrofo. Los ácidos liquénicos con compuestos orgánicos complejos que excreta el hongo y estimulan la disolución y quelación de los nutrientes inorgánicos que necesita el fotótrofo. Otra función del hongo es la de proteger al fotótrofo de la desecación: la mayoría de los hábitats en los que viven los líquenes son secos (roca, suelo desnudo, tejados) y, en general, los hongos toleran mucho mejor las condiciones secas que las algas. De hecho, el hongo facilita la captación de agua para el fotótrofo.

Los líquenes crecen muy lentamente. Por ejemplo, un liquen de 2 cm de diámetro que crezca sobre la superficie de una roca debe tener varios años. Su crecimiento varía de 1 mm o menos al año hasta 3 cm/año, según los organismos que forman la simbiosis y la cantidad de lluvia y sol que reciban.

Micorrizas

Las **micorrizas** son asociaciones mutualistas de raíces de plantas y hongos y hay dos clases. En las *ectomicorrizas*, las células del hongo forman una enorme vaina por fuera de la raíz, con una ligera penetración de las hifas hacia el interior del tejido radical (**Figura 24.37**). En las *endomicorrizas*, el micelio del hongo se encuentra firmemente embebido dentro del tejido radical.

Las ectomicorrizas se encuentran principalmente en los árboles que forman bosques, especialmente las coníferas, hayas y robles, y están más desarrolladas en los bosques boreales y de zonas templadas. En tales bosques, casi todas las raíces de los árboles contienen micorrizas. El sistema radical de un árbol con micorrizas como el pino (género *Pinus*) está compuesto por raíces largas y cortas. Las cortas, que son típicas de las ramificaciones dicotómicas de los *Pinus* (Figura 24.37*a*), muestran la colonización fúngica típica, y las raíces largas también aparecen colonizadas a menudo. Las endomicorrizas son todavía más frecuentes que las ectomicorrizas. Las micorrizas arbustivas, un tipo de endomicorriza, se encuentran en las raíces de más del 80% de las plantas terrestres examinadas hasta ahora.

La mayoría de los hongos de las micorrizas no catabolizan la celulosa ni otros polímeros de la descomposición de las hojas, sino que catabolizan los glúcidos simples y tienen uno o más requerimientos vitamínicos. Obtienen el carbono de las secreciones radicales y consiguen los minerales inorgánicos del suelo. Los hongos de las micorrizas rara vez se encuentran en la naturaleza si no es asociados a las raíces, y muchos son probablemente simbiontes estrictos. Producen sustancias para el crecimiento de la planta que inducen cambios morfológicos en las raíces y estimulan la formación de las micorrizas. Sin embargo, a pesar de la estrecha relación que mantienen el hongo y la planta, una única especie de pino establece micorrizas con más de 40 especies de hongos.

www.medilib.com

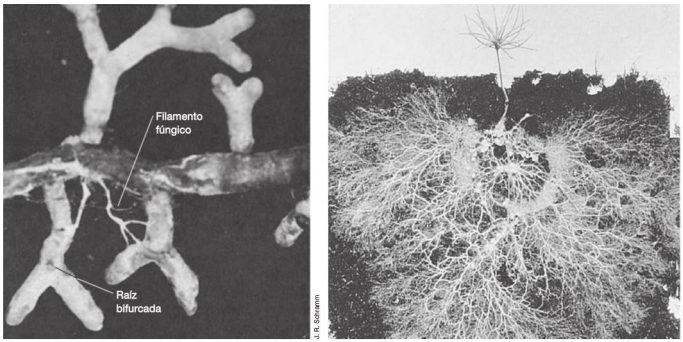


Figura 24.37 **Micorrizas.** *(a)* Típica ectomicorriza de la raíz del pino, *Pinus rigida*, con filamentos del hongo *Thelophora terrestris*. *(b)* Plántula de *Pinus contorta* que muestra un extenso desarrollo del micelio de absorción de su socio fúngico *Suillus bovinus*. Este crecimiento en forma de abanico a partir de las raíces con ectomicorrizas permite la captura de los nutrientes del suelo. La plántula tiene unos 12 cm de altura.

www.medilibros.com

El efecto beneficioso del hongo de las micorrizas sobre la planta se observa mejor en los suelos pobres, donde los árboles con micorrizas prosperan, a diferencia de los que no las tienen. Por ejemplo, cuando se plantan árboles en las praderas, que suelen carecer del inóculo fúngico adecuado, los árboles que se inocularon artificialmente cuando se plantaron crecieron mucho más rápido que los árboles sin inocular (**Figura 24.38**). Las plantas con micorrizas absorben los nutrientes del ambiente con más eficacia, por lo que tienen una ventaja competitiva. Esta mejor absorción de nutrientes se debe a la mayor superficie que proporciona el micelio del hongo. Por ejemplo, en la plántula de pino mostrada en la Figura 24.37*b*, el micelio fúngico de las ectomicorrizas proporciona casi toda la capacidad de absorción del sistema radicular de la planta.

Además de ayudar a las plantas a absorber nutrientes, las micorrizas también desempeñan una función importante a la hora de mantener la diversidad vegetal. Los experimentos de campo han mostrado claramente una correlación positiva entre la abundancia y la diversidad de las micorrizas en un suelo y el grado de diversidad vegetal que se desarrolla en él. De esta forma, las micorrizas son una simbiosis mutualista verdadera: la planta con micorrizas mejora su función fisiológica y compite con éxito en una comunidad vegetal con muchas especies, mientras que el hongo se beneficia de de un aporte constante de nutrientes orgánicos.

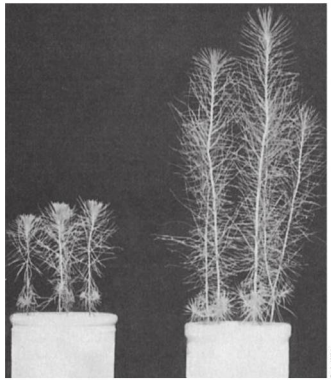


Figura 24.38 **Efecto de los hongos de las micorrizas sobre el crecimiento de la planta.** Plántulas de seis meses de pino Monterrey (*Pinus radiata*) crecidas en macetas con suelo de pradera. Izquierda: sin micorrizas. Derecha: con micorrizas.

24.13 Minirrevisión

Los líquenes son una asociación simbiótica entre un hongo y un fotótrofo oxigénico. Las micorrizas son hongos que se asocian a las raíces de las plantas y mejoran su capacidad para absorber nutrientes. Las micorrizas tienen un efecto muy beneficioso para la salud vegetal y su competitividad.

- ¿En qué se diferencian las endomicorrizas de las ectomicorrizas?
- ¿Por qué la asociación de micorrizas con las planas se consiera un tipo de simbiosis?

24.14 Tumoración por *Agrobacterium*

Algunos microorganismos desarrollan simbiosis patógenas con las plantas. El género *Agrobacterium*, muy relacionado con la bacteria formadora de nódulos en las raíces, *Rhizobium*, contiene organismos que provocan la formación de crecimientos tumorales en distintas plantas. Las dos especies de *Agrobacterium* que se han estudiado con más detalle son *Agrobacterium tumefaciens*, que causa las *agallas de corona* y *Agrobacterium rhizogenes*, que causa las *raíces pilosas*.

Figura 24.39 Agallas de corona. Fotografía de una agalla tumoral (flecha) en la planta de tabaco provocado por la bacteria generadora de agallas de corona *Agrobacterium tumefaciens*. La enfermedad normalmente no mata la planta, pero la puede debilitar y hacerla más susceptible a la sequía y otras enfermedades.

www.medilibros.com

El plásmido Ti

Aunque las plantas a menudo forman acumulaciones benignas de tejido denominadas *callosidades* cuando se ha producido una herida, el caso de la agalla del tallo (**Figura 24.39**) es diferente porque el crecimiento es incontrolado y recuerda al de los tumores animales. Las células de *A. tumefaciens* inducen la formación de tumores sólo cuando contiene el **plásmido Ti** (inductor de *t*umores) (**Figura 24.40**). En *A. rhizogenes* se necesita un plásmido parecido para la inducción de la enfermedad de las raíces pilosas, que se denomina *plásmido Ri*.

Tras la infección, una parte del plásmido Ti denominada el *DNA de transferencia (T-DNA)* se integra en el genoma de la planta. El T-DNA es el portador de los genes para la formación del tumor, y también para la producción de diferentes aminoácidos modificados denominados *opinas*. La octopina [N^2-(1,3-dicarboxietil)-L-arginina] y la nopalina [N^2-(1,3-dicarboxipropil)-L-arginina] son las dos opinas más habituales. Las opinas las producen las células de la planta transformadas por el T-DNA y son una fuente de carbono y nitrógeno, y a veces fosfato, para las células de *Agrobacterium*. Estos nutrientes son la parte beneficiosa de la simbiosis para la bacteria.

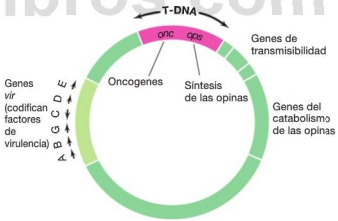


Figura 24.40 Estructura del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens*. El T-DNA es la región que se transfiere a la planta. Las flechas indican la dirección de la transcripción de cada gen. El plásmido Ti completo tiene unas 200 kpb de DNA, y el T-DNA es de unas 20 kpb.

Reconocimiento y transferencia del T-DNA

Para iniciar el estado tumoral, las células de *Agrobacterium* deben adherirse primero a alguna herida existente en la planta, aunque se sabe poco de si se necesita alguna especificidad. No obstante, tras la adhesión, la bacteria sintetiza microfibrillas de celulosa que le ayudan a anclarse al lugar de la herida y formar agregados bacterianos sobre la superficie de la planta. Con esto se permite la transferencia del plásmido desde la bacteria a la planta.

La estructura general del plásmido Ti se muestra en la Figura 24.40. Aunque se necesitan bastantes genes

para la infectividad, sólo se transmite a la planta una pequeña región del plásmido Ti, el *T-DNA*, que contiene los genes que inducen la tumoración. Los genes *vir* del plásmido Ti codifican proteínas que son esenciales para la transferencia del T-DNA. La transcripción de los *vir* está inducida por los metabolitos sintetizados por los tejidos heridos de la planta. Como ejemplos de inductores se pueden citar los compuestos fenólicos acetosiringona, ácido *p*-hidroxibenzoico y vanilina. Los genes de transmisibilidad del plásmido Ti (Figura 24.40) permiten que el plásmido se transfiera por conjugación entre las células bacterianas.

Los genes *vir* son la clave para la transferencia del T-DNA. El gen *virA* codifica una proteína-quinasa (VirA) que interacciona con moléculas inductoras y luego fosforila el producto del gen *virG* (**Figura 24.41**), que se activa con la fosforilación y activa otros genes *vir*. El producto del gen *virD* (VirD) tiene actividad endonucleasa y mella el DNA del plásmido Ti en una región adyacente al T-DNA. El producto del gen *virE* es una proteína de unión al DNA monocatenario que se genera del T-DNA por la acción de la endonucleasa, y transporta este pequeño fragmento de DNA hacia la célula de la planta. VirB, que se localiza en la membrana citoplasmática de la bacteria, interviene en la transferencia del ADN monocatenario entre la bacteria y la planta, de manera que el transporte del T-DNA desde la bacteria a la planta (Figura 24.41) se parece a la conjugación bacteriana (Sección 11.12).

A continuación, el T-DNA se inserta en el genoma de la planta. Los genes oncogénicos (*onc*) del plásmido Ti (Figura 24.40) codifican enzimas para la producción de hormonas vegetales y al menos una enzima clave de la biosíntesis de la opina. La expresión de estos genes conduce a la formación del tumor y la síntesis de opinas. El plásmido Ri que ocasiona la enfermedad de las raíces pilosas también contiene genes *onc*. No obstante, en este caso, los genes confieren a la planta una mayor respuesta a la auxina, que lleva a la sobreproducción del tejido radical, lo que causa los síntomas de la enfermedad. El plásmido Ri también codifica varias enzimas de la biosíntesis de las opinas.

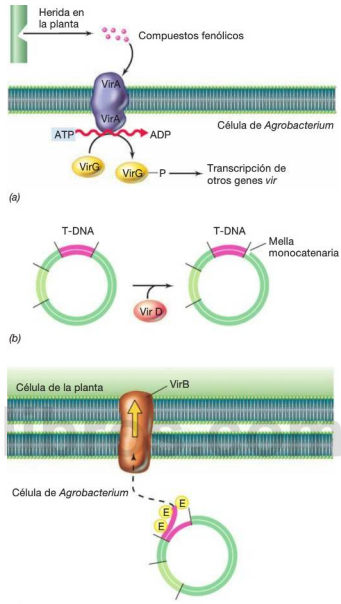


Figura 24.41 Mecanismo por el que *Agrobacterium tumefaciens* transfiere el T-DNA a la célula de la planta. *(a)* VirA activa a VirG por fosforilación, y VirG activa la transcripción de otros genes *vir*. *(b)* VirD es una endonucleasa. *(c)* VirB funciona como un puente de conjugación entre la célula de *Agrobacterium* y la célula de la planta, y VirE es una proteína de unión al DNA monocatenario que ayuda a transferir el T-DNA. La DNA-polimerasa de la planta produce la cadena complementaria de la molécula de T-DNA transferida.

Ingeniería genética con el plásmido Ti

Desde el punto de vista de la microbiología y de la patología vegetal, tanto en las agallas del tallo como en las raíces pilosas existe una interacción estrecha entre la planta y la bacteria que conducen al intercambio genético desde la bacteria a la planta, esto es, Ti es el sistema natural de transformación de plantas. De esta forma, en los últimos años el interés del estudio de las agallas del tallo ha dejado de interesar por la enfermedad y se ha pasado a aplicar este proceso natural de intercambio genético en la biotecnología vegetal.

Mediante manipulación genética se han desarrollado varios plásmidos Ti que carecen de los genes que provocan la enfermedad, pero que todavía son capaces de transferir el DNA a las plantas, y se han utilizado para la construcción de plantas modificadas genéticamente (transgénicos). Hasta ahora se han construido muchos transgénicos, incluidas plantas de cultivo que resisten a los herbicidas, ataque de los insectos y la sequía. Se tratará la utilización del plásmido Ti como vector para la biotecnología vegetal en la Sección 26.10

24.14 Minirrevisión

La bacteria *Agrobacterium* provoca tumores porque mantiene una relación especial con las plantas. Parte del plásmido de la bacteria (el plásmido Ti) se transfiere al genoma de la planta, lo que inicia la formación del tumor. El plásmido Ti también se ha utilizado para modificar por ingeniería genética las plantas de interés agrícola.

- ¿Qué son las opinas y para se se sintetizan?
- ¿En qué se diferencian los genes vir del T-DNA en el plásmido Ti?
- ¿Cómo se ha beneficiado el conocimiento de la biología molecular de las plantas del conocimiento de la enfermedad de las agallas del tallo?

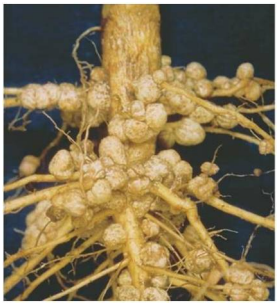


Figura 24.42 Nódulos radicales de la soja. Los nódulos se desarrollan por la infección de *Bradyrhizobium japonicum*. El tallo principal de esta planta de soja es de unos 0,5 cm de diámetro.

24.15 La simbiosis en los nódulos radicales de las leguminosas

Uno de los mutualismos más importantes entre bacterias y plantas se da entre las leguminosas y las bacterias fijadoras de nitrógeno. Las leguminosas son plantas que tienen las semillas dentro de una vaina y son la tercera familia más grande de las plantas con flores. Este gran grupo incluye especies de gran importancia en la agricultura como la soja, el trébol, la alfalfa, las judías y los guisantes. Se trata de plantas clave para la industria agroalimentaria, y la capacidad que tienen las leguminosas de crecer sin fertilización nitrogenada ahorra millones de euros al año en fertilizantes a los granjeros.

Rhizobium, Bradyrhizobium, Sinorhizobium, Mesorhizobium, Azorhizobium y *Photorhizobium* son géneros de alphaproteobacteria gramnegativas que crecen en el suelo o pueden infectar plantas leguminosas y establecer una relación simbiótica, y reciben el nombre colectivo de *rizobios*. La infección de las raíces de una legumbre con estas bacterias conduce a la formación de **nódulos radicales** (**Figura 24.42**) que fijan nitrógeno (Sección 20.14). La fijación de nitrógeno en los nódulos radicales tiene una importancia agrícola enorme porque conduce a un aumento significativo del nitrógeno combinado en el suelo. Como los suelos desnudos sin fertilizar son habitualmente deficitarios de nitrógeno, las legumbres con nódulos crecen bien en las zonas donde otras plantas crecerían mal (**Figura 24.43**).

Figura 24.43 Efecto de la nodulación en el crecimiento de la planta. Plantación de soja sin nódulos (izquierda) y con nódulos (derecha) creciendo en un suelo pobre en nitrógeno.

Leghemoglobina y grupos de inoculación cruzada

En ausencia de la bacteria simbiótica adecuada, una leguminosa no puede fijar nitrógeno. En un cultivo axénico, los rizobios tampoco son capaces de fijar el nitrógeno por sí solos cuando se cultivan en condiciones microaerófilas. Los rizobios necesitan algo de O_2 para generar energía para la fijación del N_2, pero sus nitrogenasas, como las de otros organismos fijadores de nitrógeno, se inactivan con el O_2. En el nódulo se controla la cantidad precisa de O_2 mediante la proteína de unión al O_2 **leghemoglobina**, que es una proteína con hierro presente en los nódulos sanos que fijan nitrógeno (**Figura 24.44**) que se induce por la interacción del hospedador vegetal y el simbionte bacteriano. La leghemoglobina funciona como un «tampón de oxígeno» cuyo ciclo va de la forma oxidada del hierro (Fe^{3+}) a la reducida (Fe^{2+}) para mantener baja la concentración de O_2 libre en el interior del nódulo. En el interior del nódulo, la proporción entre el O_2 unido a la leghemoglobina y el O_2 libre es del orden de 10.000:1

Figura 24.44 **Estructura del nódulo de la raíz**. Secciones de los nódulos radicales de la leguminosas *Coronilla varia* en las que se muestran el pigmento rojizo leghemoglobina.

Existe una notable especificidad entre las especies de leguminosa y de rizobio a la hora de establecer la asociación simbiótica. Cada especie de rizobio es capaz de infectar unas determinadas especies de leguminosas, pero no otras. Un grupo de leguminosas próximas que se pueden infectar por una especie particular de rizobio se denomina un *grupo de inoculación cruzada* (**Tabla 24.7**). Por ejemplo, está el grupo del trébol, el grupo de la judía, el grupo de la alfalfa, etc. Si se utiliza la cepa adecuada, se obtendrán nódulos radicales fijadores de nitrógeno ricos en leghemoglobina.

Etapas en la formación de los nódulos radicales

Se conoce bastante bien la forma en la que se establecen los nódulos radicales (**Figura 24.45**). Las etapas son las siguientes:

1. Reconocimiento del socio adecuado por ambas partes y adhesión de la bacteria a los pelos radicales.

Figura 24.45 **Etapas de la formación de un nódulo radical en una leguminosa infectada por *Rhizobium***. La formación de los bacteroides es imprescindible para la fijación del nitrógeno.

Tabla 24.7 **Principales grupos de inoculación cruzada de las plantas leguminosas**

Planta hospedadora	*Nódulos producidos por*
Guisante	*Rhizobium leguminosarum biovar viciae*[a]
Judía	*Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli*[a]
Judía	*Rhizobium tropici*
Loto	*Mesorhizobium loti*
Trébol	*Rhizobium leguminosarum biovar trifolii*[a]
Alfalfa	*Sinorhizobium meliloti*
Soja	*Bradyrhizobium japonicum*
Soja	*Bradyrhizobium elkanii*
Soja	*Sinorhizobium fredii*
Sesbania rostrata (leguminosa tropical)	*Azorhizobium caulinodans*

[a] Existen numerosas variedades (biovares) de *Rhizobium leguminosarum*, cada una capaz de inducir nodulación en una leguminosa diferente.

2. Excreción de los factores nod por la bacteria
3. Invasión bacteriana del pelo radical
4. Desplazamiento hacia la raíz principal a través del tubo de infección.
5. Formación de células bacterianas modificadas, llamadas bacteroides, dentro de las células de la planta y desarrollo del estado fijador de nitrógeno.
6. División continua de las células vegetales y bacterianas para formar el nódulo radical maduro.

Adhesión e infección

Las raíces de las leguminosas secretan distintos compuestos orgánicos que estimulan el crecimiento de una

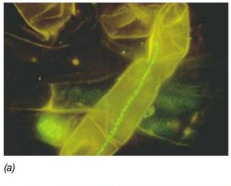
microbiota variada en la rizosfera. Si están en el suelo los rizobios del grupo correcto de inoculación cruzada, se formarán grandes poblaciones y finalmente se adherirán a los pelos radicales que surgen de las raíces de la planta (Figura 24.45). En la superficie de los rizobios se encuentra una proteína específica de adhesión denominada *ricadhesina*. También desempeñan una función importante en la adhesión entre la planta y la bacteria otras sustancias como las glucoproteínas llamadas *lectinas* y receptores específicos de la membrana citoplasmática de la planta.

Si se produce la adhesión, las células del rizobio penetran en los pelos radicales. Tras la unión inicial de la bacteria al pelo radical, éste se riza por las sustancias excretadas por la bacteria, después de lo cual, la bacteria penetra en el pelo radical e induce la formación del tubo de celulosa en la planta, que se denomina **tubo de infección** (Figura 24.45 y *véase* la Figura 24.46*a*), que desciende por el pelo radical. A continuación, la infección del rizobio alcanza las células adyacentes al pelo radical y comienza la división de las células de la planta, que da lugar a la formación de un nódulo parecido a un tumor (**Figura 24.46**; Figuras 24.42 y 24.44).

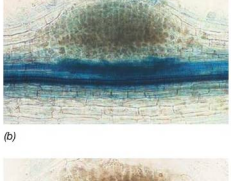
Bacteroides

Los rizobios se multiplican rápidamente dentro de las células de la planta y se transforman en unas células hinchadas, deformes y ramificadas que se denominan **bacteroides**. Éstos quedan rodeados por porciones de la membrana de la célula vegetal y forman una estructura denominada *simbiosoma* (Figura 24.26*e*), y la fijación del nitrógeno sólo comienza una vez que se ha formado el simbiosoma. Los nódulos que fijan nitrógeno se pueden detectar por la reducción del acetileno a etileno (Figura 20.39).

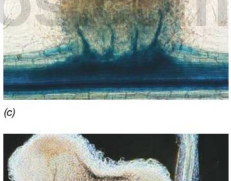
Cuando la planta muere, el nódulo se deteriora y libera las bacterias al suelo. Los bacteroides son incapaces de dividirse, pero en el nódulo siempre queda un pequeño número de células durmientes del rizobio que ahora proliferan utilizando como nutrientes algunos de los productos del nódulo degradado. Entonces, las bacterias iniciarán la infección la próxima estación o se mantendrán en estado libre en el suelo.



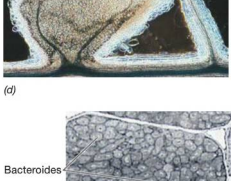
(a)



(b)



(c)



(d)

(e)

Figura 24.46 Tubo de infección y formación de los nódulos radicales. *(a)* Las células de *Rhizobium leguminosarum* biovar *trifolii* han formado un tubo de infección en los pelos radicales del trébol blanco (*Trifolium repens*). El tubo de infección consiste en un tubo de celulosa por el que las bacterias se desplazan hacia las células de la raíz. *(b-d)* Nódulos de las raíces de la alfalfa infectados con las células de *Sinorhizobium meliloti* en diferentes estados de desarrollo. Tanto las células de *R. leguminosarum* como las de *S. meliloti* miden unos 2 μm de largo. La evolución de la nodulación desde la infección hasta la formación de nódulos funcionales tarda un mes en la soja y en la alfalfa. *(e)* Sección transversal de un nódulo radical del trébol blanco que muestra el bacteroide de *R. leguminosarum* biovar *trifolii* en el simbiosoma. Los bacteroides miden unos 2 μm de largo. Las fotos *b-d* se han reproducido con autorización de *Nature* 351:670-673 (1991), © Macmillan Magazines Lt.

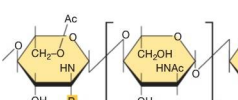
www.libros.com

Formación del nódulo: genes nod, proteínas nod y factores nod

Los genes bacterianos que dirigen las etapas de la nodulación en una leguminosa se denominan *genes nod*. En *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* se han identificado 10 genes *nod*. Los genes *nodABC* codifican proteínas que producen oligosacáridos denominados **factores nod**, que inducen el rizo del pelo radical y desencadenan la división de las células vegetales para formar finalmente el nódulo.

Los factores nod consisten en un esqueleto de *N*-acetilglucosamina al que se unen distintos sustituyentes (**Figura 24.47**). La especificidad del hospedador viene en parte determinada por la estructura del factor nod sintetizado por una especie determinada de *Rhizobium*. Además de los genes *nodABC*, que son universales y cuyos productos sintetizan el esqueleto del factor nod, cada grupo de inoculación cruzada contiene genes nod que codifican proteínas que modifican químicamente el esqueleto del factor nod para formar un factor nod específico de especie (Figura 24.47).

En *R. leguminosarum* biovar *viciae*, *nodD* codifica la proteína reguladora NodD que controla la transcripción y otros genes *nod*. Después de interaccionar con las moléculas inductoras, NodD promueve la transcripción y se convierte en un tipo de proteína reguladora positiva (Sección 9.4). Los inductores de NodD son los flavonoides vegetales, moléculas orgánicas de amplia distribución que excretan las plantas (Figura 24.8). Resulta interesante que algunos flavonoides cuya estructura se parece a la de los inductores de *nodD* en *R. leguminosarum* biovar *viciae* inhiben la inducción de los genes *nod* en otras especies de rizobios (**Figura 24.48**). Esto indica que parte de la especificidad observada entre la planta y la bacteria en la simbiosis entre las leguminosas y *Rhizobium* reside en la química de los flavonoides excretados en cada especie de legumbre.



(a)

Especie	R_1	R_2
Sinorhizobium meliloti	C16:2 o C16:3	SO_4^{2-}
Rhizobium leguminosarum biovar *viciae*	C18:1 o C18:4	H o Ac

(b)

Figura 24.47 **Factores Nod** *(a)* Estructura general de los factores nod producidos por *Sinorhizobium meliloti* y *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* y *(b)* una tabla con las diferencias estructurales (R_1, R_2) que definen el factor nod concreto de cada especie. La unidad central de hexosa se puede repetir hasta tres veces. C16:2: ácido palmítico con dos dobles enlaces; C16:3: ácido palmítico con tres dobles enlaces; C18:1; acido oleico con un doble enlace; C18:4: ácido oleico con cuatro dobles enlaces; Ac: acetilo.

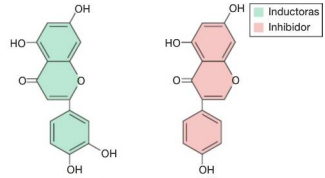


Figura 24.48 **Flavonoides vegetales y nodulación.** Estructura de moléculas de flavonoides que son *(a)* inductoras de la expresión de los genes *nod* y *(b)* inhibidoras de la expresión de los genes *nod* en *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*, la especie que forma nódulos en los guisantes. Obsérvese la similitud entre las estructuras de las dos moléculas. El nombre común de la estructura mostrada en *(a)* es *luteolina* y es un derivado flavónico. La estructura en *(b)* se llama *genisteína* y es un derivado isoflavónico.

Bioquímica de los nódulos radicales

Como se trató en la Sección 20.14, la fijación del nitrógeno requiere que haya nitrogenasa. La nitrogenasa de los bacteroides tiene las mismas propiedades bioquímicas que la enzima de las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre, como la sensibilidad al O_2 y la capacidad de reducir acetileno y N_2. Los bacteroides dependen de la planta para obtener el donador de electrones para la fijación de N_2. Los compuestos orgánicos que se transportan principalmente a través de la membrana del simbiosoma son los intermediarios del ciclo del ácido cítrico, en concreto los ácidos orgánicos C_4 *succinato, malato* y *fumarato* (**Figura 24.49**). Estos ácidos se utilizan como donadores de electrones para sintetizar ATP y, después de convertirse en piruvato, como la fuente final de electrones para la reducción de N_2 (Figura 20.36).

El producto d la fijación del N_2 es el amoníaco, cuya mayor parte se asimila en la planta para formar los compuestos nitrogenados orgánicos. La enzima asimiladora de amonio glutamina-sintetasa se encuentra en gran cantidad en el citoplasma de la célula vegetal y convierte el glutamato y el amoníaco en glutamina (Figura 5.26*b*). Este y algunos compuestos nitrogenados orgánicos más transportan el nitrógeno fijado por la planta. **www.microbiologyplace.com. Tutorial online 24.1: bacterias de los nódulos radicales y simbiosis con las leguminosas.**

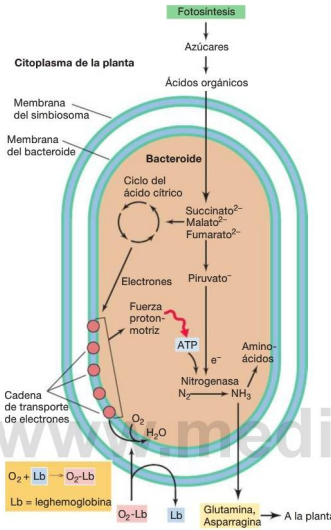


Figura 24.49 **El bacteroide del nódulo radical.** Esquema de las principales reacciones metabólicas e intercambio de nutrientes que tienen lugar en el bacteroide. El simbiosoma consiste en una colección de bacteroides rodeados por una membrana simple que se origina de la planta (Figura 24.46e).

Rizobios formadores de nódulos en el tallo

Aunque la mayoría de las leguminosas forman nódulos fijadores de nitrógeno en las *raíces*, algunas especies los portan en los *tallos*. Se trata de plantas que abundan en las regiones tropicales, en las que los suelos son a menudo pobres en nitrógeno debido a la lixiviación y a la intensa actividad biológica. El sistema mejor estudiado es la leguminosa acuática tropical *Sesbania*, en la que forma nódulos la bacteria *Azorhizobium caulinodans* (**Figura 24.50**). Los nódulos del tallo se forman por lo general en la parte sumergida de los tallos o justo por encima del nivel del agua (Figura 24.50). La secuencia general de etapas para formar este tipo de nódulos en *Sesbania* se parece a la de los nódulos radicales: adhesión, formación de un tubo de infección y formación de bacteroides.

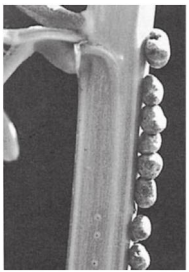


Figura 24.50 **Nódulos del tallo causados por *Azorhizobium*.** La fotografía muestra el tallo de la leguminosa tropical *Sesbania rostrata*. A la izquierda del tallo aparecen lugares sin inocular y a la derecha los sitios inoculados con los rizobios formadores de nódulos en el tallo.

Algunos de los rizobios que forman nódulos en los tallos producen bacterioclorofila *a* y pueden realizar una fotosíntesis anoxigénica (Sección 20.4). Los rizobios que contienen bacterioclorofila se agrupan en el género *Photorhizobium* y se distribuyen abundantemente por la naturaleza, en particular asociados a las leguminosas tropicales, en las cuales la luz aportaría al menos una parte de la energía necesaria para el proceso de fijación de N_2.

Simbiosis fijadora de nitrógeno en plantas no leguminosas: *Azolla-Anabaena y Frankia*

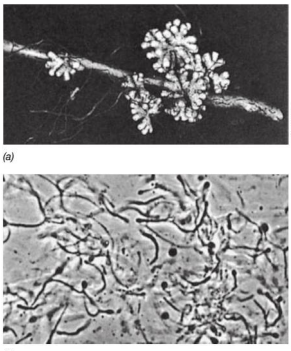
Existen plantas no leguminosas que forman simbiosis fijadoras de nitrógeno con bacterias que no son rizobios. Por ejemplo, el helecho acuático *Azolla* contiene, dentro de pequeños poros de sus frondas, una cianobacteria con heteroquistes fijadora de N_2 denominada *Anabaena azollae* (**Figura 24.51**). El helecho *Azolla* se ha utilizado durante siglos para enriquecer los arrozales con nitrógeno fijado. Antes de plantar el arroz, los agricultores dejan que *Azolla* crezca en los arrozales hasta formar una abundante capa vegetal. A medida que el arroz crece, va desplazando a *Azolla*, lo que acaba con la muerte del helecho y la liberación del nitrógeno, que asimilan entonces las plantas de arroz. Al repetir este proceso con cada cosecha, el agricultor consigue un gran rendimiento de arroz sin tener que aplicar abonos nitrogenados.

El aliso (género *Alnus*) posee nódulos radicales fijadores de nitrógeno (**Figura 24.52a**) que contienen un organismo filamentosos fijador de nitrógeno y similar a los estreptomicetos que se denomina *Frankia*. Aunque en los extractos celulares, la nitrogenasa de *Frankia* es sensible

www.medil

(a) (b)

Figura 24.51 **Simbiosis entre *Azolla* y *Anabaena*.** *(a)* Asociación intacta que muestra una sola planta de *Azolla pinnata*. El diámetro de la planta es de aproximadamente 1 cm. *(b)* La cianobacteria simbionte *Anabaena azollae* tal como se observa en las hojas trituradas de *A. pinnata*. Las células individuales de *A. azollae* tienen una anchura de unos 5 μm. Obsérvense los heteroquistes de forma esférica (de color más claro) en los que se produce la fijación del nitrógeno en la cianobacteria.



(a) (b)

Figura 24.52 **Nódulos y células de *Frankia*.** *(a)* Nódulos radicales del aliso común *Alnus glutinosa*. *(b)* Cultivo de *Frankia* purificado de los nódulos de *Comptonia peregrina*. Obsérvense las vesículas (estructuras esféricas negras) en las puntas de los filamentos de hifas.

al oxígeno molecular, como las células de *Azotobacter*, pero sus células la protegen del O_2 situando la enzima en un extremo hinchado de las células, que se conoce como *vesículas* (Figura 24.52*b*). Las vesículas contienen paredes gruesas que dificultan la difusión del O_2, con lo que se mantiene la tensión de O_2 en su interior a niveles compatibles con la actividad de la nitrogenasa. En este sentido, las vesículas de *Frankia* se parecen a los heteroquistes producidos por algunas cianobacterias filamentosas porque son sitios localizados de fijación de N_2 (Sección 16.7).

El aliso es un pionero característico capaz de colonizar los suelos pobres en nutrientes, probablemente por su capacidad para establecer relaciones simbióticas con *Frankia* para fijar nitrógeno. *Frankia* también forma nódulos con algunas otras plantas leñosas pequeñas o arbustivas. Sin embargo, a diferencia de la simbiosis entre *Rhizobium* y las leguminosas, una única cepa de *Frankia* forma nódulos en varias especies distintas de plantas, lo que indica que la simbiosis de *Frankia* con los nódulos radicales es menos específica que la de las plantas leguminosas.

libros.com

24.15 Minirrevisión

Una de las simbiosis entre plantas y microorganismos más importante para la agricultura es la existente entre las leguminosas y algunas bacterias fijadoras de nitrógeno. Las bacterias inducen la formación de nódulos radicales, en cuyo interior se produce la fijación del nitrógeno. La planta proporciona la fuente de energía para la bacteria del nódulo radical, y la bacteria le aporta compuestos nitrogenados. Otras simbiosis fijadoras de nitrógeno incluyen la que existe entre el helecho acuático *Azolla* y la formadora de nódulos *Frankia*.

- ¿Qué es la leghemoglobina y cuál es su función?
- ¿Qué es un bacteroide y que ocurre en su interior?
- ¿En qué se parecen y se distinguen principalmente *Rhizobium* y *Frankia*?

Glosario de términos

Ácidos grasos volátiles (AGV): la mayoría de los ácidos grasos (acetato, propionato y butirato) que se producen durante la fermentación en el rumen.

Bacteroide: células deformes de los rizobios en el interior de un nódulo radical de una planta leguminosa; puede fijar N_2.

Biopolímero: materiales poliméricos que contienen sustancias producidas biológicamente (y, por tanto, biodegradables).

Biorremediación: limpieza de petróleo, compuestos químicos tóxicos y otros contaminantes mediante la utilización de microorganismos.

Chimenea negra: fuente hidrotermal submarina muy caliente (250-350 °C) que expulsa tanto agua muy caliente como distintos minerales.

Cometabolismo: metabolismo de un compuesto en presencia de un segundo compuesto orgánico que se utiliza como fuente primaria de energía.

Decloración reductora: eliminación del Cl en forma de Cl^- desde un compuesto orgánico mediante la reducción del átomo de carbono de C-Cl a C-H.

Drenaje ácido de las minas: agua ácida que contiene H_2SO_4 procedente de la oxidación microbiana de minerales de sulfuro de hierro.

Factores Nod: oligosacáridos producidos por las bacterias de los nódulos radicales que ayudan a iniciar la simbiosis entre la planta y la bacteria.

Fuente hidrotermal: emisión submarina caliente o templada.

Humus: materia orgánica muerta.

Leghemoglobina: proteína de los nódulos radicales que se une al O_2.

Liquen: un hongo y un alga (o cianobacteria) que viven en una asociación simbiótica.

Lixiviación microbiana: eliminación de metales valiosos, como el cobre, de las menas de sulfuro causada por la actividad de los microorganismos.

Micorrizas: asociación simbiótica entre un hongo y las raíces de una planta.

Nódulo radical: crecimiento similar a un tumor sobre la raíz de las plantas, que contiene bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno.

Pirita: mineral común que contiene hierro, FeS_2.

Plásmido Ti: plásmido conjugativo presente en la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* que puede transferir genes a las plantas.

Rumen: el primer compartimento del estómago multicompartimentado de los rumiantes en el que se produce a digestión de la celulosa.

Sintrofismo: proceso por el cual dos o más microorganismos cooperan para degradar una sustancia que ninguno de los dos puede degradar por separado.

Tubo de infección: tubo de celulosa a través del cual las células de *Rhizobium* se desplazan para alcanzar e infectar las células de la raíz para la formación de los nódulos radicales.

UNIDAD 4

www.mcgraw-hill.com

Preguntas de repaso

1. ¿Por qué se puede decir que los ciclos del oxígeno y el carbono están interconectados (Sección 24.1)?
2. ¿Cómo pueden organismos como *Syntrophobacter* y *Syntrophomonas* crecer cuando su metabolismo se basa en reacciones desfavorables desde el punto de vista termodinámico? ¿Por qué el cocultivo de estos sintróficos con otras bacterias determinadas les permite crecer (Sección 24.2)?
3. Compare los procesos de nitrificación y desnitrificación en términos de los organismos implicados, las condiciones medioambientales que favorecen cada proceso y los cambios en la disponibilidad de los nutrientes que acompaña cada proceso (Sección 24.3).
4. ¿Qué organismos intervienen en el reciclaje anóxico de los compuestos azufrados? Si los quimiolitótrofos del azufre nunca hubieran existido, ¿existiría algún problema para reciclar los compuestos azufrados? ¿Qué compuestos orgánicos azufrados son interesantes en la naturaleza (Sección 24.4)?
5. ¿Por qué la mayoría de los quimiolitótrofos oxidadores de hierro son aerobios estrictos, y por qué acidófilos (Sección 24.5)?
6. ¿De qué manera es útil *Acidithiobacillus ferrooxidans* en la extracción de las menas de cobre? ¿Qué etapa crucial en su oxidación indirecta realiza *A. ferrooxidans*? ¿Cómo se recupera el cobre de las disoluciones de cobre producidas por la lixiviación (Sección 24.6)?
7. ¿Cómo se destoxifica el mercurio mediante el operón *mer* (Sección 24.7)?
8. ¿Qué condiciones físicas y químicas se necesitan para la biodegradación rápida microbiana del petróleo en los ambientes acuáticos? Diseñe un experimento que permita comprobar las condiciones óptimas para el proceso de oxidación del petróleo (Sección 24.8).
9. ¿Qué son los compuestos xenobióticos y por qué los microorganismos tienen dificultades para catabolizarlos (Sección 24.9)?
10. ¿Qué es el rumen y cómo funcionan los procesos digestivos dentro del tubo digestivo de los rumiantes? ¿Cuáles son las principales ventajas y desventajas del sistema con rumen? ¿Cuáles son los parecidos y diferencias respecto a la digestión en los animales con intestino ciego (Sección 24.10)?

11. ¿Qué indicios procedentes de las fuentes hidrotermales apoyan la idea de que los procariotas crecen a temperaturas muy elevadas (Sección 24.10)?

12. ¿Como se seleccionan los simbiontes bacterianos correctos en la simbiosis entre el calamar y *Aliivibrio* (Sección 24.12)?

13. ¿Cómo consiguen mejorar las micorrizas el crecimiento de los árboles (Sección 24.13)?

14. Compare cómo forma un tumor *Agrobacterium tumefaciens* y un nódulo radical los rizobios. ¿En qué se parecen estas estructuras? ¿En qué difieren? ¿Qué importancia tienen los plásmidos en el desarrollo de ambas estructuras (Secciones 24.14 y 24.15)?

15. Describa las etapas del desarrollo de los nódulos radicales sobre una planta leguminosa. ¿Cuál es la naturaleza del reconocimiento entre la planta y la bacteria? ¿Cómo ayudan los factores nod a controlar el reconocimiento? ¿Cuáles son los parecidos y las diferencias con el reconocimiento del sistema entre plantas y *Agrobacterium* (Sección 24.15)?

Ejercicios prácticos

1. Compare un ecosistema lacustre con una fuente hidrotermal. ¿Cómo llega la energía a cada ecosistema? ¿En qué se basa la producción primaria en cada uno de ellos? ¿Cuáles son las clases nutricionales de los organismos que existen en cada ecosistema, y cómo se alimentan?

2. Se añade celulosa marcada con ^{14}C a un vial que contiene una pequeña cantidad de lodo de aguas residuales y se sella en condiciones anóxicas. Unas horas más tarde, se detecta $^{14}CH_4$ en el vial. Explique lo que ha ocurrido para que se produzca este resultado.

3. Imagine que se ha descubierto un nuevo animal que sólo consume hierba. Se cree que es un rumiante y se dispone de un espécimen para realizar un examen anatómico. Si el animal fuera un rumiante, describa la posición y los componentes básicos del aparato digestivo que esperaría encontrar, así como los microorganismos y sustancias clave que tendría que buscar.

4. El drenaje ácido de las minas es un proceso en parte químico y en parte biológico. Explique las bases químicas y microbiológicas que lo producen y puntualice la(s) reacción(ones) clave de origen biológico. ¿De cuántas maneras se le ocurre que se puede evitar el drenaje ácido de las minas?

www.medilibros.com

25

Microbiología industrial

I LOS MICROORGANISMOS INDUSTRIALES Y LA FORMACIÓN DE PRODUCTOS 812

25.1 Los microorganismos industriales y sus productos **812**

25.2 Metabolitos primarios y secundarios **813**

25.3 Características de las fermentaciones a gran escala **814**

25.4 Escalado de las fermentaciones industriales **816**

II PRODUCTOS PARA LA INDUSTRIA SANITARIA 818

25.5 Aislamiento y caracterización de antibióticos **818**

25.6 La producción industrial de penicilinas y tetraciclinas **821**

25.7 Las vitaminas y los aminoácidos **823**

25.8 Los esteroides y otras biotransformaciones **825**

25.9 Las enzimas como productos industriales **826**

III PRODUCTOS PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA 829

25.10 El vino **829**

25.11 Elaboración de cerveza, bebidas destiladas y alcohol genérico **832**

25.12 El vinagre **836**

25.13 El ácido cítrico y otros compuestos orgánicos **837**

25.14 La levadura como agente de fermentación y como suplemento alimenticio **838**

25.15 Las setas como fuente de alimento **839**

www.medilibros.com

Los antibióticos son productos fundamentales de la microbiología industrial. El descubrimiento de nuevos agentes antimicrobianos comienza con el aislamiento de los microorganismos productores candidatos mediante métodos de cribado a gran escala.

I LOS MICROORGANISMOS INDUSTRIALES Y LA FORMACIÓN DE PRODUCTOS

La **microbiología industrial** utiliza microorganismos, generalmente cultivados a gran escala, para obtener productos comerciales o realizar importantes transformaciones químicas. Los procesos industriales que emplean microorganismos potencian las reacciones metabólicas que éstos pueden realizar por sí mismos, con el objetivo principal de *producir en mayor cantidad* el producto de interés. La microbiología industrial difiere así de la biotecnología microbiana, que discutiremos en el capítulo siguiente. A diferencia de la microbiología industrial, la biotecnología *modifica genéticamente* los microorganismos para que produzcan sustancias que de otro modo no podrían producir.

La microbiología industrial tiene su origen en los procesos de fermentación alcohólica, como los que se utilizan para producir cerveza y vino. Posteriormente, se desarrollaron procesos microbianos para la síntesis de productos farmacéuticos (como los antibióticos), aditivos alimentarios (como los aminoácidos y el vinagre), enzimas, productos químicos (como el alcohol y el ácido cítrico) y células microbianas propiamente dichas. En este capítulo veremos cómo ha conseguido la microbiología industrial que los productos microbianos sean rentables a escala industrial.

25.1 Los microorganismos industriales y sus productos

Los principales microorganismos utilizados en microbiología industrial son los hongos (levaduras y mohos) (*véase* Secciones 18.13-18.19) y algunos procariotas, en particular algunas especies del género *Streptomyces* (*véase* Sección 16.6). Los microorganismos industriales se podrían considerar como especialistas metabólicos capaces de sintetizar uno o más productos con un alto rendimiento. En microbiología industrial, a menudo se seleccionan genéticamente variedades microbianas con un alto rendimiento, con el objetivo de incrementar el rendimiento del producto hasta llegar a realizar un proceso que sea rentable desde un punto de vista económico. Por esta razón, el comportamiento de la cepa de producción puede ser muy diferente del de la cepa de tipo silvestre.

Propiedades de un microorganismo de interés industrial

Un microorganismo que pueda utilizarse en un proceso industrial debe tener otras características aparte de ser capaz de producir la sustancia de interés de forma rentable. En primer lugar, el microorganismo debe ser capaz de crecer y sintetizar el producto en un cultivo a gran escala. Además, es preferible que produzca esporas o alguna forma de célula reproductora, que pueda ser fácilmente inoculada en los grandes recipientes utilizados para cultivar el microorganismo productor a escala industrial. Por otra parte, el microorganismo debe crecer rápidamente y sintetizar el producto deseado en un período relativamente corto de tiempo.

Los microorganismos de interés industrial también tienen que poder crecer en un medio de cultivo líquido relativamente barato que se comercialice a granel. Muchos procesos microbiológicos industriales utilizan productos de desechos carbonados provenientes de otras industrias como ingredientes principales o suplementarios de los medios de cultivo a gran escala. Entre éstos se encuentran el *licor de maceración del maíz* (un producto de la industria de la molienda húmeda del maíz que es rico en nitrógeno y factores de crecimiento) y el *suero de la leche* (un líquido residual de la industria láctea que contiene lactosa y minerales).

Por otra parte, un microorganismo industrial no debe ser patógeno, especialmente para los seres humanos, pero tampoco para animales o plantas que sean importantes desde el punto de vista económico. Debido a la alta densidad celular que se da en los procesos microbianos industriales y a que es prácticamente imposible evitar la contaminación del medio que hay fuera del recipiente de cultivo, la presencia de un patógeno supondría un problema potencialmente desastroso.

Por último, los microorganismos industriales deben ser susceptibles de manipulación genética, porque en microbiología industrial a menudo se incrementa genéticamente el rendimiento mediante mutación y selección. Por tanto, un microorganismo genéticamente estable y fácilmente manipulable presenta claras ventajas de cara a un proceso industrial.

Ejemplos de productos industriales

Los productos microbianos de interés industrial (**Figura 25.1**) comprenden las células microbianas propiamente dichas —por ejemplo, las levaduras cultivadas para ser usadas en alimentación, panadería o en la elaboración de cerveza— y las sustancias producidas por esas células. Un ejemplo de éstas últimas son enzimas como la glucosa isomerasa, importante para la producción de jarabes ricos en fructosa; fármacos activos como los antibióticos, esteroides y alcaloides; productos químicos especializados y aditivos alimentarios como el aspartamo (un edulcorante para alimentos y bebidas); y **productos químicos genéricos** baratos producidos a granel, como el etanol y el ácido cítrico, entre otros.

25.1 Minirrevisión

Un microorganismo industrial debe sintetizar el producto de interés con un alto rendimiento; crecer deprisa en medios de cultivo baratos disponibles a granel; ser susceptible de manipulación genética, y no ser patógeno. Existen numerosos productos industriales,

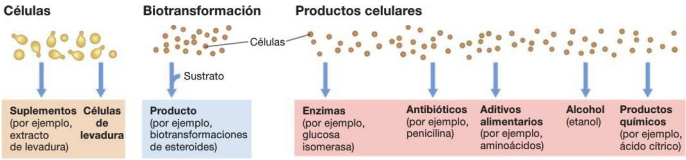


Figura 25.1 **Productos de la microbiología industrial.** Los productos pueden ser las propias células, o bien productos celulares o modificados por las células. Durante la biotransformación, las células hacen pasar a una sustancia específica de una forma a otra.

que incluyen células y sustancias producidas por dichas células.

- ¿Por qué los microorganismos industriales deben ser genéticamente manipulables?
- Cita tres productos importantes de la microbiología industrial.

25.2 Metabolitos primarios y secundarios

En la sección 6.7 se estudia el crecimiento microbiano y se describen sus diferentes fases: *de latencia, exponencial* y *estacionaria*. Aquí describiremos el crecimiento microbiano y la formación de productos en un contexto industrial, y veremos que algunos productos se forman durante la fase de crecimiento exponencial y que otros sólo se forman una vez finalizada dicha fase de crecimiento.

Hay dos tipos de metabolitos microbianos de interés para la microbiología industrial: los primarios y los secundarios. Un **metabolito primario** se forma durante la fase de crecimiento exponencial del microorganismo. Por el contrario, un **metabolito secundario** se forma cuando se avecina el final de la fase exponencial de crecimiento; con frecuencia, muy cerca de o durante la fase estacionaria de crecimiento (**Figura 25.2**).

Un metabolito primario típico es el alcohol. El alcohol etílico es un producto del metabolismo fermentativo de la levadura y de algunas bacterias (*véase* Seccion 5.10), y se forma como una parte del metabolismo energético. Debido a que los microorganismos sólo pueden crecer si producen energía, la formación de etanol tiene lugar de forma paralela al crecimiento (Figura 25.2*a*). Sin embargo, en muchos procesos industriales, el producto no se forma durante la fase exponencial, sino durante la fase estacionaria. Los metabolitos secundarios son algunos de los metabolitos de interés industrial más complejos e importantes (Figura 25.2*b*), y generalmente comparten las siguientes características:

1. Los metabolitos secundarios no son esenciales para el crecimiento ni la reproducción.
2. La formación de metabolitos secundarios depende en gran parte de las condiciones de cultivo; especialmente, de la composición del medio de cultivo. La formación de metabolitos secundarios a menudo se reprime.
3. Los metabolitos secundarios se suelen producir como un grupo de compuestos muy relacionados. Por ejem-

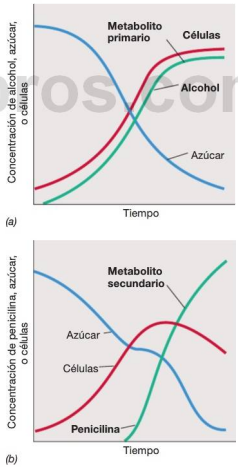


Figura 25.2 **Diferencias entre la producción de metabolitos primarios y secundarios.** *(a)* Formación de alcohol a partir de levadura, un ejemplo de metabolito primario. *(b)* Producción de penicilina por el moho *Penicillium chrysogenum*, un ejemplo de metabolito secundario. Obsérvese que la penicilina no se forma hasta pasada la mitad de la fase exponencial.

www.modulibros.com

plo, una única cepa de una especie de *Streptomyces* puede producir más de 30 antibióticos relacionados, pero químicamente diferentes.

4. Los metabolitos secundarios se suelen superproducir, a veces en enormes cantidades. Por el contrario, los metabolitos primarios, asociados a la energía y el crecimiento, normalmente no se pueden superproducir de forma significativa.
5. Los metabolitos secundarios suelen producirse a partir de microorganismos formadores de esporas durante el proceso de esporulación propiamente dicho. Prácticamente todos los antibióticos, por ejemplo, están producidos por hongos o bien por microorganismos procariotas formadores de esporas.

Rutas del metabolismo primario y secundario

La mayoría de los metabolitos secundarios son moléculas orgánicas complejas cuya síntesis requiere un gran número de reacciones enzimáticas específicas. Por ejemplo, en la síntesis del antibiótico tetraciclina intervienen al menos 72 reacciones enzimáticas distintas (Sección 25.6), mientras que la síntesis de la eritromicina requiere unas 25 reacciones. Ninguna de estas reacciones tiene lugar durante el metabolismo primario. No obstante, las rutas metabólicas de estos metabolitos secundarios provienen del metabolismo primario, porque sus materiales de partida provienen de las principales rutas biosintéticas. La **Figura 25.3** muestra la relación existente entre la principal ruta metabólica primaria para la síntesis de aminoácidos aromáticos (Sección 5.16) y las rutas metabólicas secundarias para la síntesis de algunos antibióticos. Como se puede observar, algunos antibióticos se originan a partir de metabolitos primarios en la ruta biosintética de los aminoácidos (Figura 25.3).

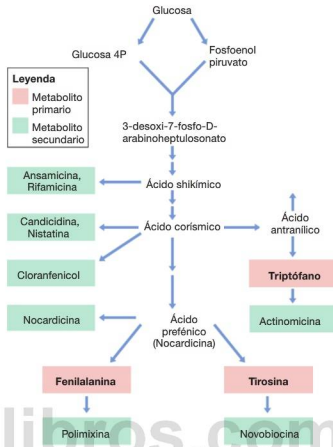


Figura 25.3 Antibióticos aromáticos. Relación entre la ruta metabólica primaria para la síntesis de aminoácidos aromáticos (en color rosa) y la formación de antibióticos de metabolitos secundarios que contienen anillos aromáticos (en color verde). Éste es un esquema compuesto de los procesos que se dan en diversos microorganismos. Ningún microorganismo produce por sí mismo todos estos metabolitos secundarios, y en todos los casos existen numerosos pasos entre el aminoácido y el antibiótico.

25.2 Minirrevisión

Los metabolitos primarios y secundarios se producen durante la fase exponencial de crecimiento de las células y cerca del comienzo de la fase estacionaria, respectivamente. Muchos productos microbianos de gran valor económico son metabolitos secundarios.

- La penicilina, ¿es un metabolito primario o secundario? ¿Por qué?

¿Qué tipo de metabolitos se pueden superproducir más fácilmente: los primarios o los secundarios? ¿Por qué?

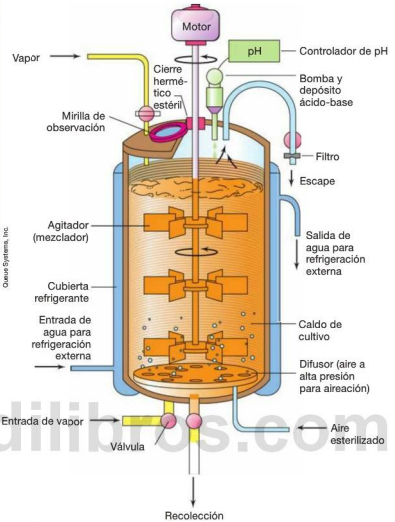
25.3 Características de las fermentaciones a gran escala

El recipiente en el que se lleva a cabo un proceso de microbiología industrial se denomina **fermentador.** En microbiología industrial, el término **fermentación** hace referencia a *cualquier* proceso microbiano a gran escala, sea o no una fermentación en el sentido bioquímico. De hecho, muchas fermentaciones industriales son procesos *aeróbicos*, mientras que una fermentación típica como la glucólisis es un proceso *anaeróbico* (Seccion 5.10). El tamaño de los fermentadores varía desde los pequeños recipientes a escala de laboratorio, con capacidades de 5 a 10 litros, hasta los enormes recipientes a escala industrial con capacidad para 500.000 litros (**Figura 25.4**). El tamaño del fermentador empleado dependerá del proceso y de la manera en que éste se lleve a cabo. La **Tabla 25.1** ofrece una lista de los distintos tamaños de fermentadores utilizados en algunas fermentaciones microbianas comunes.

Los fermentadores industriales se pueden dividir principalmente en dos tipos: los que se emplean en procesos anaeróbicos y los que se utilizan en procesos aeróbicos. Los fermentadores anaeróbicos requieren poco equipamiento especial, y sólo precisan de un mecanismo que

(a)

(c)



(b)

www.medilibros.com

Figura 25.4 **Fermentadores.** *(a)* Un pequeño fermentador para investigación, con capacidad para 5 litros. *(b)* Esquema de un fermentador, donde se pueden observar su estructura y los dispositivos de aireación y control del proceso. *(c)* Interior de un fermentador industrial, en el que se pueden apreciar el agitador y los serpentines internos de refrigeración y calentamiento.

elimine el calor generado durante la fermentación. Sin embargo, los fermentadores aeróbicos requieren un equipo mucho más complejo para garantizar el mezclado y la aireación adecuados. Dado que la mayoría de las fermentaciones industriales son aeróbicas, en esta sección nos centraremos en los fermentadores aeróbicos.

Tabla 25.1 **Tamaños de fermentadores para diversos procesos industriales.**

Tamaño del fermentador (en litros)	*Producto*
1-20.000	Enzimas para diagnóstico, sustancias para biología molecular
40-80.000	Algunas enzimas, antibióticos
100-150.000	Penicilina, antibióticos aminoglucósidos, proteasas, amilasas, transformaciones de esteroides, aminoácidos, vino, cerveza
200.000-500.000	Aminoácidos (ácido glutámico), vino, cerveza

Construcción de un fermentador aeróbico

Los fermentadores a escala industrial generalmente se fabrican de acero inoxidable. Un fermentador de este tipo consiste básicamente en un gran cilindro cerrado por la parte superior y la inferior, dotado de diversas tuberías y válvulas (Figura 25.4*b*). Debido a que la esterilización del medio de cultivo y la eliminación del calor generado son vitales para que la fermentación tenga un resultado satisfactorio, el fermentador posee una cubierta refrigerante externa a través de la cual circula vapor (para la esterilización) o agua (para el enfriamiento). En el caso de los fermentadores de gran tamaño, la cubierta no puede transferir suficiente calor, por lo que se deben instalar serpentines internos a través de los cuales puedan circular el vapor o el agua (Figura 25.4).

Una parte crucial del fermentador es el sistema de aireación. En un equipo a gran escala, la transferencia de oxígeno al medio de cultivo es fundamental, por lo que se deben tomar muchas precauciones para garantizar una aireación adecuada. El oxígeno es poco soluble en agua, y en un fermentador con una elevada densidad de población microbiana, el cultivo requiere una enorme cantidad de oxígeno. Para garantizar una aireación adecuada al cultivo se usan dos mecanismos distintos: un dispositivo de aireación llamado *difusor* y un dispositivo de agitación llamado *agitador* (Figura 25.4*b*).

El difusor generalmente consiste en una serie de agujeros o una tobera a través de los cuales se insufla aire esterilizado por filtración (o aire enriquecido con oxígeno) a alta presión en el fermentador. El aire entra en el fermentador en forma de burbujas diminutas, desde las cuales el oxígeno pasa al medio líquido por difusión. En los fermentadores pequeños se puede garantizar la aireación adecuada usando únicamente un difusor, pero en los fermentadores industriales resulta esencial agitar el contenido del fermentador con un agitador (Figura 25.4*c*). La agitación realiza dos funciones: mezclar las burbujas de gas a través del medio líquido y mezclar el microorganismo en el medio de cultivo, lo cual garantiza un acceso uniforme de las células microbianas a los nutrientes.

Control y seguimiento de la fermentación

Es esencial que los fermentadores industriales estén sometidos a un seguimiento exhaustivo durante el proceso de producción. No sólo es necesario medir el crecimiento del cultivo y la formación del producto, sino que también se debe controlar el proceso modificando los parámetros ambientales que sean necesarios. Los factores ambientales que se suelen controlar son la temperatura, la concentración de oxígeno, el pH, la biomasa, los niveles de nutrientes básicos y la concentración del producto.

Durante la fermentación, también resulta esencial obtener los datos sobre el proceso en tiempo real (*véase* Figura 25.5*b*). Por ejemplo, puede ser necesario modificar uno o más parámetros ambientales a medida que progresa la fermentación, o añadir un nutriente a la velocidad y en la cantidad adecuadas para equilibrar el crecimiento de manera exacta (*véase*, por ejemplo, Figura 25.10). El control y procesamiento de los datos ambientales durante la fermentación se realiza mediante ordenadores programados para detectar y alertar sobre ciertos factores —como la adición de nutrientes, los incrementos en el flujo de agua de enfriamiento, o los ajustes del ritmo de agitación— en el momento oportuno para mantener un rendimiento alto del producto.

También se utilizan ordenadores para establecer modelos de los procesos de fermentación. Los modelos matemáticos se pueden usar para verificar el efecto de diversos parámetros sobre el crecimiento y el rendimiento del producto de una forma rápida e interactiva, ofreciendo la posibilidad de modificar los parámetros para predecir cómo afectarán dichas alteraciones al proceso. De esta manera, se pueden estudiar sobre la pantalla del ordenador numerosas variaciones en la fermentación sin apenas coste alguno, en lugar de tener que hacerlo en la planta piloto (Sección 25.4) o en la misma planta industrial, lo cual elevaría considerablemente los costes.

25.3 Minirrevisión

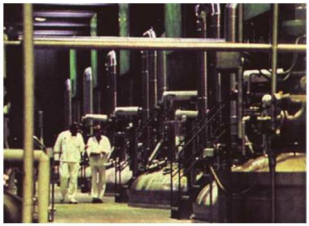
Las fermentaciones industriales a gran escala presentan diversos problemas de ingeniería. Los procesos aeróbicos requieren mecanismos de agitación y aireación. Los procesos microbianos deben estar sometidos a un seguimiento continuo para garantizar un rendimiento satisfactorio del producto deseado.

- ¿Qué dispositivos se emplean para garantizar una aireación adecuada en una fermentación a gran escala?
- ¿Qué parámetros deben someterse a seguimiento en una fermentación industrial, y qué reajustes se deben realizar mediante un control informatizado?

25.4 Escalado de las fermentaciones industriales

Un aspecto muy importante de la microbiología industrial es la transferencia de un proceso desde la pequeña escala del equipo de laboratorio hasta un equipo comercial a gran escala. Este proceso se llama **escalado**. Es importante entender los problemas que aparecen en el escalado, porque los procesos industriales raramente presentan el mismo comportamiento en fermentadores a gran escala (**Figura 25.5**) que en equipos de laboratorio a pequeña escala (**Figura 25.6*a***). El escalado de un proceso industrial es la principal tarea de la que se ocupa la ingeniería bioquímica, que está familiarizada con aspectos como la transferencia de gases, la dinámica de fluidos, el mezclado y la termodinámica. El escalado requiere un gran conocimiento no sólo de la biología del microorganismo productor, sino también de la física del diseño y el funcionamiento del fermentador.

Muchos de los retos del escalado están originados por la necesidad de aireación y mezclado. Estos elementos, esenciales en una fermentación industrial, son mucho más fáciles de controlar en un matraz de laboratorio que en un gran fermentador industrial. La transferencia de oxígeno, en particular, es mucho más difícil de conseguir en un gran fermentador, y dado que la mayoría de fermentaciones industriales son procesos aeróbicos, la transferencia efectiva de oxígeno tiene una importancia crucial. Con los medios de cultivo ricos empleados en los procesos industriales, se obtiene una alta densidad celular, lo que conlleva una gran demanda de oxígeno. Si los niveles de oxígeno llegan a ser limitantes, aunque sólo sea durante un período de tiempo corto, el cultivo puede ex-



(a)

(b)

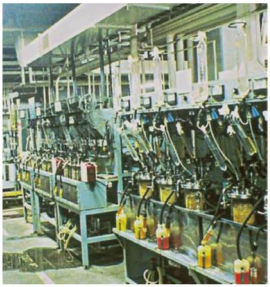
Figura 25.5 **Fermentaciones a escala industrial.** *(a)* Una gran planta de fermentación industrial. Sólo es visible la parte superior de los fermentadores, que pueden tener una altura de varios pisos. *(b)* Sala de control informatizado de una gran planta de fermentación.

perimentar una anoxia temporal, lo cual provocará la reducción o incluso la interrupción de la síntesis del producto.

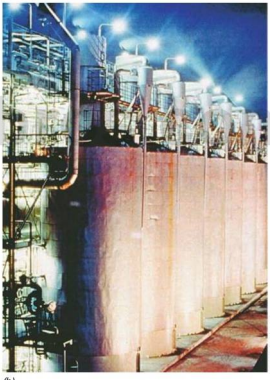
El proceso de escalado

La transferencia de un proceso industrial desde el laboratorio hasta un fermentador comercial se realiza en varias etapas. El proceso comienza en el matraz de laboratorio con una operación a pequeña escala que generalmente ofrece los primeros indicios de que un proceso de interés industrial es factible. El proceso se transfiere entonces al fermentador de laboratorio, un recipiente a pequeña escala, generalmente de vidrio y con una capacidad de 1 a 10 litros. Los primeros ensayos de escalado se realizan en este fermentador de laboratorio (Figuras 25.4*a* y 25.6*a*), donde también es posible ensayar variaciones en el medio, la temperatura, el pH, etcétera, de una manera rápida y sin grandes costes.

Cuando los ensayos en el fermentador de laboratorio tienen un resultado satisfactorio, el proceso pasa a la



(a)



(b)

Figura 25.6 **Fermentadores de investigación y producción.** *(a)* Batería de pequeños fermentadores de investigación empleados en el desarrollo de procesos. Los fermentadores son los recipientes de vidrio con tapa de acero inoxidable. Las botellas de plástico pequeñas recogen el producto que rebosa. *(b)* Una gran batería de fermentadores industriales (240 m^3) al aire libre utilizados en la producción comercial de alcohol en Japón.

planta piloto, donde se realiza en fermentadores con capacidades de 300 a 3.000 litros. En este punto, las condiciones se aproximan más a las del fermentador comercial, aunque el coste económico todavía no es un factor

determinante. Por último, el proceso pasa al fermentador comercial, que tiene una capacidad de 10.000 a 500.000 litros (Tabla 25.1 y Figuras 25.5*a* y 25.6*b*). Durante todas las etapas del escalado, la aireación es una variable fundamental que está sometida a un control estricto. A medida que el proceso de escalado avanza desde el matraz hasta el fermentador comercial, además de mantener la temperatura, el pH y los nutrientes a niveles adecuados, la dinámica del oxígeno se mide cuidadosamente para determinar cómo afectan los diferentes incrementos de volumen a la demanda de oxígeno de la fermentación.

25.4 Minirrevisión

El escalado es el proceso de conversión gradual de una fermentación de interés industrial desde la escala de laboratorio hasta la escala de producción industrial. La aireación es un aspecto crucial que debe controlarse en todo momento durante los estudios de escalado.

- ¿Qué diferencias de tamaño existen entre un típico fermentador de laboratorio, un fermentador de una planta piloto y un fermentador comercial?

II PRODUCTOS PARA LA INDUSTRIA SANITARIA

Nos ocuparemos ahora de algunos productos de la microbiología industrial, empezando por los antibióticos. De todos los productos microbianos fabricados comercialmente, los antibióticos son los más importantes para la industria sanitaria. El desarrollo de antibióticos para tratar enfermedades infecciosas probablemente ha tenido mayor impacto en la práctica de la medicina que cualquier otro descubrimiento médico. La producción de antibióticos constituye una gigantesca industria internacional en la que se han perfeccionado muchos aspectos importantes del cultivo microbiano a gran escala.

25.5 Aislamiento y caracterización de antibióticos

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por microorganismos que matan o inhiben el crecimiento de otros microorganismos. Los antibióticos son metabolitos secundarios típicos (Sección 25.2). La mayoría de los antibióticos que se utilizan en medicina son producidos por hongos filamentosos o por bacterias del grupo de los actinomicetos (Sección 16.6). La **Tabla 25.2** recoge una lista de los antibióticos más importantes producidos hoy en día mediante procesos de fermentación industrial a gran escala.

Tabla 25.2 Algunos antibióticos producidos comercialmente[a]

Antibiótico	*Microorganismo productor*[b]
Bacitracina	*Bacillus licheniformis* (BFE)
Cefalosporina	*Cephalosporium* spp. (H)
Cloranfenicol	Síntesis química (antiguamente producido por el microorganismo *Streptomyces venezuelae*) (A)
Cicloheximida	*Streptomyces griseus* (A)
Cicloserina	*Streptomyces orchidaceus* (A)
Eritromicina	*Streptomyces erythreus* (A)
Griseofulvina	*Penicillium griseofulvin* (H)
Kanamicina	*Streptomyces kanamyceticus* (A)
Lincomicina	*Streptomyces lincolnensis* (A)
Neomicina	*Streptomyces fradiae* (A)
Nistatina	*Streptomyces noursei* (A)
Penicilina	*Penicillium chrysogenum* (H)
Polimixina B	*Bacillus polymyxa* (BFE)
Estreptomicina	*Streptomyces griseus* (A)
Tetraciclina	*Streptomyces rimosus* (A)

[a] *Véase* en Capítulo 27 estructuras e información ampliada sobre estos antibióticos.
[b] BFE: bacteria formadora de endosporas; H: hongo; A: actinomiceto.

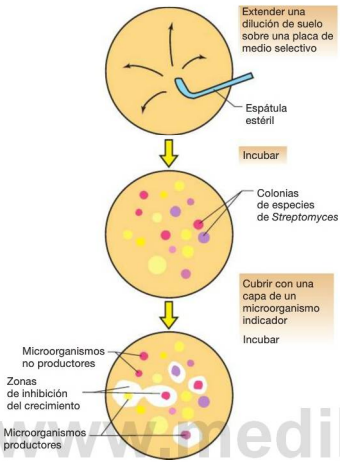
La búsqueda de nuevos antibióticos

Pese a que, en la actualidad, el descubrimiento de fármacos se basa fundamentalmente en la modelización por ordenador de las interacciones fármaco-receptor (*véase* Sección 27.13), la manera tradicional de descubrir nuevos antibióticos se basa en programas de selección en el laboratorio. Aunque en menor medida, esta técnica todavía se utiliza actualmente, y permite aislar de la naturaleza un gran número de posibles microorganismos productores de antibióticos en cultivos puros (**Figura 25.7*a***). Posteriormente, se ensaya la producción de antibióticos en estos aislamientos, comprobando si los microorganismos producen sustancias difusibles que inhiban el crecimiento de las bacterias utilizadas en el ensayo. Las bacterias que se utilizan en los ensayos son de diversos tipos, y son seleccionadas para que sean representativas de, o estén relacionadas con, los patógenos bacterianos contra los cuales se utilizarían realmente los antibióticos.

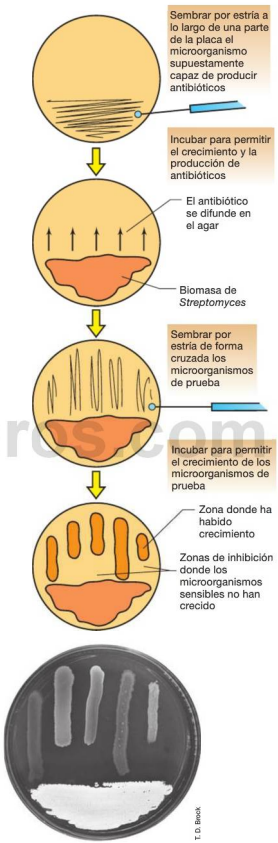
El procedimiento habitual para ensayar la producción de antibióticos en nuevos aislamientos microbianos es el *método de siembra en estría en superficie (en placa)* (Figura 25.7*b*). Aquellos aislamientos que sean candidatos en la producción de antibióticos se estudiarán posteriormente para determinar si los compuestos que producen son nuevos o no. La mayoría de los aislamientos que se obtienen producen antibióticos ya conocidos, de modo que los microorganismos y sus productos deben ser identificados rápidamente para evitar malgastar tiempo y recursos en su estudio.

Cuando se descubre un microorganismo productor de un nuevo antibiótico, dicho antibiótico se produce en

www.medilibros.com



(a)



(b)

Figura 25.7 Aislamiento y cribado de productores de antibióticos. *(a)* Aislamiento por medios selectivos de *Streptomyces* e identificación de los productores de antibióticos mediante un microorganismo indicador. En la fotografía, la mayoría de las colonias son de especies de *Streptomyces*, y algunas de ellas están produciendo antibióticos, como muestran las zonas de inhibición del crecimiento del microorganismo indicador (*Staphylococcus aureus*) que las rodean. *(b)* Método para analizar el espectro de actividad antibiótica de un microorganismo. El productor (una especie de *Streptomyces*) se sembró por estría a lo largo de un tercio de la placa, y ésta se incubó a continuación. Tras obtener un buen crecimiento, las cinco especies de bacterias de prueba se sembraron por estría en perpendicular a *Streptomyces* y la placa se incubó de nuevo. La incapacidad de algunas especies de bacterias para crecer cerca de la masa de crecimiento de *Streptomyces* indica que *Streptomyces* ha producido un antibiótico activo contra estas bacterias. Las especies de prueba son (de izquierda a derecha): *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Mycobacterium smegmatis.*

cantidades suficientes para proceder al análisis de su estructura, y determinar posteriormente su toxicidad y su actividad terapéutica en animales. Desgraciadamente, la mayoría de los antibióticos nuevos falla en los ensayos, y sólo unos pocos demuestran tener eficacia terapéutica y se llegan a producir comercialmente. El tiempo y coste medios invertidos en el desarrollo de nuevos antibióticos, desde su descubrimiento hasta su uso terapéutico, es de 15 años y 1.000 millones de dólares americanos. Esto supone realizar diversos niveles de ensayos clínicos, que pueden tardar varios años en ser completados, analizados y enviados a las autoridades sanitarias para que éstas los aprueben. **www.microbiologyplace.com Tutorial online 25.1: Aislamiento y cribado de los productores de antibióticos.**

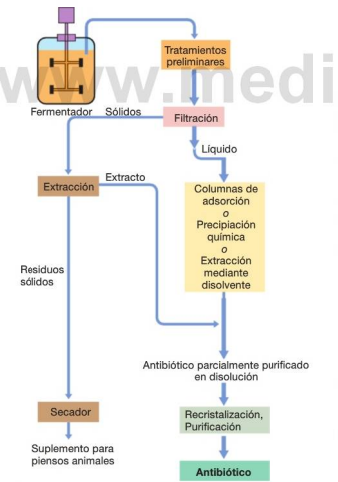
Purificación de los antibióticos

Un antibiótico que se vaya a producir comercialmente debe producirse antes de manera satisfactoria en fermentadores industriales a gran escala (Sección 25.4). La siguiente dificultad consiste en purificar el producto de manera eficiente, utilizando para ello métodos de extracción y purificación del antibiótico que suelen ser muy complejos (**Figura 25.8**). Si el antibiótico es soluble en un disolvente orgánico, puede ser relativamente fácil purificarlo por extracción en un volumen pequeño de disolvente. Pero si, por el contrario, el antibiótico no es soluble en un disolvente, deberá separarse del medio líquido de fermentación por adsorción, intercambio iónico o precipitación química (Figura 25.8). El objetivo de dichos métodos es conseguir un producto cristalino de elevada pureza. Dependiendo del proceso empleado, puede ser necesario realizar más etapas de purificación para eliminar los residuos de células microbianas o productos celulares si purifican junto al antibiótico.

Incremento del rendimiento

Las cepas productoras de antibióticos que se aíslan directamente de la naturaleza raramente producen el antibiótico deseado a una concentración suficientemente alta como para que su producción comercial pueda comen-

www.medilibros.com



(a)

(b)

Figura 25.8 Purificación de un antibiótico. *(a)* Proceso global de extracción y purificación. *(b)* Instalación para la extracción de un antibiótico del caldo de fermentación mediante el uso de disolventes. La realización de una ingeniería eficaz es tan importante como los factores microbiológicos en la producción satisfactoria de un antibiótico.

zar de inmediato. Por este motivo, una de las tareas fundamentales de las que se ocupa la microbiología industrial consiste en aislar *cepas de alto rendimiento*. La selección de las cepas se realiza mediante mutagénesis del cultivo inicial, siembra en placa de los mutantes, y análisis de estos mutantes en función de la producción de antibióticos. La ingeniería genética facilita este proceso; por ejemplo, la técnica de la amplificación génica permite la inserción de copias adicionales de genes de interés en una célula mediante un vector, como por ejemplo, un plásmido (*véase* Capítulo 26). Las modificaciones realizadas en los procesos de regulación también pueden incrementar el rendimiento productivo, pero la complejidad de las rutas biosintéticas de los antibióticos puede presentar grandes dificultades.

El rendimiento productivo es un aspecto crucial en prácticamente todos los fármacos. Aun después de haber iniciado la producción comercial de un antibiótico o de cualquier otro producto, se suele continuar investigando en la identificación o producción de cepas de alto rendimiento, o en la modificación del proceso con el objetivo de incrementar su rendimiento. Si bien los productos farmacéuticos se producen a pequeña escala en comparación con los productos químicos genéricos o los productos agrícolas, existen poderosos motivos económicos para buscar el rendimiento más alto en el menor tiempo posible.

25.5 Minirrevisión

La producción industrial de antibióticos comienza con el cribado de los microorganismos productores de antibióticos. Una vez identificados los nuevos productores, se procede a la purificación y el análisis químico del agente antimicrobiano. Si el nuevo antibiótico resulta biológicamente activo en los ensayos realizados en animales y, posteriormente, en los ensayos clínicos con seres humanos, se puede modificar genéticamente la cepa productora para incrementar su rendimiento hasta niveles aceptables para su desarrollo comercial.

- ¿Cuál es el hábitat natural de la mayoría de los microorganismos productores de antibióticos?
- ¿Qué significa el término «cribado» en el contexto de la búsqueda de nuevos antibióticos?

25.6 La producción industrial de penicilinas y tetraciclinas

Tras haber sido caracterizado y haber demostrado su eficacia terapéutica y su bajo grado de toxicidad en ensayos realizados en animales, el nuevo antibiótico está listo para realizar ensayos clínicos con seres humanos. Si el nuevo fármaco demuestra su eficacia terapéutica en estos ensayos y supera una serie de pruebas, entre ellas la de toxicidad, las autoridades sanitarias le dan el visto bueno para que pueda ser producido comercialmente. En el caso de antibióticos como la penicilina y la tetraciclina, estos obstáculos fueron superados hace muchos años. Hoy en día, se producen literalmente *toneladas* de estos dos antibióticos para uso médico y veterinario, de modo que aquí nos centraremos en su producción.

Los antibióticos, β-lactámicos: la penicilina y otros compuestos relacionados

Las penicilinas son una clase de antibióticos, β-lactámicos, caracterizados por tener un anillo, β-lactámico, y son producidos por hongos de los géneros *Penicillium* y *Aspergillus*, y por algunos procariotas (**Figura 25.9**). En Estados Unidos, la penicilina comercial se produce a partir de cepas de alto rendimiento del moho *Penicillium chrysogenum*.

Las penicilinas de interés clínico son de muy diversos tipos. La estructura matriz de todas las penicilinas es el ácido 6-aminopenicilánico (6-APA), que consiste en un anillo de tiazolidina condensado con un anillo, β-lactá-

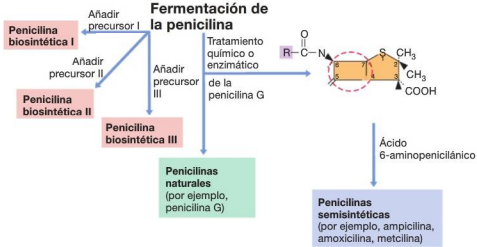


Figura 25.9 Producción industrial de penicilinas. El anillo, β-lactámico aparece señalado con un círculo rojo. La fermentación normal produce penicilinas naturales. Si se añaden precursores específicos durante la fermentación, se formarán diversas penicilinas biosintéticas. Las penicilinas semisintéticas se producen añadiendo por métodos químicos al grupo «R» (en color morado) una cadena lateral específica al núcleo de ácido 6-amino penicilánico. Las penicilinas semisintéticas son las variedades de penicilina con mayor utilidad médica, debido principalmente a su amplio espectro de acción y al hecho de que se pueden administrar por vía oral.

UNIDAD 5

www.medilibros.com

mico (Figura 25.9). El 6-APA lleva una cadena lateral variable en la posición 6. Si la síntesis de la penicilina se lleva a cabo sin la adición de precursores de la cadena lateral, se producen las **penicilinas naturales**, una serie de compuestos relacionados (Figura 25.9). No obstante, la fermentación se puede dirigir añadiendo al caldo de cultivo un precursor de la cadena lateral para que se produzca sólo un tipo de penicilina en cantidades más grandes. Los productos que se forman en estas condiciones se llaman **penicilinas biosintéticas** (Figura 25.9).

Para producir las penicilinas de mayor interés, que son aquellas que actúan contra las bacterias gramnegativas, se emplea una combinación de técnicas de fermentación y químicas que conduce a la producción de **penicilinas semisintéticas** (Figura 25.9). Para producir este tipo de penicilinas, se manipula una penicilina natural para que forme 6-APA, el cual se modifica químicamente a continuación añadiéndole una cadena lateral (Figura 25.9). Las penicilinas semisintéticas presentan numerosas ventajas desde el punto de vista clínico, ya que poseen un amplio espectro de acción y muchas de ellas, como la popular *ampicilina*, se pueden administrar por vía oral, sin necesidad de inyección. Por estos motivos, las penicilinas semisintéticas representan la mayor parte de las penicilinas comercializadas hoy en día.

La producción de penicilinas

La penicilina G se produce en fermentadores con capacidad para 40.000 a 200.000 litros. La producción de penicilina es un proceso altamente aeróbico, y precisa de una aireación eficaz. La penicilina es un metabolito secundario típico: durante la fase de crecimiento, se produce muy poca penicilina, pero cuando la fuente de carbono se ha consumido casi totalmente, comienza la fase de producción de la penicilina. Si se suministran carbono adicional y nitrógeno en los momentos adecuados, la fase de producción puede prolongarse durante varios días (**Figura 25.10**).

Un ingrediente fundamental en los medios de producción de penicilina es el licor de maceración del maíz. Esta sustancia aporta al hongo nitrógeno y factores de crecimiento. Los altos niveles de glucosa reprimen la producción de penicilina, pero no así los altos niveles de lactosa, de manera que al licor de maceración del maíz se le añade lactosa procedente de suero de leche en grandes cantidades como fuente de carbono. A medida que la lactosa se vuelve limitante y aumenta la densidad celular dentro del fermentador, los «aportes» de glucosa maximizan el rendimiento de penicilina (Figura 25.10). Al final de la fase de producción las células se eliminan por filtración y el pH del medio desciende. En ese momento, la penicilina se puede extraer, concentrar en un disolvente orgánico y, finalmente, cristalizar.

Otros antibióticos β-lactámicos

Otro ejemplo de antibióticos β-lactámicos son las cefalosporinas, fármacos que también contienen un anillo β-lactámico (Figura 25.9), pero que forman un anillo de

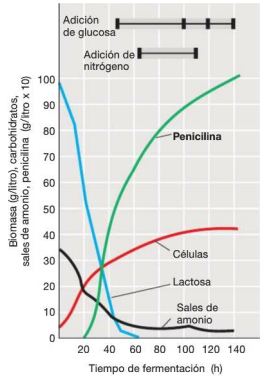


Figura 25.10 Cinética de la fermentación de la penicilina con *Penicillium chrysogenum*. Obsérvese que la producción de penicilina tiene lugar a medida que las células entran en la fase estacionaria, y la mayor parte del carbono y el nitrógeno ya se ha agotado. Los «aportes» de nutrientes provocan que el nivel de producción de penicilina se mantenga elevado.

dihidrotiazina en lugar del anillo de tiazolidina de las penicilinas. Las cefalosporinas fueron descubiertas como productos del hongo *Cephalosporium acremonium*, pero hay otros hongos y algunos procariotas que también producen este tipo de antibióticos. Además, se producen comercialmente numerosas cefalosporinas semisintéticas (análogas a las penicilinas semisintéticas, Figura 25.9). Las cefalosporinas se valoran mucho en medicina, no sólo por su baja toxicidad, sino también porque son **antibióticos de amplio espectro** que se pueden utilizar contra una amplia gama de bacterias patógenas.

La producción de tetraciclinas

La biosíntesis de **tetraciclinas** requiere un gran número de reacciones enzimáticas. En la biosíntesis de la clortetraciclina (**Figura 25.11**), por ejemplo, participan más de 72 productos intermediarios. Los estudios genéticos realizados sobre *Streptomyces aureofaciens*, el microorganismo productor en la fermentación de la clortetraciclina, han descubierto que en este proceso intervienen ¡más de 300 genes! Con semejante cantidad de genes, la regulación de la biosíntesis de este antibiótico es, obviamente, muy complicada. No obstante, se conocen algunas señales reguladoras y esquemas de producción que dan buenos resultados. Por ejemplo, se sabe que tanto la glu-

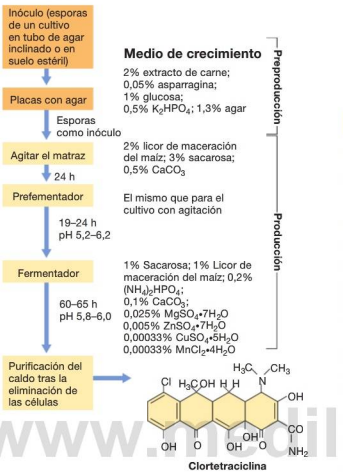


Figura 25.11 Esquema de producción de la clortetraciclina a partir de *Streptomyces aureofaciens*. La estructura de la clortetraciclina aparece en la parte inferior derecha. La glucosa se utiliza para fomentar el crecimiento del inóculo, pero no para la producción comercial.

cosa como el fosfato reprimen la síntesis de la clortetraciclina. La represión por fosfato es especialmente significativa, y por este motivo, el medio de cultivo usado en la producción comercial de clortetraciclina contiene concentraciones relativamente bajas de fosfato. La Figura 25.11 muestra un esquema de producción de tetraciclina. Al igual que ocurre en la producción de penicilina, para producir tetraciclina se utiliza licor de maceración del maíz, pero la fuente de carbono empleada en este caso no es la lactosa, sino la sacarosa. Se evita el uso de glucosa porque ésta causa una fuerte represión catabólica en la producción del antibiótico (*véase* Sección 9.9).

25.6 Minirrevisión

Los principales antibióticos de interés médico son la penicilina y la cefalosporina, que son antibióticos β-lactámicos, y la tetraciclina. Todos ellos son metabolitos secundarios típicos, y su producción industrial ha alcanzado un alto nivel de perfeccionamiento.

- ¿Qué estructura química es común a la penicilina y la cefalosporina?
- En la producción de penicilina, ¿qué significado tiene el término *semisintética*? ¿Y *biosintética*?

25.7 Las vitaminas y los aminoácidos

Las vitaminas y los aminoácidos son nutrientes utilizados en las industrias farmacéutica, dietética y alimentaria. Muchos de ellos son producidos a escala industrial por microorganismos.

Las vitaminas

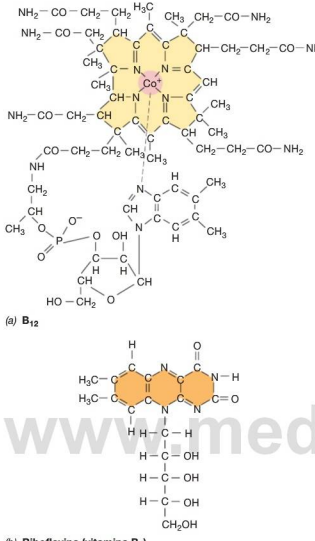
Las vitaminas se usan como suplementos en la alimentación humana y en piensos animales, y su producción sólo es superada por la de antibióticos en cuanto a ventas totales de productos farmacéuticos. La mayoría de las vitaminas se obtienen industrialmente mediante síntesis química. Algunas vitaminas son demasiado complicadas como para sintizarlas a bajo coste, pero se pueden fabricar en cantidades suficientes de forma relativamente sencilla mediante procesos microbianos. La vitamina B_{12} y la riboflavina son las vitaminas más importantes de este tipo.

La vitamina B_{12} (**Figura 25.12*a***) se sintetiza en la naturaleza exclusivamente a partir de microorganismos, pero todos los animales la necesitan como factor de crecimiento. Como coenzima, la vitamina B_{12} desempeña una función importante en ciertos tipos de transferencias de grupos metilo y otros procesos relacionados de la bioquímica animal. En los seres humanos, un déficit importante de B_{12} produce un debilitamiento llamado *anemia perniciosa*, caracterizada por la baja producción de eritrocitos (glóbulos rojos) y por alteraciones del sistema nervioso. Los animales satisfacen sus necesidades de vitamina B_{12} mediante el consumo de alimentos, o bien mediante la absorción de la vitamina producida por la microbiota normal residente en su propio intestino. Las plantas no producen ni utilizan la vitamina B_{12}, por lo que es importante que las personas que sean vegetarianas estrictas complementen su dieta tomando esta vitamina.

En la producción industrial de vitamina B_{12} se utilizan cepas microbianas que han sido seleccionadas específicamente por su alto rendimiento en la producción de esta vitamina. Las especies bacterianas de los géneros *Propionibacterium* y *Pseudomonas* son las principales productoras comerciales, especialmente *Propionibacterium freudenreichii*. El cobalto es un componente de la vitamina B_{12} (Figura 25.12*a*), y el rendimiento en la producción de esta vitamina se incrementa de forma notable mediante la adición de pequeñas cantidades de este metal al medio de cultivo.

La riboflavina (Figura 25.12*b*) es el compuesto matriz del flavín adenín dinucleótido (FAD) y el flavín mononucleótido (FMN), dos coenzimas que desempeñan un papel importante en las enzimas que participan en las reaccio-

UNIDAD 5



(a) B_{12}

(b) **Riboflavina (vitamina B_2)**

Figura 25.12 Vitaminas producidas por microorganismos a escala industrial. *(a)* Vitamina B_{12}. Estructura de la cobalamina. Obsérvese el átomo central de cobalto. La forma coenzimática de la vitamina B_{12} contiene un grupo de desoxiadenosil unido al cobalto por encima del plano del anillo. *(b)* Riboflavina (vitamina B_2).

nes de oxidación-reducción (*véase* Sección 5.11). La riboflavina es sintetizada por numerosos microorganismos, como bacterias, levaduras y hongos. El hongo *Ashbya gossypii* produce de forma natural grandes cantidades de esta vitamina (hasta 7 g/l), y por ello se utiliza en la mayoría de los procesos de producción microbiana. No obstante, y a pesar de este alto rendimiento, existe una gran competencia económica entre el proceso microbiológico y la síntesis estrictamente química.

Los aminoácidos

Los aminoácidos se utilizan ampliamente en la industria alimentaria como aditivos para piensos animales; en la industria dietética, como suplementos nutricionales, y en la industria química, como precursores (**Tabla 25.3**). El aminoácido comercial más importante es el ácido glutámico, que se emplea como potenciador del sabor (glutamato monosódico, GMS). Otros dos aminoácidos importantes, el ácido aspártico y la fenilalanina, forman el edulcorante artificial **aspartamo**, un edulcorante no nutritivo utilizado en refrescos y otros alimentos que se comercializan como productos bajos en calorías o sin azúcar.

La lisina es un aminoácido esencial para los seres humanos y los animales de granja, y se produce comercialmente a partir de la bacteria *Brevibacterium flavum* para ser utilizado como aditivo alimentario. Dado que los aminoácidos se emplean en la biosíntesis de las proteínas, su producción está sometida a una regulación celular estricta, como ya vimos en el Capítulo 9. Sin embargo, para producir industrialmente un aminoácido, se deben sortear estos mecanismos reguladores con el fin de obtener una cepa *superproductora* capaz de producir el aminoácido de forma económicamente explotable.

La producción de lisina por *Brevibacterium flavum* se controla a nivel de la enzima aspartoquinasa; el exceso de la lisina inhibe la acción de esta enzima (retroalimentación) (**Figura 25.13**; el fenómeno de inhibición por retroalimentación se describe en la Sección 5.18). Sin embargo, la superproducción de lisina se puede obtener aislando mutantes de *Brevibacterium flavum* en los que la aspartoquinasa ya no esté sujeta a inhibición por retroalimentación. Esto se consigue mediante el aislamiento de mutantes resistentes al análogo a la lisina S-aminoetil cisteína (AEC), un compuesto que se une al sitio alostérico de la aspartoquinasa e inhibe la acción de la enzima (Figura 25.13*b*). No obstante, los mutantes resistentes a la AEC se pueden obtener fácilmente, y contienen una forma modificada de aspartoquinasa cuyo sitio alostérico ya no reconoce la AEC ni la lisina, de manera que la inhibición por retroalimentación de esta enzima por la lisina se reduce enormemente. Los mutantes de *Brevibacterium flavum* resistentes a la AEC pueden producir más de 60 g de lisina por litro en fermentadores industriales, una concentracion lo bastante alta como para que el proceso sea viable comercialmente.

25.7 Minirrevisión

Entre las vitaminas producidas en microbiología industrial se encuentran la vitamina B_{12} y la riboflavina, mientras que los principales aminoácidos producidos comercialmente son el glutamato, el aspartato, la fenilalanina y la lisina. El alto rendimiento en la producción de aminoácidos se obtiene modificando las señales reguladoras que controlan su síntesis, de manera que se dé una superproducción.

- ¿Qué aminoácido se produce comercialmente en mayores cantidades?
- ¿Cómo se puede incrementar el rendimiento en la producción de un aminoácido evitando la inhibición por retroalimentación?

www.medi

Tabla 25.3 Aminoácidos utilizados en la industria alimentaria[a]

Aminoácido[b]	*Producción anual mundial (en toneladas métricas)*	*Usos*	*Finalidad*
L-Glutamato (glutamato monosódico, GMS)	370.000	Alimentos diversos	Potenciador del sabor; ablandador de la carne
L-Aspartato y L-alanina	5.000	Zumos de fruta	Enriquecedor del sabor
Glicina	6.000	Alimentos edulcorados	Mejora del sabor; materia prima para síntesis orgánicas
L-Cisteína	700	Pan	Mejora de la calidad
		Zumos de fruta	Antioxidante
L-Triptófano + L-Histidina	400	Alimentos diversos, leche en polvo	Antioxidante; previene la rancidez; aditivos nutritivos
Aspartamo (fabricado a partir de L-fenilalanina + ácido L-aspártico)	7.000	Refrescos, chicles, diversos productos «sin azúcar»	Edulcorante bajo en calorías
L-Lisina	70.000	Pan (Japón), aditivos alimentarios	Aditivo nutritivo
DL-Metionina	70.000	Productos de la soja, aditivos alimentarios	Aditivo nutritivo

[a] Datos de Glazer, A.N., y H. Mikaido. 1995. *Microbial Biotechnology*, W.H. Freeman, New York.
[b] Las estructuras de estos aminoácidos se muestran en la Figura 3.12.

www.medilibros.com

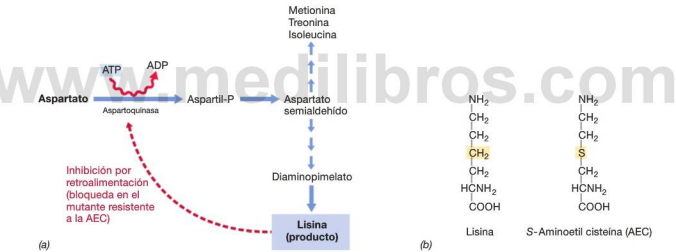


Figura 25.13 Producción industrial de lisina a partir de *Brevibacterium flavum*. *(a)* Ruta bioquímica que conduce del aspartato a la lisina. Obsérvese que la lisina puede inhibir por retroalimentación la actividad de la enzima aspartoquinasa, lo que provocará el cese de la producción de lisina. *(b)* Estructura de la lisina y del análogo a la lisina S-aminoetil cisteína (AEC). Las moléculas son idénticas, a excepción de las zonas coloreadas. La AEC inhibe normalmente el crecimiento, pero los mutantes de *Brevibacterium flavum* resistentes a la AEC poseen un sitio alostérico alterado en su aspartoquinasa, y desarrollan y superproducen lisina porque ya no tiene lugar la inhibición por retroalimentación.

25.8 Los esteroides y otras biotransformaciones

En la Sección 4.3 discutimos el papel que desempeñan los esteroles en las membranas eucarióticas. Los esteroides, que derivan de los esteroles, son hormonas animales muy importantes que regulan diversos procesos metabólicos. Algunos esteroides se usan también en medicina como fármacos para seres humanos. Los *corticosteroides*, que pertenecen a un grupo de esteroides, reducen la inflamación, por lo que estos compuestos terapéuticos son eficaces para controlar los síntomas de inflamación tópica, la artritis y las alergias. Los estrógenos y los andrógenos, que pertenecen a otro grupo de esteroides, desempeñan una función importante en la fertilidad humana, y pueden utilizarse de forma terapéutica en el control de la fertilidad, o como estimulantes para aumentar la masa muscular.

Los esteroides se pueden obtener por síntesis química, pero este proceso suele resultar complicado y costoso. No obstante, algunas etapas químicamente difíciles de la sín-

tesis de esteroides se pueden catalizar mediante el uso de microorganismos, de manera que en la producción comercial de esteroides, al menos una de las etapas de la síntesis suele ser microbiana. Este proceso dirigido recibe el nombre de **biotransformación**. Para realizar una biotransformación se cultiva el microorganismo en grandes fermentadores, y se añade un precursor de esteroides en la fase de crecimiento apropiada. El precursor se obtiene a partir de materias primas baratas; normalmente, estigmasterol, un subproducto de la industria de la soja. Después de un período de incubación durante el cual el precursor de esteroles se biotransforma, se procede a la extracción del caldo de fermentación y a la purificación del esterol.

La cortisona y la hidrocortisona

En la producción de hidrocortisona y cortisona, dos tipos de corticosteroides empleados para reducir la hinchazón y el picor de irritaciones cutáneas leves, el hongo *Rhizopus nigricans* lleva a cabo una biotransformación clave: la hidroxilación estereoespecífica de un precursor de la cortisona (**Figura 25.14**). La mayoría de las biotransformaciones de esteroides requieren hidroxilaciones de este tipo, y en la industria se usan diversos hongos para llevar a cabo la hidroxilación estereoespecífica del esteroide en un sitio específico del precursor de esteroides.

Pese a que la mayoría de las biotransformaciones se puede realizar mediante técnicas de química orgánica, los microorganismos realizan esta tarea de una forma más económica. La producción de esteroides constituye actualmente un gran negocio, ya que las ventas mundiales de los cuatro corticosteroides principales (hidrocortisona, cortisona, prednisona y prednisolona) superan las 800 toneladas anuales.

25.8 Minirrevisión

En los procesos de biotransformación microbiana se emplean microorganismos para catalizar una o varias etapas específicas de una síntesis estrictamente química.

- Mencione un ejemplo de biotransformación microbiana. ¿Por qué es necesaria la biotransformación?
- Señale dos diferencias entre una biotransformación y una fermentación típica como es la producción de antibióticos.

25.9 Las enzimas como productos industriales

Todos los microorganismos producen una gran variedad de enzimas, muchas de las cuales se producen sólo en pequeñas cantidades y funcionan dentro de la célula. No obstante, algunas enzimas son producidas en cantidades mucho más grandes por algunos microorganismos, y en lugar de permanecer en el interior de la célula, son excretadas al medio de cultivo. Estas enzimas extracelulares, llamadas **exoenzimas**, pueden digerir polímeros insolubles, como celulosa, proteínas y almidón. Los productos de la digestión son transportados entonces al interior de la célula, donde se utilizan como nutrientes para el crecimiento.

Las enzimas son especialmente útiles como catalizadores industriales debido a su alta especificidad para el sustrato. Además, en muchos casos —por ejemplo, en el de los esteroles que acabamos de ver— catalizan reacciones de manera estereoespecífica, produciendo sólo uno de los dos estereoisómeros posibles (*véase* Sección 3.6). En las industrias alimentaria y sanitaria se emplean diversas enzimas, principalmente como suplementos dietéticos, mientras que muchas otras se producen para ser utilizadas en la industria de los detergentes para lavar ropa y en la industria textil (**Tabla 25.4**).

Las proteasas, las amilasas y los jarabes ricos en fructosa

Las enzimas se producen industrialmente a partir de hongos y bacterias. Las enzimas microbianas que se producen industrialmente en cantidades más grandes son las **proteasas** bacterianas, que se emplean como aditivos en detergentes para lavar la ropa. La mayoría de estos detergentes contiene enzimas, normalmente proteasas, pero también amilasas, lipasas y reductasas. Muchas de estas

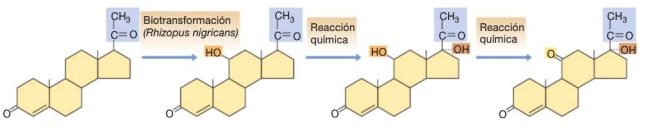


Figura 25.14 Producción de cortisona utilizando un microorganismo: un ejemplo de biotransformación. La primera reacción en la producción de cortisona consiste en una biotransformación microbiana típica: la formación de 11 α-hidroxiprogesterona a partir de progesterona. Esta oxidación específica, realizada por el hongo *Rhizopus nigricans*, evita una difícil síntesis química y es estereoespecífica. Todas las demás etapas, desde la 11 α-hidroxiprogesterona hasta la hormona esteroide cortisona, se realizan químicamente.

Tabla 25.4 Enzimas microbianas y sus aplicaciones

Enzima	*Fuente*	*Aplicación*	*Industria*
Amilasa	*Hongos*	Pan	Panadera
	Bacterias	Coberturas de almidón	Papelera
	Hongos	Fabricación de jarabe y glucosa	Alimentaria
	Bacterias	Almidonado en frío de la ropa	Almidón
	Hongos	Ayuda digestiva	Farmacéutica
	Bacterias	Eliminación de revestimientos	Textil
	Bacterias	Eliminación de manchas; detergentes	Lavandería
Proteasa (digiere las proteínas)	*Hongos*	Pan	Panadera
	Bacterias	Eliminación de manchas	Limpieza en seco
	Bacterias	Reblandecimiento de la carne	Cárnica
	Bacterias	Limpieza de heridas	Médica
	Bacterias	Eliminación de revestimientos	Textil
	Bacterias	Detergentes de uso doméstico	Lavandería
Invertasa (digiere la sacarosa)	*Levaduras*	Relleno blando de caramelos	Confitería
Glucosa oxidasa	*Hongos*	Eliminación de glucosa, eliminación de oxígeno Papeles para pruebas de diabetes	Alimentaria Farmacéutica
Glucosa isomerasa	*Bacterias*	Jarabe de maíz rico en fructosa	Refrescos
Pectinasa	*Hongos*	Prensado, clarificación	Vino, zumos de fruta
Renina	*Hongos*	Coagulación de la leche	Quesera
Celulasa	*Bacterias*	Suavizante de tejidos, abrillantador; detergente	Lavandería
Lipasa	*Hongos*	Ruptura de la grasa	Láctea, lavandería
Lactasa	*Hongos*	Ruptura de la lactosa en glucosa y galactosa	Láctea, alimentaria
ADN polimerasa	*Bacterias* *Arqueas*	Replicación del ADN en la técnica de la reacción en cadena por la polimerasa (PCR) (Sección 12.8)	Investigación biológica; forense

www.medmicro.com

enzimas se aislan a partir de bacterias alcalófilas, unos microorganismos que crecen mejor en un pH alcalino (*véase* Sección 6.15). Los principales productores son especies del género *Bacillus*, como *Bacillus licheniformis* (Tabla 25.4). Estas enzimas, que tienen un pH óptimo comprendido entre 9 y 10, permanecen activas al pH alcalino de las soluciones de los detergentes.

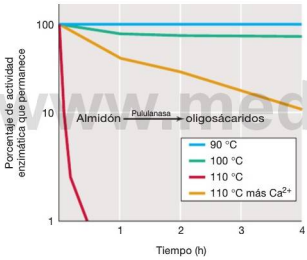
Otras enzimas importantes que se fabrican comercialmente son las amilasas y las glucoamilasas, que se emplean en la producción de glucosa a partir de almidón. Mediante una segunda enzima llamada glucosa isomerasa, la glucosa se convierte entonces en fructosa, que es mucho más dulce que la glucosa. El producto final es *jarabe rico en fructosa* producido a partir de materias primas que carecen de fructosa pero tienen un alto contenido de glucosa, como el maíz, el trigo o las patatas. Los jarabes ricos en fructosa se utilizan mucho en la industria alimentaria para edulcorar refrescos, zumos y muchos otros productos. La producción mundial de jarabes ricos en fructosa supera los 10.000 millones de kilogramos anuales.

Las extremoenzimas: enzimas con una estabilidad inusual

En los Capítulos 2, 6, 16 y 17 estudiamos algunos aspectos del crecimiento microbiano a alta temperatura, y hemos visto que algunos procariotas llamados *hipertermófilos* crecen de manera óptima a temperaturas muy elevadas. Los hipertermófilos pueden crecer a temperaturas tan altas porque producen macromoléculas termoestables, entre las que se incluyen ciertas enzimas. El término **extremoenzima** fue acuñado para describir a las enzimas que actúan en condiciones ambientales extremas, como las altas o bajas temperaturas, o el pH muy alto o muy bajo (**Figura 25.15**). Los microorganismos que producen extremoenzimas se llaman *extremófilos* (*véase* Tabla 2.1).

Debido a que muchas catálisis industriales operan mejor a temperaturas elevadas, las extremoenzimas de los hipertermófilos se utilizan ampliamente tanto en la industria como en investigación. Aparte de la *Taq* y la *Pfu*, DNA-polimerasas que se emplean en la reacción en cadena por la polimerasa (PCR) (*véase* Sección 12.8), se han aislado y caracterizado proteasas, amilasas, celulasas, pulunasas (Figura 25.15*b*) y xilanasas termoestables de varios hipertermófilos. Sin embargo, no solamente las enzimas termoestables han encontrado su mercado; también se han comercializado enzimas activas en frío (obtenidas a partir de psicrófilos), enzimas activas en presencia de altas concentraciones de sal (obtenidas a partir de halófilos) y enzimas activas en un pH alto o bajo (obtenidas a partir de alcalófilos y acidófilos, respectivamente) (Figura 25.15*a*).

(a)



(b)

Figura 25.15 **Ejemplos de extremoenzimas, enzimas que funcionan en condiciones medioambientales extremas.** *(a)* Enzimas tolerantes a ácidos. Una mezcla de enzimas empleada como suplemento alimentario para aves de corral. Las enzimas actúan en el estómago del ave ayudándole a digerir las materias fibrosas de la comida, lo cual mejora el valor nutritivo del alimento y favorece un crecimiento más rápido del animal. *(b)* Enzimas termoestables. Termoestabilidad de la enzima pululanasa de *Pyrococcus woesei*, una enzima hipertermófila cuya temperatura óptima de crecimiento es 100 °C. El calcio mejora la estabilidad térmica de esta enzima; no obstante, a 110 °C la enzima se desnaturaliza.

Las enzimas inmovilizadas

En algunos procesos industriales es deseable adherir una enzima a una superficie sólida para formar una **enzima inmovilizada**. La inmovilización no sólo facilita la realización de la reacción enzimática en condiciones de flujo continuo a gran escala, sino que también ayuda a estabilizar la enzima para prevenir su desnaturalización. Se han empleado diversas enzimas inmovilizadas en procesos industriales, y un buen ejemplo lo encontramos en la industria procesadora del almidón que ya hemos mencionado anteriormente. El almidón se transforma en jarabe de maíz rico en fructosa mediante un tratamiento secuencial con amilasa y glucosa isomerasa, pero por lo general, el tratamiento tradicional sólo transforma en fructosa aproximadamente un 50% de la glucosa. No obstante, este rendimiento se puede incrementar de forma significativa eliminando la fructosa de forma continuada y reciclando la glucosa restante sobre una columna de enzimas inmovilizadas.

Existen tres maneras de inmovilizar enzimas (**Figura 25.16**):

1. ***Unión de la enzima a un soporte.*** La unión se puede producir por adsorción, enlace iónico o enlace covalente. Los soportes empleados son celulosas modificadas, carbono activado, arcillas minerales, óxido de aluminio y cuentas de vidrio.
2. ***Polimerización (entrecruzamiento) de moléculas enzimáticas.*** Las moléculas enzimáticas se unen entre ellas mediante reacción química con un agente polimerizante como el glutaraldehído diluido. Los grupos aminos de los aminoácidos enzimáticos reaccionan químicamente con el aldehído.
3. ***Inclusión enzimática.*** Las enzimas se pueden encerrar en microcápsulas, geles, membranas semipermeables de polímeros o polímeros fibrosos como el acetato de celulosa.

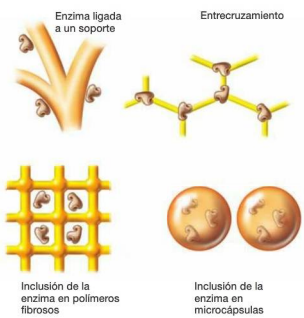


Figura 25.16 **Distintos procedimientos para la inmovilización de enzimas.** El procedimiento utilizado varía en función de la enzima, el producto y la escala de producción empleados.

www.medilibros.com

Cada uno de estos métodos de inmovilización presenta ventajas e inconvenientes, y el procedimiento empleado depende de la enzima, la aplicación industrial particular y la escala de la operación.

25.9 Minirrevisión

Muchas enzimas microbianas se utilizan en la industria de los detergentes para eliminar manchas de la ropa, y las enzimas estables a altas temperaturas y a pH alcalino presentan muchas ventajas para esta aplicación. Las enzimas de extremófilos son útiles para realizar catálisis en condiciones extremas. Cuando se utiliza una enzima en un proceso a gran escala, suele ser conveniente inmovilizarla uniéndola a un sustrato inerte.

- ¿Qué utilidad tienen las enzimas en la industria de los detergentes?
- ¿Qué enzima es esencial para producir jarabes ricos en fructosa?
- ¿Qué es una extremoenzima?

III PRODUCTOS PARA LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

Aunque los orígenes de la microbiología industrial como disciplina se remontan a los antibióticos, éstos constituyen sólo una rama de los productos que se fabrican a escala industrial. Muchos productos alimentarios también se obtienen mediante procesos industriales. Vamos a estudiar algunos de ellos, comenzando por la producción de bebidas alcohólicas.

25.10 El vino

La mayoría de los zumos de frutas y de los cereales sufren una fermentación natural provocada por las levaduras silvestres que contienen. A partir de estas fermentaciones naturales, se han seleccionado cepas concretas de levaduras para ser empleadas en la industria de las bebidas alcohólicas. Comenzaremos por la producción de vino, una importante industria mundial que crece rápidamente gracias a la proliferación de pequeñas bodegas especializadas, sobre todo en Estados Unidos.

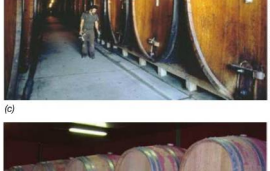
Variedades de vino

La mayoría de los vinos procede de las uvas, por lo que esta bebida generalmente se fabrica en los lugares del mundo en los que se pueden cultivar uvas de calidad de forma poco costosa. El vino se produce en muchos países de la Unión Europea, en Estados Unidos (**Figura 25.17**), Sudamérica, Nueva Zelanda y Australia.

(a)

(b)

(c)



(d)

Figura 25.17 **Fabricación industrial de vino.** *(a)* Equipo para transportar las uvas hasta la bodega, donde serán prensadas. *(b)* Grandes depósitos donde tiene lugar la fermentación principal del vino. *(c)* Barrica de una gran bodega en la que tiene lugar el proceso de envejecimiento del vino. *(d)* Barricas más pequeñas de una bodega francesa. El vino puede envejecer en estos toneles de madera durante años.

www.medilibros.com

Existen muchas clases de vinos, y su calidad y características varían considerablemente. Los vinos *secos* son aquéllos en los que los azúcares del zumo o mosto han fermentado casi por completo, mientras que los vinos *dulces* conservan parte del azúcar, o se les ha añadido azúcar tras la fermentación. Un vino *encabezado* es aquél al que se le ha añadido brandy u otro compuesto alcohólico tras la fermentación; el jerez y el oporto son los vinos más conocidos de este tipo. Por último, un vino *espumoso*, como el champán, es aquél que contiene una cantidad considerable de dióxido de carbono (CO_2), originada por la fermentación final que realiza la levadura directamente dentro de la botella sellada.

La producción de vino

La producción de vino normalmente comienza a principios de otoño con la vendimia, o recolección de la uva. A continuación, las uvas se prensan, y se extrae el zumo resultante, llamado *mosto*. Según el tipo de uvas que se utilice y la manera de preparar el mosto, se producirá vino blanco o tinto (**Figura 25.18**). Las levaduras que hacen fermentar el vino son de dos clases: por un lado, las leva-

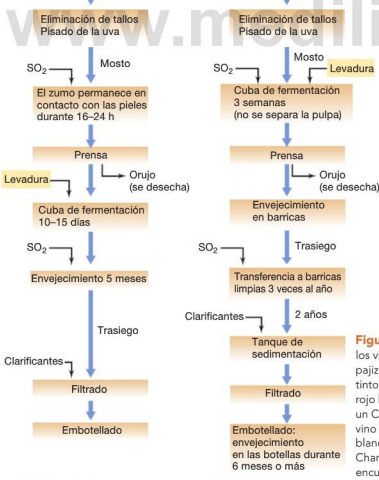


Figura 25.18 **Producción de vino.** *(a)* Vino blanco. El color de los vinos blancos puede variar desde casi incoloro hasta un color pajizo o dorado, en función del tipo de uva empleado. *(b)* Vino tinto. El color de los vinos tintos varía desde el rojo claro hasta un rojo burdeos oscuro y denso. La fotografía muestra una copa de un Chenin Blanc, un típico vino blanco (izquierda), y una copa de vino rosado o clarete (derecha). Otras variedades típicas de vino blanco son el Chablis, el vino del Rhin, el Sauterne y el Chardonnay. Entre las variedades típicas de vino tinto se encuentran el vino de Borgoña, el Chianti, el Clarete, el Zinfandel, el Cabernet y el Merlot.

www.mislibros.com

duras silvestres, que están presentes en las uvas cuando se recogen del viñedo, y se transfieren al mosto, y por otro lado, la levadura de vino cultivada, *Saccharomyces ellipsoideus*, que se añade al mosto para iniciar la fermentación. Las levaduras silvestres presentan una menor tolerancia al alcohol que las levaduras de vino comerciales, y además pueden producir compuestos no deseados que afectan a la calidad del producto final. Por ello, en muchas bodegas se suelen destruir las levaduras silvestres presentes en el mosto añadiéndole «sulfitos» como el metabisulfito de sodio ($Na_2S_2O_5$) en una proporción de aproximadamente 80 partes por millón (mg/l). *Saccharomyces ellipsoideus* es resistente a esta concentración de sulfito, y se añade como cultivo iniciador a partir de un cultivo puro desarrollado en zumo de uva esterilizado.

La fermentación del vino se realiza en fermentadores con capacidades que oscilan entre los 200 y los 200.000 litros, y que están hechos de madera de roble, cemento, piedra o metal revestido de vidrio (Figura 25.17*b*). El fermentador debe construirse de manera que la gran cantidad de dióxido de carbono producido durante la fermentación pueda escapar sin que penetre aire en el recipiente. Esto se consigue dotando al fermentador de una válvula unidireccional especial.

Vinos tintos y vinos blancos

El vino blanco se puede obtener del zumo de uvas blancas o del zumo de uvas negras a las que se les ha quitado la piel, que es la que contiene la materia colorante roja. En la fabricación del vino tinto, las pieles, semillas y trozos de tallos (lo que se conoce como *orujo*) se dejan dentro del recipiente durante la fermentación. Además de la diferencia de color, el vino tinto tiene un aroma más fuerte que el blanco debido a que contiene mayor cantidad de *taninos*, unas sustancias químicas presentes en la piel de la uva que pasan al zumo durante la fermentación.

En la producción del vino tinto, al cabo de 5 días de fermentación ya se ha extraído del orujo una cantidad suficiente de color y de tanino, de modo que el vino se extrae y se coloca en un nuevo depósito para continuar la fermentación durante una o dos semanas más. El siguiente paso se llama *trasiego* y consiste en separar el vino del sedimento, que contiene células y precipitado de levadura. A continuación, el vino se almacena a una temperatura inferior para lograr su envejecimiento, el desarrollo del aroma y la posterior clarificación. La clarificación final puede acelerarse mediante la adición de clarificantes, como la caseína, el tanino o la arcilla bentonita, que absorben partículas. Otra opción puede ser filtrar el vino a través de tierra de diatomeas, asbesto, o filtros de membrana. Por último, se embotella el vino y se almacena para envejecerlo más, o bien se vende.

Los vinos tintos generalmente se envejecen durante un período que puede oscilar entre algunos meses y varios años (Figura 25.17*c*, *d*). Por el contrario, la mayor parte de los vinos blancos se vende sin envejecer. Durante el proceso de envejecimiento tienen lugar complejos cambios químicos, como la reducción de componentes amargos, que dan como resultado una mejora del aroma y el olor, o *bouquet*. El contenido final de alcohol del vino oscila entre un 6% y un 15%, en función del contenido de azúcar de las uvas, la duración de la fermentación y la cepa de levadura de vino utilizada.

La fermentación maloláctica

Muchos vinos tintos secos de gran calidad y algunos vinos blancos como los Chardonnay se someten a una fermentación secundaria después de la primera fermentación de la levadura. Este proceso tiene lugar antes de su embotellamiento y se llama *fermentación maloláctica*. Los vinos tintos secos con mucho cuerpo suelen someterse a una fermentación maloláctica.

En las variedades de uva utilizadas para la producción de vinos secos puede existir una cantidad considerable de ácido málico. El contenido de ácido málico de las uvas varía según la estación del año, debido a las condiciones climáticas y del suelo. El ácido málico es un ácido fuerte y más bien amargo, pero el ácido láctico es más suave. Durante la fermentación maloláctica, el ácido málico se transforma en ácido láctico, y esto provoca que el vino sea menos ácido y afrutado, pero también más complejo y gustoso. Se producen muchos otros componentes durante la fermentación maloláctica, entre ellos el diacetilo (2, 3-butanodiona), aromatizante fundamental de la mantequilla, que aporta un carácter suave al vino.

La fermentación maloláctica está catalizada por especies de bacterias del ácido láctico (*véase* Sección 16.1), como *Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Oenococcus*. Estos microorganismos presentan una enorme tolerancia al ácido y pueden llevar a cabo la fermentación incluso en vinos con un pH 3.3 inicial. Las bodegas comerciales generalmente utilizan cultivos iniciadores de microoganismos de fermentación maloláctica seleccionados, y almacenan el vino en barricas para este fin específico. Los inóculos para futuros procesos de fermentación maloláctica proceden de lactobacilos que se adhieren a las paredes interiores de la barrica. La fermentación maloláctica puede durar varias semanas, pero normalmente la espera merece la pena, ya que el producto final suele ser mucho más suave y de calidad que el material de partida, de sabor más fuerte y amargo.

25.10 Minirrevisión

El vino es una bebida fabricada a partir de la fermentación por levadura del zumo de uva. Existen numerosas variedades de vino, cada una con sus propias características regionales y culturales. Durante la fermentación del vino tienen lugar complejos cambios químicos que dejan sustancias químicas añadidas al alcohol en el producto final. Para obtener un producto más suave y consistente, se utilizan fermentaciones secundarias y otros métodos de envejecimiento.

www.medilibros.com

- ¿Qué diferencias existen entre el proceso de producción de un vino tinto y el de un vino blanco?
- ¿Qué ocurre durante la fermentación maloláctica? ¿Por qué se lleva a cabo?

25.11 Elaboración de cerveza, bebidas destiladas y alcohol genérico

La cerveza es una popular bebida alcohólica producida en todo el mundo a partir de la fermentación de cereales y de otras fuentes de almidón, por contraste con las bebidas obtenidas a partir de la fermentación de uva u otros zumos de fruta, como es el caso del vino. Aunque tanto la industria cervecera como la del vino emplean levaduras para catalizar la propia fermentación, la cantidad de alcohol que contienen las cervezas es mucho menor que la del vino, y los niveles de CO_2 suelen ser mucho más altos. Aunque tanto la cerveza como el vino son bebidas fermentadas, estos dos productos son bastante diferentes, ya que cada uno tiene sus propiedades características. Como ocurre con los vinos, las diferencias regionales y culturales que existen entre las distintas variedades de cerveza pueden influir significativamente en el producto final.

Preparación del mosto de cerveza

La fabricación de bebidas alcohólicas obtenidas a partir de granos de malta se denomina en inglés *brewing* (cerveceo) (**Figura 25.19**). Entre las bebidas de malta típicas se encuentran las diversas clases de cerveza rubia (*lager*), ligera (*ale*), fuerte (*porter*) y negra (*stout*). La *malta* se prepara con semillas de cebada germinadas, y contiene enzimas naturales que digieren el almidón de los cereales y lo convierten en azúcar. Como las levaduras cerveceras son incapaces de digerir el almidón, el proceso de malteado es fundamental para la generación de sustratos fermentables.

El líquido fermentable a partir del cual se fabrica la cerveza se prepara mediante un proceso llamado *amasado*. La masa puede estar compuesta únicamente por malta, o también se le pueden agregar otros cereales como el maíz, el arroz o el trigo. La mezcla de ingredientes que forman la masa se cuece y se deja macerar en una gran cuba a temperatura templada. Durante el proceso de calentamiento, las enzimas de la malta digieren el almidón y liberan glucosa, que será fermentada por la levadura. También se liberan proteínas y aminoácidos que pasan al líquido, al igual que otros nutrientes necesarios para el crecimiento de la levadura.

Tras la cocción, la mezcla acuosa, llamada *mosto de cerveza*, se separa de los residuos sólidos por filtración. En esta etapa se añaden al mosto de cerveza las flores femeninas de una planta llamada *lúpulo*. El lúpulo es un ingrediente aromatizante, pero también posee propiedades antimicrobianas que contribuyen a impedir la conta-

(a)

(b)

(c)

(d)

Figura 25.19 Producción de cerveza en una planta industrial. *(a, b)* La caldera de cobre es el lugar en el que el mosto se mezcla con el lúpulo y posteriormente se lleva a ebullición. Desde la caldera, el líquido pasa a grandes depósitos de fermentación, en los que la levadura fermenta la glucosa y da lugar a etanol más dióxido de carbono. *(c)* Si la cerveza es de tipo *lager*, se almacena durante varias semanas a baja temperatura en depósitos donde se produce la sedimentación de las partículas, incluídas las células de levadura. *(d)* Por último, la cerveza se filtra y se coloca en depósitos de almacenamiento. De aquí se extrae para ser envasada en barriles, botellas o latas.

www.medilibros.com

minación en la fermentación posterior. A continuación, el mosto se cuece durante varias horas, generalmente en grandes calderas de cobre (Figura 25.19*a*, *b*). Durante ese tiempo, se extraen los ingredientes deseados del lúpulo, se coagulan y eliminan las proteínas no deseadas que están presentes en el mosto, y se esteriliza el mosto de cerveza. Por último, se filtra el mosto de nuevo, se refrigera y se transfiere al recipiente de fermentación.

El proceso de fermentación

Las cepas de levadura cervecera son principalmente de dos tipos: de fermentación *alta* y de fermentación *baja*. La diferencia fundamental que existe entre ambas es que las levaduras de fermentación alta permanecen distribuidas de forma homogénea en el mosto de fermentación y son transportadas a la superficie por el dióxido de carbono generado durante la fermentación, mientras que las levaduras de fermentación baja se depositan en el fondo del fermentador. Las levaduras de fermentación alta se utilizan en la fabricación de cervezas ligeras (tipo *ale*), mientras que las de fermentación baja se emplean para fabricar cervezas rubias (tipo *lager*). Las levaduras de fermentación baja suelen ser de la especie *Saccharomyces carlsbergensis*, y las de fermentación alta pertenecen a la especie denominada *Saccharomyces cerevisiae*. Las levaduras de fermentación alta suelen fermentar a temperaturas más elevadas (14-23 °C) que las de fermentación baja (6-12 °C), por lo que requieren un período más corto de tiempo para finalizar la fermentación: la fermentación alta tarda de 5 a 7 días, frente a los 8 a 14 días de la fermentación baja.

Una vez que las levaduras de fermentación baja finalizan la fermentación de la cerveza *lager*, ésta se bombea hacia el interior de depósitos más grandes, donde se almacena a baja temperatura (a −1 °C, aproximadamente) durante varias semanas (Figura 25.19*c*). Tras este período de tiempo, la cerveza se filtra y se coloca en depósitos de almacenamiento (Figura 25.19*d*), de los cuales se extrae para ser envasada. La cerveza *ale* de fermentación alta se almacena durante breves períodos de tiempo a temperatura más alta (4-8 °C), lo cual contribuye a desarrollar su aroma característico. En la sección Información adicional titulada «Elaboración de cerveza casera» se ofrecen más detalles sobre el proceso de fabricación de la cerveza.

Las bebidas alcohólicas destiladas

Las **bebidas alcohólicas destiladas** se fabrican calentando un líquido previamente fermentado hasta alcanzar una temperatura que volatiliza la mayor parte del alcohol. A continuación, el alcohol se condensa y se recoge en un proceso denominado *destilación*. Mediante este proceso se obtiene un producto con un contenido de alcohol mucho más alto que el que se consigue mediante la fermentación directa. Prácticamente cualquier líquido alcohólico se puede destilar, y cada uno de ellos da lugar a una bebida destilada con unas características propias. Así, la destilación de las bebidas de malta da lugar a *whisky*, el vino destilado da lugar a *brandy*, la destilación de melaza fermentada produce *ron*, la destilación de patatas o cereales fermentados genera *vodka*, y la destilación de cereales y enebrinas da lugar a *ginebra* (**Figura 25.20**).

El destilado no sólo contiene alcohol, sino también otros productos volátiles procedentes de la fermentación realizada por la levadura, o de los mismos ingredientes. Algunos de estos productos volátiles son aromatizantes deseables, mientras que otros no lo son. Para eliminar estos últimos, el producto destilado suele someterse a un proceso de envejecimiento, habitualmente en barricas de madera de roble. Durante el proceso de envejecimiento se eliminan los productos no deseados, al mismo tiempo que se desarrollan nuevos sabores y aromatizantes deseables. El destilado recién obtenido suele ser incoloro, mientras que el producto envejecido suele ser de color amarillo o pardo (Figura 25.20). Las características del producto final vienen determinadas en parte por el tipo y la duración del proceso de envejecimiento, que en el caso de algunas bebidas destiladas suele ser de 10 años o más.

Etanol genérico

La producción de etanol como *sustancia química genérica* es un importante proceso industrial que hoy en día alcanza los 50.000 millones de litros de alcohol producidos en todo el mundo a partir de la fermentación de diversas materias primas. En Estados Unidos, la mayor parte del etanol se obtiene a partir de la fermentación por levadura de la glucosa obtenida del almidón de maíz. Una vez finalizado el proceso, el etanol se separa del caldo de fermentación por destilación (**Figura 25.21**). En otros países como Brasil, que es un gran productor de etanol, además del maíz se utilizan como materias primas la caña de azúcar, el suero de la leche, la remolacha azucarera e incluso astillas de madera y papel desechado. En el caso de estos últimos, la celulosa de la madera se somete a un tratamiento para que libere la glucosa, que luego se fermentará para convertirla en alcohol. En la producción de eta-

Figura 25.20 **Bebidas destiladas.** La ginebra y el vodka (que aquí no aparecen) son incoloros. El envejecimiento en toneles de madera proporciona a las bebidas destiladas un característico color amarillo o ámbar. De izquierda a derecha: ron negro, brandy y whisky.

Elaboración de cerveza casera

Se pueden elaborar muchos tipos distintos de cerveza en casa, desde la amarga (bitter) inglesa o la rubia suave (pale ale) de la India, hasta la fuerte (bock) alemana o la cerveza negra (stout) de la Rusia imperial. El equipo y las materias primas que se necesitan, incluída la levadura, se pueden comprar en cualquier tienda especializada de fabricantes de vinos y cervezas.

El proceso de elaboración de la cerveza se puede dividir en tres etapas fundamentales: preparación del mosto de cerveza, fermentación, y embotellado y envejecimiento. Las características de la fabricación dependen de una serie de factores, como son la proporción de malta, azúcar, lúpulo y cereal; el tipo de levadura; la temperatura y duración de la fermentación, y la manera en que se realice el proceso de envejecimiento. El fermentador propiamente dicho consiste en un recipiente de vidrio de cuello estrecho, con una capacidad de unos 20 litros y provisto de un cierre hermético. Para obtener una cerveza de buena calidad, es imprescindible esterilizar todo el material que entre en contacto con el mosto: el fermentador, las mangueras, la cuchara de remover y las botellas. Un procedimiento sencillo consiste en utilizar una solución esterilizadora compuesta por 50-60 ml de lejía líquida y 20 litros de agua. Se sumergen en ella todos los utensilios durante 15 minutos, y a continuación se aclaran ligeramente con agua caliente o se dejan secar al aire.

1. **Preparación del mosto** (**Figura 1**). En la elaboración comercial de la cerveza, el mosto se obtiene mediante la extracción de los azúcares fermentables y los nutrientes de la levadura de la malta, el azúcar y el lúpulo. Muchas personas fabrican su propio mosto casero a partir de la malta, pero se puede obtener una cerveza de calidad a partir de un extracto de malta aromatizado con lúpulo, que se vende ya preparado. Los extractos de malta se presentan en una gran variedad de aromas y colores, y la clase de cerveza obtenida depende del tipo de extracto de malta utilizado. Una sencilla receta para elaborar el mosto consiste en utilizar entre 2,25 y 2,75 kg de extracto de malta aromatizado con lúpulo, mezclado con 20 litros de agua. El extracto de malta se hierve en 5 ó 6 litros de agua durante 15 minutos en un recipiente de acero inoxidable o de porcelana esmaltada. Las calderas de aluminio deben evitarse debido a la acción inhibidora de los metales que se desprenden de este tipo de recipientes (Figura 1). A continuación, el mosto caliente se vierte en 14 ó 15 litros de agua fría y limpia, que se ha añadido previamente al fermentador. Cuando la temperatura descienda por debajo de los 30 °C, se añade la levadura para inciar la fermentación.
2. **Fermentación** (**Figura 2**). Se añaden dos paquetes de levadura de cerveza fresca al mosto cuando éste ya está frío, y se cubre el fermentador con un tapón de goma en el que se ha insertado previamente una manguera de plástico. La manguera se debe dirigir a un cubo que contenga agua. Durante los primeros 2 ó 3 días de la fermentación, se liberarán grandes cantidades de dióxido de carbono, que saldrán a través de la manguera. El sifón de agua sirve para evitar que las levaduras silvestres o las bacterias del aire vuelvan a entrar en el fermentador. Después de unos 3 días, la actividad disminuirá a medida que los azúcares fermentables se vayan agotando. En este momento, el tapón de goma y la manguera se deben sustituir por un sencillo cierre

Bryan Burch

Figura 1

Bryan Burch

Figura 2

nol genérico se han utilizado diversas levaduras, como especies de *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* y *Candida*, aunque la mayor parte del etanol fabricado en Estados Unidos se produce mediante *Saccharomyces*.

El etanol se utiliza como disolvente industrial y, cada vez más, como aditivo de la gasolina. En Estados Unidos, el *gasohol* se produce añadiendo etanol a una concentración final del 10% de gasolina sin plomo. La combustión

Elaboración de cerveza casera *(continuación)*

de fermentación. Dicho cierre, que puede adquirirse en cualquier tienda especializada, evita la contaminación al tiempo que permite el escape de la pequeña cantidad de gas que todavía se sigue produciendo. Se deja fermentar la cerveza durante 7 a 10 días, a una temperatura de 10-15 °C o más.

3. **Embotellado y envejecimiento** (**Figura 3**). La cerveza se debe dejar fermentar durante los 7 ó 10 días completos, aunque la vigorosa acción fermentadora haya cesado antes. Para entonces, la mayor parte de la levadura ya debería haber sedimentado en el fondo del fermentador. La cerveza se separa cuidadosamente de la capa de levadura utilizando un sifón, y se introduce el líquido en las botellas de vidrio esterilizadas sin dejar que pase el sedimento. Las botellas empleadas se deben poder cerrar con chapas comunes, que deberán ser nuevas y limpias. Antes de tapar las botellas, se añaden tres cuartas partes de cucharadita —pero no más— de jarabe de maíz a cada botella de 350 ó 465 ml. Una vez cerradas las botellas, se deben colocar invertidas para que se mezcle el jarabe. A continuación, la cerveza se deja envejecer boca arriba a temperatura ambiente, durante al menos 7 ó 10 días. Tras este período de envejecimiento, la cerveza puede almacenarse a una temperatura más baja.

Bryon Burch

Figura 3

La cerveza casera mejora su calidad si se deja envejecer durante varias semanas. El proceso de envejecimiento tiende a suavizar la cerveza y elimina los componentes amargos. Usando el mismo equipo básico de producción, se pueden elaborar muchos tipos diferentes de cerveza, cada uno con su sabor y carácter distintivos —la cita bibliográfica que aparece en la nota a pie de página contiene varias recetas de cervezas—. Las cervezas oscuras, que normalmente contienen más alcohol que las cervezas claras, requieren más malta para su producción y se suelen elaboran a partir de una combinación de distintas maltas, como las que se obtienen de las variedades más oscuras de cereales o las que se han tostado para caramelizar los azúcares y conseguir un color más oscuro. Una típica cerveza ligera americana (**Figura 4**, a la izquierda) contiene aproximadamente un 3,5% de alcohol (en volumen), mientras que la cerveza oscura del tipo Munich (Figura 4, a la derecha) contiene un 4,25% de alcohol, y la cerveza fuerte (bock) contiene aproximadamente un 5% de alcohol.

La tendencia a la «individualización» de la cerveza resulta evidente no sólo por el número creciente de personas que elaboran cerveza casera, sino también por el hecho de que las mayores industrias productoras de cerveza de Estados Unidos están notando la competencia cada vez mayor de las nuevas empresas productoras, que suelen ser muy pequeñas y se llaman microindustrias cerveceras. Aunque la producción total de una microindustria cervecera puede parecer insignificante en comparación con la de las mayores industrias productoras, lo cierto es que sus productos suelen tener un carácter propio y cierto atractivo local. Algunas de estas diferencias se deben a la pequeña escala de su elaboración, pero también al uso de ingredientes, agua, cepas de levadura y procesos de elaboración diferentes.

Barton Speer

Figura 4

Fuente: Burch, B. (1992): Brewing Quality Beers – The Home Brewer's Essential Guidebook, 2nd edition. Joby Books, Fulton, CA.

del gasohol produce una cantidad menor de monóxido de carbono y de óxidos de nitrógeno que la gasolina pura. Por este motivo, el gasohol se vende como un combustible más limpio y como un aditivo de la gasolina, y se puede conseguir fácilmente en Estados Unidos. En dicho país también está aumentando la producción de otros combustibles con etanol, como el E-85 (85% de etanol y 15% de gasolina), que sólo se puede utilizar en motores

Figura 25.21 Planta de producción de etanol en Nebraska (Estados Unidos). En este lugar, la glucosa obtenida a partir del almidón de maíz fermenta por la acción de *Saccharomyces cerevisiae*, formando etanol más dióxido de carbono. El depósito grande que aparece a la izquierda en primer plano es el depósito de almacenamiento de etanol, y los depósitos y tuberías que aparecen al fondo se emplean para destilar el etanol del caldo de fermentación.

adaptados a este combustible. No obstante, el combustible E-85 reduce las emisiones de óxidos de nitrógeno alrededor de un 90%, lo que lo convierte en un medio eficaz para reducir las sustancias más contaminantes que se emiten a la atmósfera y para disminuir la dependencia de las fuentes tradicionales de petróleo.

Se calcula que la producción total de etanol para cubrir la demanda sólo en Estados Unidos superará los 30.000 millones de litros en el año 2012. El mayor inconveniente de la producción de etanol es que, actualmente, producir un litro de etanol requiere un 25% más de energía que la que genera el mismo etanol. No obstante, debido a que el etanol es un producto de carbono recién fijado y no un carbono orgánico enterrado —como es el caso de los combustibles fósiles—, se considera que su uso puede cubrir las necesidades de combustible de una forma más sostenible y respetuosa con el medio ambiente en un futuro inmediato.

25.11 Minirrevisión

La cerveza se fabrica a partir de cereales u otros almidones malteados, y las bebidas destiladas se fabrican mediante la destilación de soluciones fermentadas, como los cereales fermentados o los vinos. El alcohol genérico se utiliza como aditivo para la gasolina y como disolvente industrial.

- ¿Cuáles son las mayores diferencias entre una cerveza rubia (*lager*) y una ligera (*ale*)?
- ¿Cómo puede ayudar la levadura a solucionar los problemas de energía mundiales?

25.12 El vinagre

El vinagre es el producto resultante de la conversión de alcohol etílico en el ingrediente principal, el *ácido acético*, por la acción de las bacterias del ácido acético. Los principales géneros de estas bacterias son *Acetobacter* y *Gluconobacter* (*véase* Sección 15.8). El vinagre se puede obtener de cualquier sustancia que contenga etanol, aunque las materias primas más habituales son el vino, la cerveza, el arroz fermentado o el zumo alcohólico de manzana (la sidra). El vinagre también se puede obtener a partir de una mezcla de alcohol puro y agua, lo que se conoce como vinagre *destilado*. El término «destilado» hace referencia al alcohol a partir del cual se obtiene el producto, y no al vinagre en sí mismo. El vinagre se utiliza como aromatizante en ensaladas y otros alimentos, y debido a su acidez, también se emplea en la elaboración de encurtidos. Las carnes y verduras encurtidas con vinagre de forma adecuada pueden permanecer almacenadas sin refrigeración durante años.

Las bacterias del ácido acético son bacterias estrictamente aerobias que difieren de muchos otros microorganismos aeróbicos en el hecho de que algunas de ellas, como las especies del género *Gluconobacter*, no oxidan sus donadores de electrones orgánicos completamente hasta dióxido de carbono y agua (**Figura 25.22**). Así, cuando se les suministra alcohol etílico como donador de electrones, lo oxidan sólo hasta ácido acético, que pasa a acumularse en el medio. Las bacterias del ácido acético presentan una tolerancia al ácido bastante alta, y el bajo nivel de pH que generan no las mata. Existe una gran demanda de oxígeno durante el crecimiento, y el principal problema de la producción de vinagre consiste en garantizar una aireación suficiente del medio.

La producción de vinagre

Existen tres procesos diferentes para la producción de vinagre. El primero de ellos, llamado *método de la tinaja abierta* o *método de Orléans*, es el proceso original y toda-

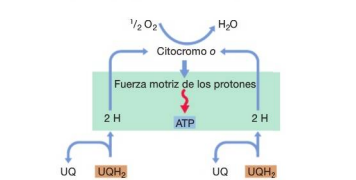


Figura 25.22 Proceso químico de la producción de vinagre. Oxidación del etanol a ácido acético, el proceso fundamental en la producción de vinagre. UQ significa ubiquinona.

vía se utiliza en Francia, que es donde se desarrolló por primera vez. El vino se coloca en tinajas planas con una exposición considerable al aire, y las bacterias del ácido acético se desarrollan formando una fina capa viscosa en la superficie del líquido. Este proceso no es muy eficaz, porque las bacterias sólo entran en contacto con el aire y el sustrato en la superficie.

El segundo proceso se llama *método de goteo* o *método del vinagre rápido*, en el cual se incrementa el contacto entre las bacterias, el aire y el sustrato haciendo gotear el líquido alcohólico sobre ramas o virutas de madera de haya apiladas en una tinaja o columna, mientras una corriente de aire penetra por la parte inferior de ésta y circula en dirección ascendente. Las bacterias crecen en la superficie de las virutas de madera, logrando una exposición máxima tanto al aire como al líquido. La tinaja se llama *generador de vinagre* (**Figura 25.23**), y todo el proceso se desarrolla de forma continua. La vida útil de las virutas de madera en un generador de vinagre es larga, y puede durar de 5 a 30 años según la clase de líquido alcohólico utilizada en el proceso.

Por último, el tercer método para producir vinagre se llama *método de burbujeo*, y consiste básicamente en una fermentación sumergida como la descrita en el caso de la producción de antibióticos. Al disponer de una aireación adecuada, la eficacia del método de burbujeo es alta, y el 90%-98% del alcohol se convierte en ácido acético.

Aunque el ácido acético se puede obtener fácilmente por métodos químicos, el producto microbiano (el *vinagre*) es un producto único cuyo aroma se debe a otras sustancias presentes en el material de partida, o a sustancias producidas durante la fermentación. Es por este motivo que el proceso microbiano, especialmente si se emplea el generador de vinagre, no se ha sustituido por un proceso químico.

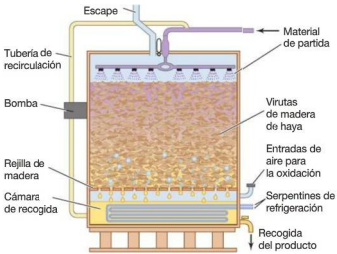


Figura 25.23 Esquema de un generador de vinagre. El zumo alcohólico gotea a través de las virutas de madera, mientras que el aire asciende desde el fondo a través de las virutas. Las bacterias del ácido acético se desarrollan sobre las virutas de madera y convierten el alcohol en ácido acético. La solución de ácido acético se acumula en la cámara de recogida y se recicla a través del generador hasta alcanzar un contenido de ácido acético de al menos 4%, la cantidad mínima que se necesita para que un producto pueda ser considerado «vinagre».

25.12 Minirrevisión

El ingrediente activo del vinagre es el ácido acético, producido por bacterias del ácido acético que oxidan un zumo de fruta que contiene alcohol. La aireación adecuada es el factor más importante a tener en cuenta para garantizar una producción satisfactoria de vinagre.

- ¿Por qué se necesita oxígeno para producir vinagre?
- ¿Por qué el vinagre producido por el método de goteo tiene un sabor distinto al del vinagre producido por el método de burbujeo?

25.13 El ácido cítrico y otros compuestos orgánicos

Algunos ácidos orgánicos obtenidos a partir de microorganismos se producen en grandes cantidades para ser comercializados. Por ejemplo, en la industria alimentaria está muy extendido el uso de *ácido cítrico* como aditivo en bebidas, dulces y otros alimentos, y como gasificante para el pan. El citrato también se utiliza industrialmente para tratar algunos metales, o como aditivo para detergentes en sustitución de los fosfatos, y tiene también diversas aplicaciones farmacéuticas. Otros ácidos producidos de forma comercial a partir de microorganismos son el ácido itacónico, utilizado para fabricar resinas acrílicas, y el ácido glucónico, utilizado como gluconato cálcico para tratar deficiencias de calcio en seres humanos, y como detergente y suavizante de uso industrial. Todos estos ácidos se producen a partir de hongos.

Entre los principales productos químicos orgánicos producidos a partir de bacterias se encuentran la sorbosa, que se produce cuando *Acetobacter* oxida el sorbitol, y se utiliza en la fabricación de *ácido ascórbico* (vitamina C), y el *ácido láctico*, que se emplea en la industria alimentaria para proporcionar acidez a alimentos y bebidas, y se produce a partir de bacterias del ácido láctico (*véase* Sección 16.1).

En este caso, nos centraremos en el proceso de fermentación del ácido cítrico, que tiene una gran importancia desde el punto de vista histórico debido a que fue la primera fermentación industrial aeróbica que se desarrolló. A medida que se fue perfeccionando el proceso de fermentación del ácido cítrico, la tecnología utilizada se aplicó a los procesos de fermentación de la penicilina y de otros antibióticos. Por este motivo, podemos afirmar que buena parte del éxito actual en la producción de antibióticos a gran escala se debe a los trabajos pioneros

UNIDAD 5

realizados con el proceso de fermentación del ácido cítrico. La producción de ácido cítrico es un gran negocio a escala global, con más de 550.000 toneladas producidas anualmente en todo el mundo y un valor total de más de 1.000 millones de dólares americanos.

La producción de ácido cítrico: el enlace con el hierro

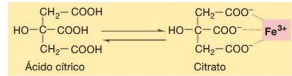
El ácido cítrico se produce microbiológicamente a partir del hongo *Aspergillus niger*. Aunque generalmente se relaciona al ácido cítrico con el ciclo del ácido cítrico, algunos microorganismos como *Aspergillus niger* pueden excretar grandes cantidades de ácido cítrico, puesto que el microorganismo utiliza el citrato como quelante para apoderarse del hierro que capta la célula. La fermentación del ácido cítrico se produce por métodos aeróbicos en grandes fermentadores. La condición fundamental para obtener un gran rendimiento de ácido cítrico es que el medio sea deficitario en hierro (**Figura 25.24**). Por este motivo, el medio utilizado en la producción de ácido cítrico se somete a un tratamiento para eliminar la mayor parte del hierro, mientras que los fermentadores son de acero inoxidable o están revestidos de cristal para impedir que se filtre desde ellos el hierro que se produce debido a los bajos valores de pH originados por la acumulación de ácido cítrico.

La producción de ácido cítrico: medios de cultivo, condiciones y purificación

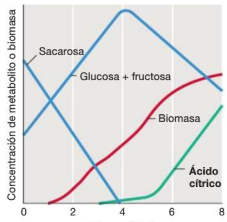
Los medios de cultivo utilizados en la producción de ácido cítrico pueden contener distintas materias primas, como por ejemplo, almidón de patata, hidrolizados de almidón, jarabe de glucosa procedente de almidón sacarificado, sacarosa, jarabe de caña de azúcar, melaza de caña de azúcar o melaza de remolacha azucarera. Si se utiliza almidón, las amilasas (Tabla 25.4), que pueden estar formadas por el hongo productor o añadirse al caldo de fermentación, hidrolizan el almidón y dan lugar a azúcares. Por su parte, los azúcares se catabolizan a través de la vía glucolítica y entran en el ciclo del ácido cítrico, en el que se produce el citrato (*véase* Figura 5.22).

Actualmente, la mayor parte del ácido cítrico se produce en grandes fermentadores. Sin embargo, debido a que *Aspergillus niger* es un microorganismo estrictamente aerobio, para esta fermentación es imprescindible asegurarse de que el cultivo se mantenga aireado de forma ininterrumpida. El ácido cítrico se produce de esta manera como un metabolito secundario típico (Figura 25.2). Durante la fase de crecimiento, la sacarosa se descompone en glucosa y fructosa, y en el momento en que se alcanza la fase estacionaria, quedan grandes cantidades de estas hexosas, que se convierten en ácido cítrico para contrarrestar la falta de hierro (Figura 25.24).

El ácido cítrico se purifica eliminando las células fúngicas mediante la agregación de cal (CaO). Esto provoca que el ácido cítrico precipite en citrato de calcio, el cual se concentra por filtración y se somete a un tratamiento con ácido sulfúrico para formar una solución de ácido cítrico y sulfato cálcico ($CaSO_4$, un compuesto sólido). Tras una segunda filtración para eliminar los cristales de sulfato cálcico, los cristales de ácido cítrico se forman por evaporación.



(a)



(b)

Figura 25.24 Fermentación del ácido cítrico. (*a*) Estructura del ácido cítrico. Obsérvese que la forma ionizada, el citrato, contiene tres grupos de ácido carboxílico que pueden quelar el hierro (Fe^{3+}). (*b*) Cinética de la fermentación del ácido cítrico. La sacarosa se descompone mediante la enzima sucrasa para producir glucosa + fructosa.

edinumes.com

25.13 Minirrevisión

Algunos compuestos químicos orgánicos se producen comercialmente a partir de microorganismos. El compuesto de este tipo más importante desde el punto de vista económico es el ácido cítrico, producido por el hongo *Aspergillus niger*.

- ¿Por qué el ácido cítrico se considera un metabolito secundario?
- ¿Qué relación existe entre el hierro y la producción de ácido cítrico a partir de *Aspergillus niger*?

25.14 La levadura como agente de fermentación y como suplemento alimenticio

Las levaduras son los microorganismos más utilizados en la industria. Además de tener una gran importancia para la fabricación de pan y de bebidas, las levaduras se culti-

van por sus propias células o por sus componentes celulares (**Tabla 25.5**). A diferencia de las industrias cervecera y panadera, en las que la *fermentación* es la principal reacción de interés (*véase* Información adicional: «Los productos de fermentación por levaduras y el efecto Pasteur», Capítulo 5), la producción de células de levadura requiere la *presencia de oxígeno* para alcanzar la producción máxima de material celular. Para la producción de levadura como alimento y como suplemento alimenticio se utilizan casi exclusivamente derivados de *Saccharomyces cerevisiae*, cuya producción industrial estudiaremos a continuación.

La producción de células de levadura

La levadura que se utiliza en panadería o para fines alimentarios se cultiva en grandes fermentadores aireados, en un medio que contiene melaza como ingrediente principal. La melaza contiene grandes cantidades de azúcar que sirven como fuente de carbono y de energía, y también contiene minerales, vitaminas y aminoácidos que son utilizados por la levadura. Para crear un medio completo para el crecimiento de la levadura, se añaden ácido fosfórico (una fuente de fósforo) y sulfato amónico (una fuente de azufre y de nitrógeno).

Los recipientes de fermentación que se emplean para la producción de levadura tienen una capacidad que oscila entre los 40.000 y los 200.000 litros. El proceso comienza con el cultivo de reserva de inóculo puro, que va seguido de varias etapas intermedias en las que se va aumentando el inóculo hasta alcanzar una cantidad adecuada que permita inocular la etapa final (**Figura 25.25a**). Al principio del proceso sólo se añade una pequeña cantidad de melaza, y a medida que el cultivo de levadura crece y consume este azúcar, se va añadiendo más melaza de manera controlada. Esto evita que se produzca un exceso de azúcar y que el proceso metabólico se transforme en fermentación, lo cual conllevaría un menor rendimiento energético.

Una vez finalizado el período de crecimiento, las células de levadura se recuperan del caldo por centrifugación, y se lavan con agua hasta que adoptan un color claro. La levadura de panadería se comercializa de dos maneras: comprimida en pastillas, o en polvo seco. Las *pastillas de levadura prensada* (Figura 25.25*b*) se fabrican mezclando las células de levadura lavadas con agentes emulsionantes, que les confieren una consistencia adecuada y una durabilidad razonable. A continuación, el producto se corta en cubitos o en bloques de diversos tamaños para uso doméstico o comercial, y se mantiene refrigerado.

La levadura que se comercializa en estado seco para panadería se llama *levadura seca activa* (Figura 25.25*b*). Las células de levadura lavadas se mezclan con aditivos y se secan al vacío hasta que están secas. A continuación, se introducen en envases con cierre hermético, como tambores de fibra, cajas de cartón o bolsas, en ocasiones con una atmósfera de nitrógeno que favorece la conservación del producto durante períodos largos. En panadería, la levadura seca activa no tiene tanto poder leudante como la levadura fresca prensada, pero su duración es mucho mayor.

La *levadura alimentaria*, que se comercializa como suplemento alimenticio (Figura 25.25*b*), contiene células de levadura secas que han sido destruidas mediante la aplicación de calor. Las células de levadura son ricas en vitaminas B y en proteínas, excepto en aminoácidos con azufre. Las células de levadura o los extractos de levadura se suelen añadir a la harina de maíz o de trigo para aumentar el valor nutritivo de estos alimentos; además, las células de levadura también se comercializan en gránulos como suplemento alimenticio.

Tabla 25.5 Usos industriales de la levadura y de los productos de la levadura.

Producción de células de levadura
Levadura de panadería para la fabricación de pan
Levadura seca como suplemento alimenticio
Levadura seca como pienso para animales
Productos de la levadura
Extracto de levadura para medios de cultivo
Vitaminas B, Vitamina D
Enzimas para la industria alimentaria; invertasa (sucrasa), galactosidasa
Productos para investigación bioquímica: ATP, NAD$^+$, ARN
Productos de fermentación de la levadura
Etanol para alcohol industrial y como aditivo de la gasolina
Glicerol
Alcohol para bebidas
Cerveza, vino
Bebidas destiladas
Whisky, brandy, vodka, ron

25.14 Minirrevisión

Las células de levadura se cultivan para ser empleadas en las industrias panadera y alimentaria. La levadura comercial se produce a gran escala en fermentadores aireados, utilizando melaza como la principal fuente de carbono y energía.

- ¿Por qué es tan importante mantener las condiciones óxicas adecuadas durante el cultivo de levadura para obtener células?
- ¿Qué tipos distintos de levadura existen en el mercado?

25.15 Las setas como fuente de alimento

Algunos tipos de hongos representan fuentes de alimento para los seres humanos. Entre ellos, los más importantes son las setas, un grupo de hongos filamentosos que for-

UNIDAD 5

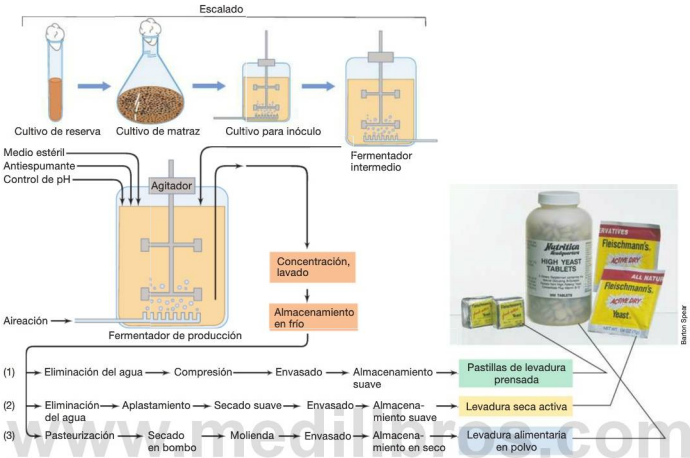


Figura 25.25 **Producción industrial de células de levadura.** *(a)* Fases de la producción. Se añaden agentes antiespumantes al fermentador para impedir que la aireación y la agitación provoquen un exceso de espuma en la superficie del medio. *(b)* Productos habituales de levadura que se encuentran en el mercado: pastillas de levadura, sobres de levadura seca activa y tabletas de levadura alimentaria.

www.medilibros.com

man grandes cuerpos fructíferos comestibles (**Figura 25.26**). Este cuerpo comestible es lo que recibe el nombre de «seta», y se forma gracias a la asociación de un gran número de hifas individuales que forman un micelio. En la Sección 18.19 ya estudiamos la biología de las setas y sus fases de desarrollo (*véase* Figura 18.28).

Cultivo comercial de setas

El champiñón que se cultiva comercialmente en la mayor parte del mundo es el *Agaricus bisporus*, que generalmente se cultiva en «granjas de setas». El microorganismo se cultiva en lechos especiales, generalmente en edificios en los que la temperatura y la humedad están estrictamente controladas, y la exposición a la luz es muy limitada (Figura 25.26*a*). Los lechos se preparan mezclando suelo con un material muy rico en materia orgánica, como puede ser el estiércol de caballo, y a continuación, se inoculan con un cultivo puro del micelio del champiñón, que se ha cultivado en grandes frascos sobre un medio rico en componentes orgánicos.

En el lecho, el micelio crece y se extiende por el sustrato, y al cabo de varias semanas, está listo para el siguiente paso, que consiste en la inducción de la formación de setas. Esto se consigue añadiendo una capa de suelo a la superficie del lecho. La aparición de champiñones en la superficie del lecho se llama *brote* (Figura 25.26*a*), y cuando éste se produce, los champiñones deben recolectarse inmediatamente para que no pierdan su frescor. Tras ser recogidas, las setas se envasan y se mantienen refrigeradas hasta su venta.

Otra variedad de seta muy cultivada es el shiitake, *Lentinus edulus*. Actualmente, en los países occidentales está aumentando la demanda de esta seta, que es la más cultivada en Asia. El shiitake, un hongo que digiere la celulosa, crece en árboles de madera dura y se cultiva sobre troncos pequeños (Figura 25.26*b*). Los troncos se sumergen en agua para hidratarlos, y a continuación, se inoculan insertando trozos de micelio en los pequeños orificios que se les han practicado. El hongo crece por todo el tronco, y al cabo de un año aproximadamente, forma un brote de cuerpos fructíferos (Figura 25.26*b*). El shiitake se considera un hongo más sabroso que el *Agaricus bisporus*, y por este motivo, su precio está aumentando considerablemente.

(a)

(b)

Figura 25.26 **Producción comercial de setas.** *(a)* Un brote de champiñones *Agaricus bisporus*. *(b)* La seta shiitake, *Leninus edulus*.

25.15 Minirrevisión

El alimento más importante que se produce a partir de microorganismos es la seta, que se produce no por su proteína sino por su sabor.

- ¿Por qué se considera que las setas son microorganismos?
- ¿Qué es un brote de seta?

www.medilibros.com

Glosario de términos

Antibiótico β-lactámico: grupo de antibióticos tales como la penicilina, que contienen el anillo β-lactámico de cuatro átomos heterocíclico.

Antibiótico de amplio espectro: fármaco antimicrobiano útil para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades infecciosas.

Aspartamo: edulcorante no nutritivo formado por los aminoácidos aspartato y fenilalanina, este último como éster metílico.

Bebida destilada: bebida que contiene alcohol concentrado por destilación.

Biotransformación: utilización de microorganismos para realizar una reacción química que es más cara o irrealizable por métodos no biológicos.

Cerveceo (*brewing*): elaboración de bebidas alcohólicas tales como la cerveza a partir de la fermentación de cereales malteados.

Enzima inmovilizada: enzima unida a un soporte sólido sobre el que se pasa el sustrato que luego queda convertido en producto.

Escalado: adaptación de un proceso industrial desde las condiciones de un pequeño laboratorio a las de una fermentación comercial a gran escala.

Exoenzima: una enzima producida por un microorganismo y excretada al medio que lo rodea.

Extremoenzima: una enzima capaz de actuar en presencia de una o varias condiciones físicas o químicas extremas; por ejemplo, a altas temperaturas o bajo pH.

Fermentación: en un contexto industrial, cualquier proceso microbiano a gran escala, tanto si se realiza de forma aeróbica como anaeróbica.

Fermentador: el depósito en el que se realiza una fermentación industrial.

Metabolito primario: metabolito que se excreta durante la fase exponencial de crecimiento.

Metabolito secundario: metabolito que se excreta al final de la fase exponencial de crecimiento y durante la fase estacionaria de crecimiento.

Microbiología industrial: la utilización a gran escala de microorganismos para obtener productos con valor comercial.

Penicilina biosintética: forma particular de penicilina que se produce aportando al microorganismo precursores específicos de la cadena lateral.

Penicilina natural: la estructura matriz de la penicilina, producida por cultivos de *Penicillium* sin la adición de precursores de la cadena lateral.

Penicilina semisintética: penicilina obtenida a partir de compuestos producidos por fermentación microbiana y síntesis química.

Planta piloto: fermentador industrial a escala relativamente pequeña, más grande que un fermentador de laboratorio pero más pequeño que un fermentador industrial a gran escala.

Productos químicos genéricos: productos químicos, como el etanol, que tienen un bajo valor monetario y se venden principalmente a granel.

Proteasa: enzima que degrada proteínas por hidrólisis.

Tetraciclina: una clase de antibióticos que contienen el anillo de naftaceno de cuatro átomos.

Preguntas de repaso

1. ¿En qué se diferencian los microorganismos industriales de los microorganismos convencionales? ¿En qué se parecen (Sección 25.1)?
2. Cite tres tipos principales de productos industriales que puedan obtenerse a partir de microorganismos y menciona dos ejemplos de cada uno de ellos (Sección 25.1).
3. Compare los metabolitos primarios y los secundarios, y señala las diferencias existentes entre unos y otros. Mencione un ejemplo de cada uno de ellos. Incluya al menos dos explicaciones de las bases moleculares por las que algunos metabolitos son secundarios en vez de primarios (Sección 25.2).
4. ¿En qué se diferencia un fermentador industrial de un matraz de cultivo de laboratorio? ¿En qué se diferencia un *fermentador* de una *cuba de fermentación* (Sección 25.3)?
5. Describa los problemas que presenta el escalado desde el punto de vista de la aireación, la esterilización y el control del proceso. ¿Por qué es tan importante que un fermentador industrial sea estéril (Sección 25.4)?
6. Cite tres antibióticos que sean importantes desde el punto de vista industrial. Indique el microorganismo productor, la estructura química general y el modo de acción de cada uno de estos antibióticos (Sección 25.5).
7. Compare y señale las diferencias entre la producción de antibióticos β-lactámicos naturales, biosintéticos y semisintéticos (Sección 25.6).
8. ¿Qué metal se debe añadir al medio de fermentación para mejorar considerablemente la producción de vitamina B_{12} (Sección 25.7)?
9. ¿Qué características inusuales debe tener un microorganismo para superproducir y excretar un aminoácido como la lisina (Sección 25.7)?
10. Defina el término biotransformación y mencione un ejemplo. Explique los motivos por los que las reacciones químicas implicadas en las biotransformaciones microbianas se realizan más veces por métodos microbianos que por métodos químicos (Sección 25.8).
11. Cite tres tipos diferentes de enzimas que se produzcan comercialmente. En cada caso, indique el microorganismo que se utiliza en la producción comercial de la enzima, la acción de la misma y su aplicación comercial (Sección 25.9).
12. ¿Qué es el jarabe rico en fructosa? ¿Cómo se produce, y para qué se utiliza en la industria alimentaria (Sección 25.9)?
13. ¿Qué son las extremoenzimas? ¿Qué aplicaciones industriales tienen (Sección 25.9)?
14. ¿En qué se parece la fabricación de la cerveza a la fabricación del vino? ¿En qué se diferencian ambos procesos? ¿En qué se diferencia la producción de bebidas alcohólicas destiladas de la producción de cerveza o vino (Secciones 25.10 y 25.11)?
15. ¿Cuál es el ingrediente activo del vinagre? ¿A partir de qué sustancia se fabrica? ¿Por qué los microorganismos *Gluconobacter* son adecuados para la producción aeróbica de vinagre, mientras que *Escherichia coli* no lo es (Nota: piense en las diferencias metabólicas entre estos dos microorganismos) (Sección 25.12)?
16. Mencione dos motivos por los que se utilizan fermentadores de acero inoxidables en la producción industrial de ácido cítrico (Sección 25.13).
17. ¿Por qué son tan importantes para la industria las levaduras (Sección 25.14)?
18. ¿Qué parte de la seta se consume habitualmente como alimento? ¿Qué contiene esta estructura (Sección 25.15)?

Ejercicios prácticos

1. Como investigador/a de una empresa farmacéutica, le han asignado la tarea de encontrar y desarrollar un antibiótico que sea eficaz frente a un nuevo patógeno bacteriano. Describa el plan que seguiría para desarrollar dicho proceso, desde el aislamiento de un microorganismo productor con bajo rendimiento, hasta la producción industrial del nuevo antibiótico con alto rendimiento.
2. Una botella a medio consumir de un vino tinto «orgánico» (que no contiene conservantes) se vuelve a tapar y se almacena refrigerada durante dos meses. Al probar el vino de nuevo, nota un fuerte sabor amargo que impide que el vino se pueda beber. Utilizando la información que se ofrece en este capítulo y en la Sección 15.8, describa: (a) el proceso mediado por microorganismos que ha tenido lugar en el vino, y (b) un método muy sencillo por el que podría haberse evitado dicho proceso.
3. Desea producir grandes cantidades del aminoácido fenilalanina para utilizarlo en la producción del edulcorante aspartamo. El organismo superproductor que desea utilizar no está sujeto a inhibición por retroalimentación por la fenilalanina, pero está sometido a una represión típica de las enzimas de la biosíntesis de la fenilalanina por un exceso de la misma. Aplicando los principios de la regulación de las enzimas estudiados en el Capítulo 9 y los de la genética bacteriana del Capítulo 11, señale dos clases de mutantes que podría aislar para resolver este problema, y explique las lesiones genéticas que tendría cada uno de ellos.

www.pearsonmadrid.com

26

Biotecnología

I PRODUCTOS DE LA INGENIERÍA GENÉTICA 844

26.1 Principios básicos de la biotecnología **844**

26.2 Expresión de genes de mamíferos en bacterias **844**

26.3 Producción de hormonas **848**

26.4 Otros productos y proteínas de mamíferos **849**

26.5 Obtención de vacunas mediante ingeniería genética **850**

26.6 La prospección de genes **853**

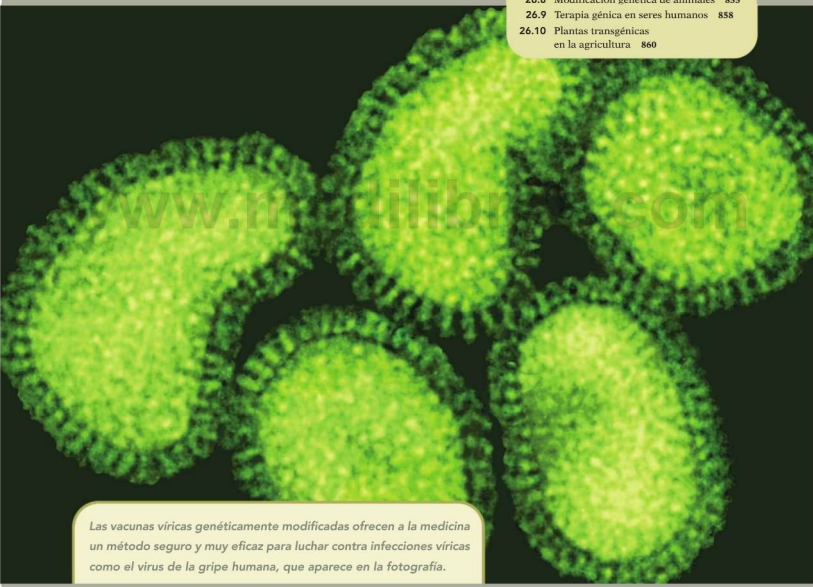
II ORGANISMOS TRANSGÉNICOS 854

26.7 Modificación genética de rutas metabólicas en bacterias **854**

26.8 Modificación genética de animales **855**

26.9 Terapia génica en seres humanos **858**

26.10 Plantas transgénicas en la agricultura **860**



Las vacunas víricas genéticamente modificadas ofrecen a la medicina un método seguro y muy eficaz para luchar contra infecciones víricas como el virus de la gripe humana, que aparece en la fotografía.

La **biotecnología** es el uso de organismos vivos para fines industriales o comerciales. En este sentido, la biotecnología abarca desde el uso de levaduras en la elaboración de bebidas fermentadas, hasta el uso de sanguijuelas para curar heridas, todas ellas técnicas utilizadas por el ser humano desde los albores de la civilización. No obstante, el uso que se hace en la actualidad de la palabra *biotecnología* implica que los organismos utilizados para realizar el proceso han sido modificados genéticamente mediante técnicas de ingeniería genética.

Las técnicas básicas de **ingeniería genética** se describen en el Capítulo 12. En este capítulo nos centraremos en sus aplicaciones prácticas. La capacidad de manipular DNA y controlar su expresión es vital para la biotecnología; en particular, la inserción y expresión de genes foráneos da lugar a **organismos genéticamente modificados (GMOs)** (del inglés: *genetically modified organisms*). En este capítulo, primero recordaremos algunos productos valiosos obtenidos gracias a la biotecnología, tales como hormonas humanas, interferón, vacunas y enzimas industriales. Por último, consideraremos la modificación genética de organismos superiores y sus aplicaciones en agricultura y medicina.

I PRODUCTOS DE LA INGENIERÍA GENÉTICA

En esta sección describiremos sólo algunos de los productos obtenidos a partir de técnicas de ingeniería genética. Existen relativamente pocos productos que hayan tenido un gran éxito comercial, pero todavía se están desarrollando numerosos productos con un futuro prometedor. Por otra parte, las necesidades de la biotecnología han provocado avances parejos en biología molecular a un ritmo tan rápido, que muchos de los obstáculos que tenía la clonación de genes hace sólo diez años son fácilmente superados hoy en día.

26.1 Principios básicos de la biotecnología

Antes de la era de la biotecnología, las personas que padecían diabetes dependían de la insulina extraída de animales para controlar sus niveles de glucosa en sangre. En la mayoría de los casos, esto funcionaba bien, pero había un pequeño porcentaje de pacientes que presentaban reacciones inmunológicas a la versión foránea —porcina o bovina— de insulina. La ingeniería genética hizo posible la producción de insulina humana por medio de bacterias. De hecho, la insulina humana fue el primer producto de ingeniería genética comercializado.

Hoy en día se usa en medicina una gran variedad de hormonas y otras proteínas humanas genéticamente modificadas. Originariamente, estas proteínas humanas se obtenían mediante clonación de genes humanos, los cuales se insertaban en bacterias —generalmente, *Escherichia coli*— que producían la proteína. Sin embargo, esta técnica presentaba muchos problemas. Uno de ellos era que las proteínas foráneas producidas en bacterias debían ser aisladas rompiendo las células bacterianas, y a continuación debían ser purificadas. Los restos de proteínas bacterianas que contaminaban las proteínas deseadas podían provocar una respuesta inmunológica. Además, los restos de lipopolisacárido de la membrana exterior de la célula bacteriana gramnegativa son tóxicos (endotoxina, Sección 28.12).

Otros problemas derivan de la dificultad de expresar genes eucarióticos en bacterias. Esto implica que: (1) los genes deben estar sometidos al control de un promotor bacteriano (Sección 12.13); (2) los intrones (Sección 8.8) deben ser eliminados; (3) la preferencia codónica (Sección 7.13) afecta a la eficacia de la traducción, y (4) muchas proteínas de mamíferos son modificadas después de la traducción, y las bacterias no tienen la capacidad de realizar la mayoría de estas modificaciones.

Como consecuencia, los estudios de biotecnología más recientes se han centrado en expresar las proteínas de mamíferos utilizando hospedadores eucarióticos modificados genéticamente. Para ello, se han utilizado tanto células eucarióticas en cultivo como animales transgénicos. Por ejemplo, se han empleado cabras transgénicas que secretan la proteína de interés en la leche. Actualmente se están realizando ensayos de ingeniería genética en plantas para que éstas expresen proteínas de mamíferos.

En este capítulo mostraremos sólo algunas de las muchas aplicaciones de la ingeniería genética en biotecnología, centrándonos en aquéllas que son importantes para la medicina y la agricultura. Actualmente se están desarrollando muchas otras aplicaciones, tales como la potenciación de fermentaciones industriales (Capítulo 25), el uso de procariotas modificados genéticamente en biorremediación (Sección 24.9) y otras áreas de biotecnología medioambiental.

26.1 Minirrevisión

La ingeniería genética permite clonar y expresar genes eucarióticos en organismos procariotas. Actualmente, se producen mediante esta técnica hormonas como la insulina y otras proteínas humanas.

- ¿Qué ventajas presenta la ingeniería genética en la producción de insulina?

26.2 Expresión de genes de mamíferos en bacterias

Los procedimientos para clonar y manipular genes se han descrito en el Capítulo 12 («Ingeniería genética»). En este capítulo nos interesa la expresión de genes clonados

para obtener un producto útil. Los vectores de expresión (Sección 12.13) se necesitan para expresar genes eucarióticos en bacterias. Sin embargo, siguen existiendo obstáculos incluso cuando se ha clonado un gen de mamífero en un vector de expresión. Una de las dificultades más importantes es la presencia de intrones que alteran la secuencia codificante de muchos genes eucarióticos, especialmente en organismos superiores como los mamíferos (Sección 8.8). Los intrones se deben eliminar para que los genes funcionen; no obstante, los hospedadores procarióticos carecen de mecanismos para hacerlo. Para solucionar este problema, los intrones se eliminan durante el proceso de clonación, antes de que los genes se inserten en el hospedador utilizado en la producción. Generalmente, los genes de mamíferos clonados ya no contienen sus intrones originales, sino que consisten en una secuencia codificante ininterrumpida. En esta sección describiremos los dos métodos principales que se emplean con este fin.

Clonación del gen a partir del RNA mensajero

El método habitual para obtener un gen eucariótico sin intrones consiste en clonarlo a partir de su RNA mensajero (mRNA). Dado que los intrones se eliminan durante el procesamiento de mRNA, el mRNA maduro posee una secuencia codificante ininterrumpida. El mRNA aislado se utiliza para crear DNA complementario (cDNA) mediante la enzima retrovírica llamada transcriptasa inversa. Los tejidos que expresan el gen de interés suelen contener grandes cantidades del mRNA deseado, aunque también producen muchos otros tipos de mRNA. Sin embargo, en algunas situaciones un solo mRNA domina en un tipo de tejido, y la extracción del mRNA de dicho tejido proporciona un punto de partida muy útil para la clonación del gen.

En una célula de mamífero típica, alrededor del 80% o el 85% del RNA es ribosómico; entre el 10% y el 15% está formado por RNA de transferencia, y sólo entre el 1% y el 5% es mRNA. Pese a su escasez, el mRNA eucariótico se identifica por la presencia de las colas de poli-A que se encuentran en el extremo 3′ (Sección 8.8), y esto facilita su obtención. Al pasar un extracto de esta célula por una columna cromatográfica que contenga fragmentos de poli-T unidos a un soporte de celulosa, la mayor parte del mRNA se separa de los otros sRNA mediante el apareamiento específico de las bases A y T. El RNA es liberado de la columna por un tampón bajo en sal, proporcionando así una preparación altamente enriquecida con mRNA.

Una vez se ha aislado el RNA mensajero, es necesario convertir la información genética en DNA. Esta labor se realiza mediante la enzima transcriptasa inversa. Esta enzima, que es esencial para la replicación de retrovirus (Sección 19.15), copia la información del RNA en el DNA en un proceso llamado **transcripción inversa** (**Figura 26.1**). La transcriptasa inversa necesita un iniciador para comenzar la síntesis de DNA —el retrovirus utiliza un tRNA específico como iniciador—. Cuando se crea DNA a partir del mRNA, se utiliza un iniciador complementario con la cola poli-A del mRNA. Este iniciador se hibrida con el mRNA y, a continuación, se añade la transcriptasa inversa.

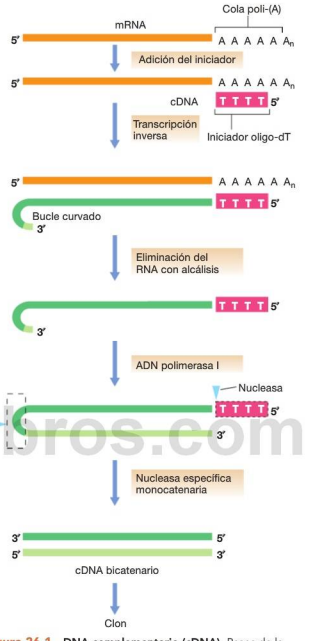


Figura 26.1 DNA complementario (cDNA). Pasos de la síntesis de DNA complementario a partir de un RNA mensajero aislado mediante el uso de la enzima retrovírica transcriptasa inversa. La cola de poli-A es típica del mRNA eucariótico.

La transcriptasa inversa crea un DNA que es complementario con el mRNA. Como muestra la Figura 26.1 el cDNA recién sintetizado tiene un bucle curvado en su extremo, que se forma porque una vez que la enzima completa la copia del mRNA, comienza a copiar el DNA recién sintetizado. Este bucle curvado proporciona un iniciador muy útil para conseguir la síntesis de la segun-

www.libros.com

da cadena (complementaria) de DNA por la DNA polimerasa I, y posteriormente se elimina mediante una nucleasa específica monocatenaria. El resultado es una molécula lineal de DNA bicatenario, en el que una de las cadenas es complementaria con el mRNA original (Figura 26.1).

Este cDNA bicatenario contiene las secuencias codificantes de interés pero carece de intrones, y puede insertarse a continuación en un plásmido o en otro vector para proceder a su clonación. No obstante, al corresponderse con el mRNA, el cDNA carece de un promotor y de otras secuencias reguladoras en dirección 5′ que no se transcriben a RNA (Sección 7.9). En estos casos, se utilizan vectores de expresión especiales con promotores bacterianos y sitios de unión de los ribosomas bacterianos para obtener altos niveles de expresión con los genes clonados de esta manera (Sección 12.13).

Una biblioteca (genoteca) de cDNA es una biblioteca de genes (Sección 12.3) que contiene versiones de cDNA de genes, y está creada a partir del extracto total de mRNA de una célula eucariótica. En la práctica, la genoteca refleja sólo aquellos genes expresados en un tejido específico bajo las condiciones elegidas.

Obtención del gen a través de la proteína

El conocimiento de la secuencia de un gen permite crear una molécula de DNA sintético y complementario para ser usado como sonda, y ésta a su vez puede utilizarse para detectar el gen en una genoteca (Sección 12.2). El conocimiento de la secuencia de aminoácidos de una proteína también se puede utilizar para crear una sonda o incluso para sintetizar un gen completo.

La secuencia de aminoácidos de una proteína se puede emplear para diseñar y sintetizar una sonda de oligonucleótidos que la codifique, como muestra la **Figura 26.2.** Por desgracia, la degeneración del código genético supone una complicación para esta técnica. La mayoría de los aminoácidos están codificados por más de un codón (*véase* Tabla 7.4), y el uso de los codones varía de un organismo a otro. La mejor sección de un gen para crear una sonda es la que codifica una parte de la proteína rica en aminoácidos especificados por un solo codón —por ejemplo, metionina, AUG; triptófano, UGG —o, como máximo, dos codones— por ejemplo, fenilalanina, UUU, UUC; tirosina, UAU, UAC; histidina, CAU, CAC—, puesto que esto aumenta las posibilidades de que la sonda sea prácticamente complementaria con el mRNA o gen de interés. Si no se conoce la secuencia completa de aminoácidos de la proteína, se puede utilizar la información de una secuencia parcial.

En el caso de algunas proteínas pequeñas es conveniente sintetizar el gen completo. Muchas proteínas de mamíferos —tales como las valiosas hormonas peptídicas— se producen a partir de la escisión de la proteasa de precursores mayores. Así pues, para producir una pequeña hormona peptídica como la insulina, puede ser más eficaz construir un gen artificial que codifique sólo

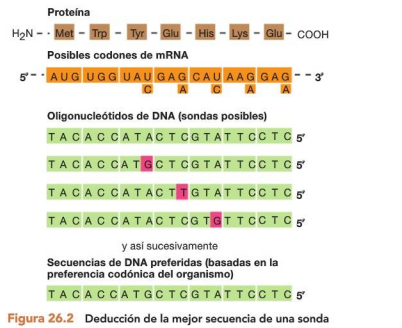


Figura 26.2 Deducción de la mejor secuencia de una sonda de oligonucleótidos a partir de la secuencia de aminoácidos de la proteína. Dado que muchos aminoácidos están codificados por numerosos codones, son posibles muchas sondas de ácido nucleico para una secuencia de polipéptidos determinada. Si se conoce el uso de codones que hace el organismo deseado, se puede seleccionar una secuencia preferida. No es imprescindible conseguir una precisión exacta, puesto que se permite una pequeña proporción de apareamientos erróneos, especialmente en el caso de sondas largas.

la hormona final y no la proteína completa de la que procede. La síntesis química también permite sintetizar genes modificados que pueden crear nuevas proteínas de utilidad. Las técnicas para sintetizar moléculas de DNA se encuentran bien desarrolladas en la actualidad, y permiten sintetizar genes que codifiquen proteínas de más de 200 residuos de aminoácidos de longitud (600 nucleótidos). La principal aplicación que ha tenido el método sintético es la producción de la hormona humana insulina en bacterias. Cabe mencionar que un gen construido carece de intrones, y por tanto, su mRNA no necesita ser procesado. Además, se pueden construir fácilmente promotores y otras secuencias reguladoras dentro del material genético de las secuencias codificantes, y la preferencia codónica (Sección 7.13) está garantizada.

Con el uso de estas técnicas, se ha expresado un gran número de proteínas humanas y víricas distintas con un alto rendimiento, bajo el control de sistemas reguladores bacterianos. Entre dichas hormonas figuran la insulina, la somatostatina, los antígenos víricos y el interferón.

Plegado y estabilidad de las proteínas

En ocasiones, la capacidad para sintetizar una proteína en un nuevo hospedador va acompañada de diversos problemas. Por ejemplo, algunas proteínas son susceptibles de degradación por parte de proteasas intracelulares, por

lo que pueden destruirse antes de ser aisladas. Además, algunas proteínas eucarióticas son tóxicas para los hospedadores procarióticos, de manera que el hospedador del vector de clonación puede morir antes de poder sintetizar una cantidad suficiente del producto deseado. Para solucionar estos problemas, puede necesitarse una mayor modificación genética del hospedador o del vector.

En ocasiones, cuando las proteínas foráneas se sobreproducen de forma masiva, forman cuerpos de inclusión dentro del hospedador. Los cuerpos de inclusión consisten en una proteína insoluble agregada que se ha plegado de forma incorrecta o que está parcialmente desnaturalizada, y suelen ser tóxicos para el hospedador. Aunque los cuerpos de inclusión son relativamente fáciles de purificar debido a su tamaño, la proteína que contienen suele ser muy difícil de disolver y puede estar inactiva. Una posible solución para este problema consiste en utilizar un hospedador que produzca un exceso de chaperonas moleculares que ayuden a conseguir este plegado (Sección 7.17).

Fusión de proteínas para mejorar su purificación

La purificación de proteínas se puede simplificar si la proteína del gen clonado se fabrica como una **proteína de fusión** con una proteína codificada por el vector. Para llevar a cabo este proceso, se fusionan los dos genes para que den lugar a una sola secuencia codificante, y entre ellos se inserta un segmento corto que sea reconocido y escindido por una proteasa producida comercialmente. Una vez realizadas la transcripción y la traducción, se forma una única proteína que es purificada por métodos diseñados para la proteína transportadora. La proteína de fusión se separa en este punto mediante la proteasa, que libera la proteína deseada de la proteína transportadora. Las proteínas de fusión simplifican el proceso de purificación de la proteína deseada porque la proteína transportadora puede tener las propiedades ideales para la purificación.

Existen muchos vectores de fusión para generar proteínas de fusión. La **Figura 26.3** muestra un ejemplo de un vector de fusión que es también un vector de expresión. En este ejemplo, la proteína transportadora es la proteína de unión de la maltosa de *Escherichia coli*, y la proteína de fusión se puede purificar fácilmente mediante métodos basados en su afinidad a la maltosa. Una vez purificada, las dos porciones de la proteína de fusión se separan mediante una proteasa específica (factor Xa, una proteasa cuya función natural es participar en la coagulación de la sangre). En algunos casos, la proteína deseada también puede separarse de la proteína transportadora por métodos químicos específicos, y no mediante la separación por proteasas. Los sistemas de fusión también pueden utilizarse para otros propósitos que no sean la consecución de un aumento de la estabilidad de la proteína. Una de las ventajas de crear una proteína de fusión consiste en que la proteína transportadora puede contener la codificación de la secuencia bacteriana para el *péptido señal*, un péptido rico en aminoácidos hidrofóbicos que permite transportar la proteína a través de la membrana citoplasmática (Sección 7.17). Esto posibilita el desarrollo de un sistema de expresión bacteriano que no sólo sintetiza proteínas de mamíferos, sino que también las secreta. Si se emplean las cepas y los vectores correctos, la proteína deseada puede representar hasta el 40% de las moléculas de proteínas de una célula.

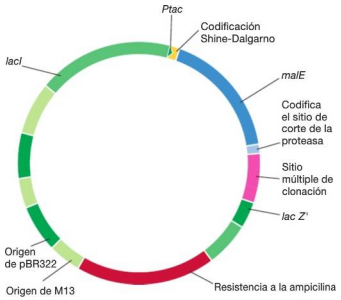


Figura 26.3 Vector de expresión para fusiones. Este vector fue desarrollado por New England Biolabs Company (EEUU). El gen que se va a clonar se inserta en el sitio múltiple de clonación, de manera que quede en el mismo marco que el gen *malE*, que codifica la proteína de unión de la maltosa. Esta inserción desactiva el gen por el fragmento alfa de *lacZ*, que codifica la β-galactosidasa. El gen fusionado se encuentra bajo el control del promotor híbrido *tac* (*Ptac*). El plásmido también contiene un gen *lacI*, que codifica el represor *lac*. Por lo tanto, se debe añadir un inductor a las células con el fin de poner en marcha el promotor *tac*. El plásmido contiene un gen que confiere a su hospedador resistencia a la ampicilina. Además del origen de replicación del plásmido, existe un origen del bacteriófago M13. Por lo tanto, este vector es un fásmido y puede propagarse como plásmido o como fago.

26.2 Minirrevisión

Es posible conseguir niveles muy altos de expresión de genes eucarióticos en organismos procariotas. Sin embargo, es fundamental que los genes expresados no contengan intrones. Esto puede realizarse utilizando la transcriptasa inversa para sintetizar el DNA complementario (cDNA) a partir del RNA mensajero (mRNA) que codifica la proteína de interés. Además, también puede conseguirse sintetizando un gen sintético completo, siempre que se conozca la secuencia de aminoácidos de la proteína que se desea codificar.

A menudo se utilizan fusiones de proteínas para estabilizar o solubilizar la proteína clonada.

- ¿Cuál es la principal ventaja que presenta la clonación de genes de mamífero a partir del mRNA o mediante genes sintéticos, frente a la amplificación y clonación por PCR del gen nativo?
- ¿Cómo se crea una proteína de fusión?

26.3 Producción de hormonas

Hoy en día, las áreas con más peso económico de la biología son la producción de proteínas humanas y el uso de organismos modificados genéticamente en la agricultura. Muchas proteínas de mamífero poseen un gran valor farmacológico, pero habitualmente están presentes en cantidades muy pequeñas en los tejidos normales y, por lo tanto, resulta extremadamente costoso purificarlas. Aun en el caso de que la proteína se pueda producir en cultivos celulares, esto resulta mucho más caro y difícil que realizar cultivos microbianos que puedan producirla con un alto rendimiento. Por este motivo, la industria de la biotecnología dispone de microorganismos modificados genéticamente para producir diferentes proteínas de mamífero. Aunque la insulina fue la primera proteína humana en ser producida de esta manera, el procedimiento presentaba una serie de complicaciones inusuales porque la insulina consiste en dos polipéptidos cortos unidos por enlaces de disulfuro. Un ejemplo más típico es la somatotropina, en la cual nos centraremos aquí.

Somatotropina modificada genéticamente

La hormona del crecimiento, o *somatotropina*, consiste en un único polipéptido codificado por un solo gen. La somatotropina proveniente de una especie de mamífero suele funcionar razonablemente bien en otras especies; de hecho, los animales transgénicos han sido creados expresando genes de somatotropina foráneos, como veremos más adelante.

La ausencia de somatotropina provoca enanismo hereditario. Dado que el gen de la somatotropina humano fue clonado y expresado en bacterias de forma satisfactoria, las niñas y niños que muestran un crecimiento atrofiado pueden tratarse con somatotropina humana recombinante (rHST) (del inglés: *recombinat human somatotropin*). No obstante, el enanismo también puede estar causado por una carencia de receptores de somatotropina; en tal caso, la administración de somatotropina no tiene ningún efecto sobre la o el paciente. Por otra parte, los miembros de tribus pigmeas africanas presentan niveles normales de somatotropina humana, pero raramente miden más de 1,48 m porque sus receptores de la hormona del crecimiento son defectuosos.

El gen de la somatotropina fue clonado como DNA complementario a partir de RNA mensajero, como se ha descrito en la Sección 26.2 (**Figura 26.4**). El cDNA se expresó a continuación en un vector de expresión bacteriano. El principal problema de producir hormonas polipeptídicas relativamente cortas, tales como la somatotropina, es su susceptibilidad a la digestión de la proteasa. Este problema puede contrarrestarse utilizando cepas de hospedadores bacterianos defectivas para diversas proteasas.

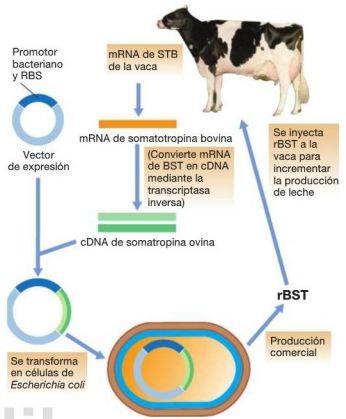


Figura 26.4 Clonación y expresión de la somatotropina bovina. El RNA mensajero para la somatotropina se obtiene de un animal. El mRNA se convierte en DNA complementario mediante el uso de la transcriptasa inversa. La versión de cDNA del gen de la somatotropina se clona a continuación en un vector de expresión bacteriano que contiene un promotor bacteriano y un sitio de unión de los ribosomas (RBS). La construcción se transforma en células de *Escherichia coli* y se produce la somatotropina bovina recombinante (rBST). Las vacas tratadas con rBST presentan un aumento en la producción de leche.

La somatotropina bovina recombinante (rBST) (del inglés: *recombinant bovine somatotropin*) se utiliza en la industria láctea (Figura 26.4). La inyección de rBST en vacas no las hace crecer más, sino que estimula la producción de leche. La razón de esto es que la somatotropina tiene dos sitios de unión: uno de ellos la une al receptor de somatotropina y estimula el crecimiento, mientras que el otro la une al receptor de prolactina y fomenta la producción de leche. La producción excesiva de leche causa problemas a las vacas, como infecciones frecuentes en las ubres y una disminución de su capacidad reproductiva.

Cuando se utiliza la somatotropina para remediar los defectos del crecimiento humano, es deseable evitar efectos secundarios derivados de la acción de la prolactina presente en la hormona, tales como la estimulación de la lactación. La mutagénesis dirigida (Sección 12.9) del gen de la somatotropina se utilizó para modificar genéticamente la hormona de modo que ya no se uniera al receptor de prolactina. Para conseguir este propósito, se modificaron por mutación de la secuencia codificante diversos aminoácidos necesarios para unir la hormona al receptor de prolactina. De esta manera, no solamente es posible crear hormonas humanas genuinas, sino también alterar su especificidad y su actividad para hacer de ellas medicamentos mejores.

26.3 Minirrevisión

La primera proteína humana producida comercialmente mediante el uso de bacterias modificadas genéticamente fue la insulina humana, pero actualmente también se producen muchas otras hormonas y proteínas humanas.

- ¿Por qué la administración de una hormona humana es satisfactoria en algunos casos y en otros no?
- ¿Cuáles son los principales problemas a la hora de producir proteínas en bacterias?

www.medilibros.com

26.4 Otros productos y proteínas de mamíferos

La ingeniería genética también produce muchas otras proteínas de mamífero (**Tabla 26.1**); entre ellas, un surtido de hormonas y proteínas para la coagulación de la sangre y para otros procesos hematológicos. Por ejemplo, el activador tisular del plasminógeno (TPA) (del inglés: *tissue plasminogen activator*) es una proteína que se encuentra en la sangre, y cuya función es localizar y disolver coágulos de sangre en las fases finales del proceso de cicatrización. El TPA presenta una utilidad clínica especial para pacientes con afecciones cardíacas o para cualquier persona que sufra algún trastorno de la circulación debido a una coagulación excesiva. El TPA puede administrarse después de sufrir un ataque al corazón y de la implantación de un *bypass* cardíaco, después de un trasplante o de cualquier otra operación a corazón abierto para impedir el desarrollo de coágulos que representan un serio riesgo para la vida. Las enfermedades cardiovasculares constituyen una de las principales causas de muerte en muchos países desarrollados, especialmente en los Estados Unidos, por lo que el TPA producido microbiológicamente cada vez tiene más demanda.

Los factores de coagulación sanguínea VII, VIII y IX son productos modificados genéticamente de una gran importancia. Al contrario que el TPA, estas proteínas son fundamentales para la *formación* de coágulos de sangre. Los hemofílicos presentan una deficiencia de uno o más factores de coagulación, y pueden tratarse fácilmente con factores de coagulación obtenidos microbiológicamente. Los factores de coagulación recombinantes adquieren más importancia todavía si se tiene en cuenta que, antiguamente, los pacientes hemofílicos eran tratados con extractos concentrados de factores de coagulación procedentes de mezclas de sangre humana, algunas de las cuales estaban contaminadas con virus como el del VIH o la hepatitis C (Secciones 34.12 y 34.15), por lo que los pacientes tenían un alto riesgo de contraer dichas enfermedades. Los factores de coagulación recombinantes han eliminado este riesgo para la salud.

Algunas proteínas pueden actuar como agentes anticancerígenos o como moduladores inmunológicos. Los

Tabla 26.1 Algunos productos terapéuticos fabricados mediante ingeniería genética.

Producto	*Función*
Proteínas de la sangre	
Eritropoyetina	Tratamiento de ciertos tipos de anemia
Factores VII, VIII y IX	Favorecen la coagulación de la sangre
Activador tisular del plasminógeno	Disuelve coágulos de sangre
Uroquinasa	Favorece la coagulación de la sangre
Hormonas humanas	
Factor de crecimiento epidérmico	Cicatrización de las heridas
Hormona estimulante del folículo	Tratamiento de trastornos reproductivos
Insulina	Tratamiento de la diabetes
Factor de crecimiento del nervio	Tratamiento de trastornos neurológicos degenerativos y apoplejía
Relaxina	Facilita el parto
Somatotropina (hormona del crecimiento)	Tratamiento de algunos trastornos del crecimiento
Moduladores inmunitarios	
α-interferón	Agente antivírico y antitumoral
β-interferón	Tratamiento de la esclerosis múltiple
Factor estimulante de la colonia	Tratamiento de infecciones y del cáncer
Interleucina-2	Tratamiento de ciertos tipos de cáncer
Lisozima	Antiinflamatorio
Factor de la necrosis tumoral	Agente antitumoral, tratamiento potencial de la artritis
Enzimas de reemplazo	
β-glucocerebrosidasa	Tratamiento de la enfermedad de Gaucher, un trastorno neurológico hereditario
Enzimas terapéuticas	
DNasa I humana	Tratamiento de la fibrosis quística
Alginato liasa	Tratamiento de la fibrosis quística

más importantes son los interferones, unas proteínas sintetizadas por células animales en respuesta a una infección vírica o a la activación inmunitaria en el caso del gamma interferón (Sección 31.10). Aunque la mayoría de tratamientos con interferones han tenido resultados dispares, todavía se espera que algunas de estas proteínas tengan aplicaciones médicas específicas.

Enzimas

Algunas proteínas de mamíferos fabricadas mediante ingeniería genética no son en realidad hormonas, sino enzimas (Tabla 26.1). Por ejemplo, *la DNasa I humana* se produce y se utiliza para evitar la acumulación de moco que contiene el DNA de pacientes con fibrosis quística. El moco se forma debido a que la fibrosis quística va acompañada de infecciones pulmonares potencialmente letales provocadas por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (Información adicional: «El crecimiento microbiano en el mundo real. Las biopelículas». Capítulo 6). Las células bacterianas forman biopelículas (Sección 23.4) en el interior de los pulmones que dificultan el tratamiento farmacológico. El DNA se libera cuando las células bacterianas lisan, y esto estimula la producción de moco. La DNasa digiere el DNA, lo cual provoca una disminución considerable de la viscosidad del moco. Sólo en los Estados Unidos existen más de 30.000 pacientes con fibrosis quística. El tratamiento de la fibrosis quística con DNasa se aprobó en 1994, y actualmente, las ventas de esta enzima salvadora superan los 100 millones de dólares americanos. Otra enzima producida mediante técnicas de ingeniería genética, la *alginato liasa*, puede resultar eficaz para tratar la fibrosis quística, puesto que degrada el polisacárido producido por las células de *Pseudomonas aeruginosa*. Al igual que el DNA de las células lisadas, este polímero contribuye a formar el moco pulmonar, por lo que su hidrólisis puede aliviar los síntomas de trastornos respiratorios.

No todas las enzimas producidas mediante ingeniería genética tienen usos terapéuticos. Muchas enzimas comerciales (Sección 25.9) también se producen de esta manera. En ocasiones, los beneficios de la ingeniería genética pueden ser bastante inesperados. La renina, que se utiliza en la elaboración del queso, es un producto animal, de manera que las personas que son vegetarianas estrictas (*veganas*) no lo consumen. No obstante, en algunos países se está comercializando con gran aceptación un «queso vegetariano» que contiene renina recombinante producida en un microorganismo.

Otras aplicaciones se derivan de la posibilidad de usar la mutagénesis dirigida (Sección 12.9) sobre genes clonados ya existentes para generar productos con propiedades nuevas. Algunas moléculas —entre ellas, muchos antibióticos— se sintetizan en células mediante rutas bioquímicas que emplean una serie de enzimas (Sección 25.6), las cuales pueden ser modificadas genéticamente para producir formas modificadas de antibióticos.

26.4 Minirrevisión

La obtención de muchas proteínas mediante métodos de purificación tradicionales resulta demasiado cara, debido a que se encuentran en tejidos humanos o animales sólo en pequeñas cantidades. Muchas de estas proteínas se pueden producir en grandes cantidades a partir de un gen clonado en un sistema de expresión adecuado.

- Compare la acción del ATP y de los factores de coagulación VII, VIII y IX.
- Explique qué ventajas presenta el uso de una enzima degradadora del DNA en el tratamiento de infecciones bacterianas tales como la fibrosis quística.

26.5 Obtención de vacunas mediante ingeniería genética

Las vacunas son suspensiones de microorganismos o virus patógenos muertos o modificados, o de compuestos específicos aislados de los mismos, que, cuando se inyectan a un animal, producen inmunidad frente a una enfermedad concreta (Sección 30.5). Con frecuencia, la sustancia que activa la respuesta inmunitaria es una proteína de la superficie, como puede ser la proteína de la cubierta de un virus. La ingeniería genética se puede aplicar de muy distintas maneras para producir vacunas. En la Tabla 30.2 aparece un listado de vacunas que incluye algunas producidas mediante ingeniería genética.

Vacunas recombinantes

Las técnicas de DNA recombinante pueden utilizarse para modificar un patógeno. Por ejemplo, se pueden eliminar los genes patógenos que codifican factores de virulencia, pero dejar aquéllos que contienen productos que crean una respuesta inmunitaria. Esta técnica da lugar a una vacuna recombinante viva atenuada. Por el contrario, se pueden añadir genes de un virus patógeno a otro virus relativamente inofensivo, llamado virus portador, lo cual da lugar a **vacunas de vector**. Este método confiere inmunidad a la enfermedad vírica. De hecho, se pueden combinar los dos métodos: por ejemplo, una vacuna recombinante utilizada para proteger a las aves, tanto frente a la viruela aviar —una enfermedad que reduce el aumento de peso y la producción de huevos—, como frente a la enfermedad de Newcastle —una enfermedad vírica que a menudo resulta letal—. El virus de la viruela aviar, un típico poxvirus (Sección 19.13), se modificó inicialmente eliminando los genes que causaban la enfermedad, pero no los que creaban la inmunidad. A continuación, se añadieron genes que provocaban inmunidad al virus de la enfermedad de Newcastle, lo cual dio lugar a una **vacuna polivalente**: una única vacuna que confiere inmunidad frente a dos enfermedades diferentes.

El empleo del virus de la vacuna para preparar vacunas recombinantes vivas para los seres humanos (Sección 19.13) está muy extendido. Este virus no suele ser patógeno para los humanos, y se emplea desde hace más de 100 años como vacuna contra el virus de la viruela. No obstante, la clonación de genes en el virus de la vacuna requiere de un marcador selectivo, proporcionado por el gen de la timidina quinasa. El virus de la vacuna presenta la peculiaridad de que contiene su propia timidina quinasa, una enzima que puede convertir el análogo base 5-bromodeoxiuridina en un nucleótido que se incorpora al DNA. No obstante, esta reacción es letal, por lo que las células que expresan timidina quinasa —ya sea del genoma de los hospedadores o del genoma de un virus— son aniquiladas por la 5-bromodeoxiuridina.

Los genes que se quieren introducir en el virus de la vacuna se insertan primero en un plásmido de *Escherichia coli* que contiene un fragmento del gen de la timidina quinasa del virus de la vacuna (**Figura 26.5**). El DNA foráneo se inserta en dicho gen, alterándolo. A continuación, este plásmido recombinante se transforma en células animales cuya propia timidina quinasa está inactiva. Las mismas células también se han infectado con virus de la vacuna del tipo salvaje (Figura 26.5). Se produce una recombinación homóloga entre las dos versiones del gen de la timidina quinasa, una en el plásmido y la otra en el virus. De esta manera, algunos virus pueden ganar un gen inactivado de la timidina quinasa junto con su correspondiente fragmento foráneo (Figura 26.5). Las células infectadas por el virus de la vacuna del tipo salvaje, con timidina quinasa activa, son aniquiladas por la 5-bromodeoxiuridina. Las células infectadas por el virus de la vacuna recombinante con un gen de timidina quinasa desactivado pueden crecer hasta producir una nueva generación de viriones (Figura 26.5). Al final de este proceso, se seleccionan los virus cuyo gen de timidina quinasa contenga un fragmento clonado de DNA foráneo.

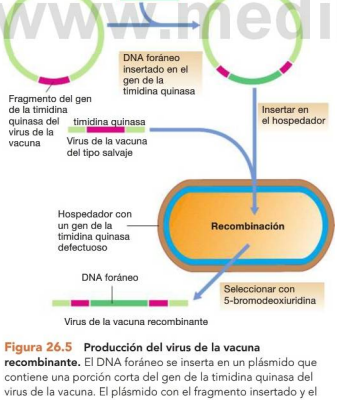


Figura 26.5 Producción del virus de la vacuna recombinante. El DNA foráneo se inserta en un plásmido que contiene una porción corta del gen de la timidina quinasa del virus de la vacuna. El plásmido con el fragmento insertado y el virus de la vacuna del tipo silvestre se colocan en el mismo hospedador, donde se recombinarán. Las células se tratan con 5-bromodeoxiuridina, que aniquila las células que contienen timidina quinasa activa. Sólo sobreviven los virus de la vacuna recombinante cuyo gen de timidina quinasa ha sido desactivado mediante la inserción de DNA foráneo.

El virus de la vacuna no necesita timidina quinasa para sobrevivir. En consecuencia, los virus de la vacuna recombinante todavía pueden infectar células humanas y expresar los genes foráneos que contienen. De hecho, estos virus pueden crearse para que contengan genes de numerosos virus (es decir, son vacunas polivalentes). Actualmente, ya se han desarrollado diversas vacunas de vectores del virus de la vacuna y su uso se ha autorizado en veterinaria, como en el caso de una vacuna antirrábica. Por otra parte, se están realizando ensayos clínicos con muchas otras vacunas de este virus. Pese a ser altamente inmunogénicas en seres humanos, las vacunas del virus de la vacuna son relativamente benignas, por lo que su uso probablemente aumentará en el futuro.

Vacunas de subunidad

No es necesario que las vacunas recombinantes incluyan todo el conjunto de proteínas del organismo patógeno. Las vacunas de subunidad pueden contener sólo una o varias proteínas específicas de un organismo patógeno. En el caso de los virus, se suelen emplear proteínas de la cubierta, puesto que son altamente inmunogénicas. Las proteínas de la cubierta de los virus se purifican y se utilizan en grandes dosis para producir un nivel alto y rápido de inmunidad. Las vacunas de subunidad son muy populares hoy en día porque pueden utilizarse para producir grandes cantidades de proteínas inmunogénicas sin la posibilidad de que los productos purificados contengan todo el organismo patógeno, ni siquiera en cantidades mínimas.

Los pasos para preparar una vacuna de subunidad vírica son los siguientes: fragmentación del DNA vírico mediante enzimas de restricción; clonación de los genes de la proteína de la cubierta del virus dentro de un vector adecuado; creación de promotores, marcos de lectura y sitios de unión de los ribosomas adecuados, y reinserción y expresión de los genes víricos en un microorganismo. En algunos casos, sólo se expresan ciertas porciones de la proteína, en lugar de la proteína en su totalidad debido a que las células y los anticuerpos inmunológicos suelen

www.medil

reaccionar sólo con pequeñas porciones de la proteína. Cuando se emplea este método frente a virus de RNA, el genoma vírico se debe convertir previamente en una copia de DNA complementario.

Cuando *Escherichia coli* se utiliza como hospedador de clonación, las vacunas de subunidad víricas suelen ser muy poco inmunogénicas y no consiguen ofrecer protección en los ensayos de infección con el virus. El problema radica en que, cuando el virus se replica, los hospedadores modifican muchas proteínas de la cubierta del virus en el proceso postraduccional, por lo general mediante la adición de residuos de azúcares (glicosilación). Por el contrario, las proteínas recombinantes producidas por bacterias no están glicosiladas, y parece que la glicosilación es necesaria para que las proteínas sean inmunológicamente activas. Para resolver este problema, se utiliza un hospedador eucariótico. Por ejemplo, la primera vacuna de subunidad vírica autorizada para su uso en seres humanos —contra la hepatitis B— se fabricó utilizando levaduras. El gen que codifica la proteína de la cubierta del virus de la hepatitis B fue clonado y expresado en una levadura. A continuación se produjo una proteína que formó agregados muy similares a los hallados en pacientes infectados con el virus. Estos agregados se purificaron y se utilizaron de forma eficaz para vacunar a las personas contra la infección del virus de la hepatitis B.

Actualmente se están desarrollando vacunas de subunidad para combatir una gran variedad de virus y organismos patógenos. Así, se están utilizando células de insectos y de mamíferos cultivadas como hospedadores para preparar vacunas recombinantes. Como ya hemos visto, para obtener un patrón correcto de glicosilación u otras modificaciones de la proteína inmunogénica, a menudo es importante utilizar un hospedador eucariótico. No obstante, también es posible producir vacunas con una glicosilación correcta en hospedadores eucarióticos relativamente poco relacionados con los seres humanos, tales como células de plantas o de insectos. En los últimos tiempos, se han modificado genéticamente células tanto de levaduras como de insectos mediante la inserción de genes humanos que catalizan la glicosilación. Los hospedadores resultantes añaden patrones de glicosilación de tipo humano a las proteínas que producen.

El futuro de las vacunas recombinantes

Las vacunas recombinantes modificadas genéticamente pueden convertirse en algo habitual por varios motivos. En primer lugar, estas vacunas son más seguras que las vacunas normales atenuadas o muertas, porque es imposible transmitir la enfermedad con la vacuna. También son más reproducibles, debido a que su construcción genética puede controlarse minuciosamente.

Además, las vacunas recombinantes generalmente pueden prepararse de forma mucho más rápida que las que se producen mediante métodos más tradicionales. Para preparar vacunas para algunas enfermedades, como la gripe (Sección 34.9), el tiempo es un factor esencial. Las vacunas recombinantes producidas con genes clonados de la hemaglutinina del virus de la gripe pueden fabricarse en sólo dos o tres meses, por contraste con los seis o nueve meses que se necesitan para fabricar una vacuna atenuada intacta contra la gripe. El tiempo de preparación puede ser un factor muy importante a la hora de responder a una epidemia causada por una nueva cepa de un virus, una causa habitual de muchos brotes de gripe. Por último, las vacunas recombinantes suelen ser mucho más baratas que las que se producen por métodos tradicionales (Sección 30.5).

Vacunas de DNA

Aunque algunas vacunas tradicionales y recombinantes han conseguido combatir de forma tremendamente satisfactoria numerosas enfermedades infecciosas, en algunos casos resulta difícil desarrollar vacunas que garanticen el éxito. Sin embargo, actualmente se ha desarrollado un método revolucionario para producir **vacunas de DNA**, también conocidas como *vacunas genéticas*.

Las vacunas de DNA utilizan el genoma del patógeno en cuestión para conseguir la inmunización. Este material genético puede encontrarse en forma de fragmentos definidos del genoma del patógeno, o de genes específicos que codifican proteínas inmunogénicas. Dichos genes se clonan en un plásmido o un vector vírico y se administran mediante una inyección. Cuando las células del animal absorben el DNA, éste se puede degradar o se puede transcribir y traducir. Si ocurre esto último, y la proteína producida es inmunogénica, el animal estará inmunizado frente al patógeno. Así pues, la respuesta inmunológica se produce contra la proteína codificada por el DNA de la vacuna. El DNA en sí no es inmunogénico.

Algunas vacunas de DNA han sido sometidas a ensayos clínicos, como es el caso de las vacunas contra el VIH, la hepatitis B y diversos tipos de cáncer. Por causas que se desconocen, las vacunas de DNA con las que se ha ensayado no han resultado ser lo bastante potentes como para proporcionar una protección inmunológica a los seres humanos, aunque se espera que las mejoras que se consigan en el futuro permitan su uso en medicina. De todos modos, las vacunas de DNA tienen autorización para ser utilizadas en animales —por ejemplo, la vacuna contra el virus del Nilo occidental para los caballos—.

Al contrario de lo que ocurre con las vacunas víricas, las vacunas de DNA eluden la vigilancia del sistema inmunitario del hospedador porque los ácidos nucleicos son muy poco inmunogénicos. Esto impide que el animal sufra efectos autoinmunológicos en los que los anticuerpos y las células inmunológicas ataquen a los hospedadores (Sección 30.7). Las vacunas de DNA presentan la ventaja de que son seguras y baratas. Además, el DNA es más estable que las vacunas vivas, lo cual hace innecesaria su refrigeración, un aspecto práctico a tener en cuenta a la hora de utilizar vacunas en países en desarrollo.

26.5 Minirrevisión

Se han producido numerosas vacunas recombinantes, mientras que otras están siendo desarrolladas actualmente. Como ejemplos de vacunas recombinantes, cabe mencionar las vacunas recombinantes vivas, las de vector, las de subunidad y las de DNA.

- Explica por qué las vacunas recombinantes pueden ser más seguras que algunas vacunas producidas por métodos tradicionales.
- ¿Cuáles son las principales diferencias entre una vacuna recombinante viva atenuada, una vacuna de vector, una vacuna de subunidad y una vacuna de DNA?

26.6 La prospección de genes

Del mismo modo que el contenido genético de un organismo se conoce con el nombre de *genoma*, el conjunto de genomas de un medio natural se conoce con el nombre de *metagenoma*. Los medios naturales complejos, como el suelo fértil, contienen un vasto número de bacterias no cultivadas y otros microorganismos, junto con los virus que los parasitan (Sección 13.13). Si se consideran en su conjunto, estos microorganismos contienen a su vez cantidades ingentes de genes nuevos no identificados. De hecho, la mayor parte de la información genética que existe en la Tierra se encuentra en los microorganismos y virus que no han sido cultivados. La genómica medioambiental se describe ampliamente en las Secciones 13.13 y 22.6.

Minería genómica medioambiental

La *minería genómica* es el proceso mediante el cual se aíslan genes nuevos potencialmente útiles procedentes del medio ambiente, sin haber cultivado previamente los organismos que los contienen. En lugar de hacer cultivos el DNA o el RNA, son aislados de muestras obtenidas directamente del medio ambiente y son clonados en vectores adecuados para construir una biblioteca genómica (**Figura 26.6**). El ácido nucleico contiene genes que proceden de organismos que no han sido cultivados, así como DNA procedente de organismos muertos que se ha liberado al medio ambiente y todavía no se ha degradado. Si se aísla RNA, se debe transformar en una copia de DNA mediante la transcriptasa inversa (Figura 26.1). No obstante, el aislamiento de RNA presenta inconvenientes, puesto que es un procedimiento más lento y limita la biblioteca genómica a los genes que se transcriben y que son, por tanto, activos en el medio natural del que se han extraído las muestras.

La biblioteca genómica se criba a continuación mediante las mismas técnicas que cualquier otra biblioteca de clones. La metagenómica ha identificado genes medioambientales nuevos que codifican enzimas que degradan sustancias contaminantes y enzimas que sintetizan nuevos antibióticos. Hasta el momento, se han aislado por este método diversas lipasas, quitinasas, esterasas y otras enzimas degradativas con rangos de sustrato nuevos y otras propiedades. Dichas enzimas se utilizan en diversos procesos industriales con diferentes propósitos (Sección 25.9). Las enzimas que presentan una mejor resistencia a las condiciones industriales, como son la alta temperatura, un pH alto o bajo, y las condiciones oxidantes, son muy valiosas y están muy solicitadas.

Al contrario de lo que ocurre con los genes individuales, el descubrimiento de genes que codifican rutas metabólicas completas, como los utilizados en la síntesis de antibióticos, requiere de vectores tales como los cromosomas artificiales bacterianos (BAC) (del inglés: *bacterial artificial chromosomes*), en los que se puedan insertar fragmentos largos de DNA (Sección 12.15). Los BAC son especialmente útiles para seleccionar muestras de ecosistemas ricos, como el suelo, donde existe una vasta cantidad de genomas desconocidos y, por tanto, un gran número de genes por seleccionar.

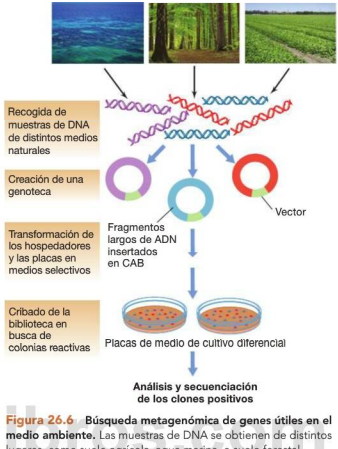


Figura 26.6 Búsqueda metagenómica de genes útiles en el medio ambiente. Las muestras de DNA se obtienen de distintos lugares, como suelo agrícola, agua marina, o suelo forestal. A continuación, se crea una biblioteca de clones y se criba en busca de genes de interés. Los genes potencialmente útiles se analizan en profundidad.

Prospección de genes dirigida

La metagenómica se puede utilizar para cribar directamente enzimas con ciertas propiedades. Si se desea obtener una enzima o una ruta completa capaz de degradar una determinada sustancia contaminante a altas temperaturas, el primer paso consiste en encontrar un medio ambiente caliente contaminado con el compuesto deseado. Suponiendo que los microorganismos capaces de degradar la sustancia estén presentes en dicho medio, lo cual es una hipótesis razonable, se procede a aislar y clonar el DNA del medio ambiente. Los hospedadores bacterianos que contengan los clones se seleccionan para cultivarlos en el compuesto deseado. Es conveniente realizar este paso en un hospedador de *Escherichia coli*, suponiendo que las enzimas termoestables todavía puedan mostrar actividad a 40 °C —lo cual suele ocurrir—. Una vez identificados los candidatos, los extractos de enzima se pueden someter a ensayos *in vitro* a altas temperaturas. En los últimos tiempos, se han desarrollado sistemas de clonación de termófilos que permiten realizar una selección directa a altas temperaturas. Éstos se basan en vectores de expresión que pueden replicarse tanto en *Escherichia coli* como en el termófilo *Thermus thermophilus*, presente en aguas termales.

26.6 Minirrevisión

En metagenómica, los genes para productos útiles se clonan directamente a partir de muestras medioambientales, sin aislar previamente los organismos que los contienen.

- Explique por qué la clonación metagenómica produce grandes cantidades de genes nuevos.
- ¿Qué ventajas e inconvenientes presenta el aislamiento medioambiental de RNA en comparación con el de DNA?

II ORGANISMOS TRANSGÉNICOS

Un *transgén* es un gen de un organismo que se ha insertado en otro organismo distinto. Por tanto, un **organismo transgénico** es aquél que contiene un transgén. También se les llama organismos genéticamente modificados (GMO), aunque estrictamente hablando, este término se refiere a los organismos modificados genéticamente, contengan o no DNA foráneo. No obstante, «GMO» y «organismo transgénico» se suelen utilizar indistintamente, especialmente en el ámbito de la agricultura.

Por una parte, la ingeniería genética de organismos superiores no es en realidad microbiología, pero por otra parte, la mayor parte de la manipulación del DNA se realiza utilizando bacterias y plásmidos mucho antes de que el transgén se inserte finalmente en la planta o el animal. El empleo de vectores basados en virus está muy extendido en la ingeniería genética de organismos superiores, por lo que se debe poner un énfasis especial en los sistemas microbianos que han contribuído a la manipulación genética de plantas y animales. No obstante, antes de estudiar los animales y plantas transgénicos, describiremos este método de ingeniería genética y veremos cómo se pueden modificar bacterias a gran escala, no solamente para que produzcan una proteína de más, sino para crear nuevas rutas metabólicas completas.

26.7 Modificación genética de rutas metabólicas en bacterias

Pese a que las proteínas son moléculas grandes, expresar una única proteína en grandes cantidades codificada en un solo gen es relativamente fácil. Por el contrario, los metabolitos pequeños suelen formarse en rutas bioquímicas que emplean numerosas enzimas. En tales casos, no sólo se necesitan numerosos genes, sino que además, su expresión debe regularse de una manera coordinada.

La **modificación genética de rutas metabólicas** es el proceso por el cual se crea una ruta metabólica nueva o mejorada mediante el uso de genes de uno o más organismos. Hasta el momento se ha conseguido modificar y mejorar algunas rutas metabólicas ya existentes en lugar de crear rutas totalmente nuevas (*véase* Información adicional: «La biología sintética y la fotografía bacteriana»). Debido a que la modificación genética de las bacterias resulta más sencilla que la de los organismos superiores, la modificación de rutas metabólicas se ha llevado a cabo principalmente en estos microorganismos. Los microorganismos modicados genéticamente están acostumbrados a sintetizar productos, tales como alcohol, disolventes, aditivos alimentarios, colorantes y antibióticos. También pueden utilizarse para degradar residuos agrícolas, sustancias contaminantes, herbicidas y otros materiales tóxicos o no deseados.

Modificación genética en la producción de añil

Un ejemplo de modificación genética de rutas metabólicas es la producción de añil por *Escherichia coli* (**Figura 26.7**). El añil es un colorante muy importante utilizado en el tratamiento de la lana y el algodón. Los pantalones tejanos, por ejemplo, están hechos de algodón teñido con añil. En la antigüedad, el añil y otros colorantes relacionados se extraían de algunos caracoles marinos. Hace unos años, el añil se extraía de plantas, pero hoy en día este colorante se sintetiza químicamente. No obstante, la demanda de añil por parte de la industria textil ha estimulado la creación de nuevos métodos, como el biotecnológico, para sintetizarlo.

El añil se basa en el sistema de anillo indólico (Figura 26.7), cuya estructura se asemeja a la del naftaleno. En consecuencia, las enzimas oxigenasas (Sección 21.14) que oxigenan el naftaleno también oxidan el indol for-

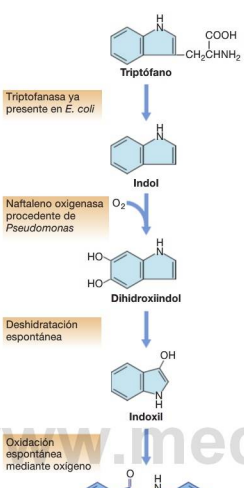


Figura 26.7 Ruta metabólica modificada genéticamente para la producción de añil. *Escherichia coli* expresa triptofanasa de forma natural, y ésta a su vez transforma el triptófano en indol. La naftaleno oxigenasa (que originariamente procedía de *Pseudomonas*) transforma el indol en dihidroxiindol, que se deshidrata espontáneamente y forma indoxil. Al ser expuesto al aire, el indoxil da lugar a añil, que es azul.

mando su derivado dihidróxido, que posteriormente se oxida espontáneamente al aire y da lugar a añil, un pigmento azul intenso. Las enzimas que oxigenan el naftaleno se encuentran en diversos plásmidos presentes en *Pseudomonas* y otras bacterias del suelo. Cuando los genes de dichos plásmidos se clonaron en *Escherichia coli*, las células se tornaron azules debido a la producción de añil: las células azules habían tomado los genes para la enzima naftaleno oxigenasa.

Pese a que sólo se clonó el gen de la naftaleno oxigenasa durante la modificación genética de la ruta metabólica, la ruta metabólica del añil consta de cuatro pasos, dos enzimáticos y dos espontáneos (Figura 26.7). La enzima que realiza el primer paso, la transformación de triptófano en indol, se llama triptofanasa y se encuentra de forma natural en *Escherichia coli*, por lo que la producción de añil requiere el suministro de triptófano. Esto se puede realizar mediante la fijación de células de la recombinante *Escherichia coli* a un soporte sólido en un biorreactor, y el goteo posterior de una solución de triptófano procedente de residuos de proteínas, o de otras fuentes, sobre las células en suspensión. En este tipo de procesos industriales realizados con células inmovilizadas (Sección 25.9), se suele hacer circular el material sobre las células repetidas veces, lo cual provoca un aumento constante de los niveles de añil, hasta que el colorante se puede recoger.

26.7 Minirrevisión

La modificación genética de rutas metabólicas consiste en ensamblar numerosos genes que codifican las enzimas para desarrollar una ruta metabólica. Estos genes provienen de uno o más organismos, pero deben ser clonados y expresados de forma sincronizada.

- Explique por qué la modificación genética de rutas metabólicas es más difícil que la clonación y expresión de una hormona humana.
- ¿Cómo se ha modificado *Escherichia coli* para producir añil?

www.medilibros.com

26.8 Modificación genética de animales

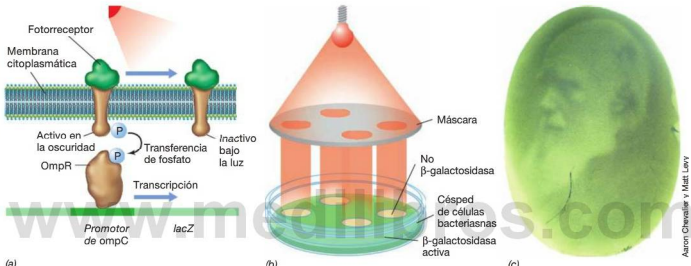
Mediante la técnica de microinyección, que permite introducir genes clonados en óvulos fertilizados, seguida de la recombinación del DNA foráneo en el genoma, se han logrado incorporar y expresar numerosos genes foráneos, tanto en animales de laboratorio como en las principales especies animales de uso comercial. Los primeros animales transgénicos que se desarrollaron fueron ratones, que fueron modificados para servir de modelo en el estudio de la fisiología de los mamíferos. Los genes de la hormona del crecimiento de las ratas y los seres humanos fueron modificados para su expresión posterior, y se insertaron después en ratones, donde fueron expresados de forma satisfactoria. Obviamente, se obtuvieron como resultado ratones más grandes. En los últimos tiempos, se han modificado genéticamente animales de granja para mejorar la producción o para evitar una serie de problemas prácticos, tales como la contaminación causada por los residuos animales.

Animales transgénicos para la producción de fármacos *(pharming)*

Los animales de granja se pueden utilizar para producir proteínas de valor farmacológico, en un proceso llamado *pharming* (término originado por la unión de *pharmaceu-*

La biología sintética y la fotografía bacteriana

El término «biología sintética» se refiere al uso de la ingeniería genética para crear nuevos sistemas biológicos a partir de partes biológicas que suelen proceder de diferentes organismos. El objetivo primordial de la biología sintética es sintetizar una célula viable a partir de diversos componentes, algo que posiblemente se hará realidad en un futuro inmediato. En 2007 se dio un paso fundamental en esta dirección, cuando un equipo formado por profesionales de la biología sintética transfirió el cromosoma completo de una especie de bacteria a otra especie bacteriana diferente. A continuación, ésta última adquirió todas las



www.medilibros.com

Figura 1 **Fotografía bacteriana.** (a) *Células de* Escherichia coli *detectoras de luz que han sido modificadas genéticamente utilizando componentes de la cianobacteria y de* Escherichia coli. *La luz roja inhibe la transferencia de fosfato (P) a la proteína de unión del DNA OmpR; la proteína OmpR fosforilada es necesaria para activar la transcripción de lacZ (lacZ codifica la β-galactosidasa).* (b) *Preparación de una fotografía bacteriana. Las zonas opacas de la mascarilla corresponden a las zonas en las que la β-galactosidasa está activada y, por tanto, corresponderán a las zonas oscuras de la imagen final.* (c) *Fotografía bacteriana de un retrato de Charles Darwin.*

tical y *farming*). Los animales transgénicos son especialmente útiles para producir proteínas humanas cuya acción requiere modificaciones postraduccionales específicas, como en el caso de las enzimas de coagulación sanguínea. Los microorganismos o las plantas no pueden producir de forma activa las proteínas de este tipo.

Algunas proteínas se han modificado genéticamente para que sean secretadas en grandes cantidades a la leche de los animales, lo cual presenta diversas ventajas. En primer lugar, esto permite producir grandes volúmenes de proteína de una manera más sencilla y barata que por medio de cultivos bacterianos. En segundo lugar, ya existe una industria de procesamiento de la leche, de manera que apenas se necesita tecnología nueva para purificar las proteínas. En tercer lugar, la leche es un producto natural tolerado por la mayoría de los seres humanos, de manera que no es necesario purificarla para eliminar proteínas bacterianas posiblemente tóxicas. Las cabras han demostrado ser de utilidad en la producción de numerosas proteínas humanas, tales como el activador tisular del plasminógeno, que se utiliza para disolver coágulos de sangre (Sección 26.3).

Animales transgénicos para la investigación médica

Los animales transgénicos han devenido cada vez más importantes en la investigación biomédica básica para estudiar la regulación genética y la biología del desarrollo. Por ejemplo, los llamados ratones *knockout*, a los que se les han desactivado las dos copias de un gen concreto mediante ingeniería genética, se utilizan para analizar genes activos en la fisiología animal. En el caso de los ratones

propiedades de la especie cuyo genoma se le había insertado.

Un ejemplo interesante de biología sintética a pequeña escala es el uso de células de *Escherichia coli* modificadas genéticamente para producir fotografías. Las bacterias modificadas genéticamente se cultivan en césped en placas de agar. Cuando se proyecta una imagen sobre este césped, las bacterias de las zonas oscuras producen un pigmento oscuro, mientras que las bacterias de las zonas más claras no producen el pigmento. El resultado es una fotografía muy básica en blanco y negro de la imagen proyectada.

Para construir *Escherichia coli* fotográfica fue necesario modificar genéticamente e insertar tres módulos genéticos: un módulo detector de luz y señalizador; una ruta para convertir el hem presente en Escherichia coli en el pigmento fotorreceptor ficocianobilina, y una enzima codificada por un gen cuya transcripción pudiera activarse y desactivarse para producir el pigmento oscuro (**Figura 1a**). El detector de luz es una proteína de fusión, cuya parte exterior es la parte detectora de luz del fitocromo procedente de la cianobacteria *Synechocystis*. Ésta necesita un pigmento especial que absorba la luz, la ficocianobilina, que no produce *Escherichia coli;* de ahí la necesidad de instalar la ruta para la producción de este pigmento.

La parte interior del detector de luz es el dominio transmisor de señales de la proteína sensora EnvZ procedente de *Escherichia coli*. La proteína EnvZ forma parte de un sistema regulador binario en el que el otro componente es la proteína de unión del DNA llamada OmpR (Sección 9.5). Generalmente, EnvZ activa la proteína OmpR que, a su vez, activa los genes diana uniéndolos al promotor. En el caso que nos ocupa, la proteína híbrida se ha diseñado para activar la proteína OmpR en la oscuridad, pero no bajo la luz. Esto se debe a que la fosforilación de OmpR es necesaria para la activación, y la luz roja hace que la proteína sensora entre en un estado en el que se inhibe la fosforilación. En consecuencia, el gen diana se desactiva bajo la luz y se activa en la oscuridad. Cuando se coloca una máscara sobre la placa Petri que contiene césped de *Escherichia coli* modificada genéticamente (Figura 1b), las células que están en la oscuridad producen un pigmento que no producen las células que están en la parte expuesta a la luz. De esta manera se desarrolla una «fotografía» de la imagen de la mascarilla (Figura 1c).

El pigmento producido por las células de Escherichia coli es el resultado de la actividad de una enzima, la β-galactosidasa, que se encuentra de forma natural en este microorganismo y que actúa en el metabolismo de la lactosa. El gen diana, lacZ, codifica esta enzima. En la oscuridad, el gen lacZ se expresa y se produce β-galactosidasa, de manera que no se libera colorante negro. La enzima parte un análogo de la lactosa llamado S-gal, que está presente en el medio de cultivo, para que libere galactosa y un colorante oscuro. Bajo la luz, el gen lacZ no se expresa, no se produce β-galactosidasa, y por tanto no se libera colorante negro. La diferencia de contraste entre las células que producen el tinte y las que no lo hacen genera la fotografía bacteriana (Figura 1c).

www.elsolucionario.com

knockout que carecen de las dos copias del gen de la miostatina, una proteína que ralentiza el crecimiento muscular, estos animales desarrollan músculos enormes. Por el contrario, los ratones transgénicos que sobreproducen miostatina presentan una masa muscular reducida. Se han desarrollado muchas otras cepas de ratones *knockout* para su uso en la investigación médica, y en 2007, el desarrollo de esta importante herramienta genética fue reconocido con el premio Nobel.

Uso de transgénicos para mejorar el ganado y otros animales para el consumo humano

El ganado se puede modificar genéticamente para mejorar su productividad e incrementar su valor nutritivo y su resistencia frente a las enfermedades. En ocasiones, se produce ganado transgénico que no necesariamente tiene un valor comercial, sino que sirve para demostrar la posibilidad de llevar a cabo ciertas técnicas de ingeniería genética. Éste es el caso de algunos cerdos que han sido modificados genéticamente para expresar el gen marcador que codifica la proteína verde fluorescente (Sección 12.10) y que, como era de esperar, son de color verde (**Figura 26.8*a***).

Una técnica para mejorar la nutrición del ganado consiste en insertar en los animales rutas metabólicas completas procedentes de bacterias. Por ejemplo, los genes que codifican las enzimas de la ruta metabólica para la producción de metionina, un aminoácido necesario para los animales, podrían eliminar la necesidad de este aminoácido en la dieta del animal. Una técnica que ha tenido un éxito notable consiste en insertar a los cerdos un gen de *Escheria coli* que ayuda a degradar el fosfato orgánico.

(a)

(b)

Figura 26.8 **Animales transgénicos.** *(a)* Un lechón (a la izquierda) que ha sido modificado genéticamente para expresar la proteína verde fluorescente y que, por tanto, emite este color bajo la luz azul. Los lechones control aparecen en el centro y a la derecha. *(b)* Salmón de rápido crecimiento. El salmón *AquAdvantage*™ (arriba) fue modificado por la compañía Aqua Bounty Technologies (Canadá). Tanto el pescado transgénico como el especimen control tienen 18 meses, pero pesan 4,5 kg y 1,2 kg, respectivamente.

El resultado es el Enviropig™, un cerdo que ya no necesita suplementos de fosfato en su alimentación. Pero lo que resulta más importante es que el estiércol procedente de estos animales tiene un bajo contenido de fosfato, lo cual impide que se produzcan filtraciones de fosfato procedentes de depósitos de estiércol a corrientes de agua. Semejante afluencia de nutrientes inorgánicos podría provocar el florecimiento de las algas y la extinción de los peces (Sección 23.6).

También se han modificado genéticamente cerdos para incrementar sus niveles de ácidos grasos omega-3. Los ácidos grasos omega-3 reducen la posibilidad de sufrir enfermedades cardiovasculares, pero sólo se encuentran en cantidades insignificantes en pescados como el salmón, y en algunos otros alimentos. Para crear cerdos transgénicos con un perfil de ácidos grasos modificado, se les insertó a los cerdos un gen del nemátodo *Caenorhabditis elegans* llamado *grasa1*. La enzima codificada por *grasa1* transforma los ácidos grasos omega-6, que son más habituales y menos saludables, en ácidos grasos omega-3. Estos animales deberían resultar más saludables para los consumidores, especialmente para aquéllos que tienen restricciones en el consumo de grasa, o aquéllos que presentan un alto riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares. Todavía faltan muchos años para que los cerdos enriquecidos con omega-3 lleguen al mercado, suponiendo que reciban la autorización correspondiente.

Otro ejemplo práctico interesante de animal transgénico es el «salmón de rápido crecimiento» (Figura 26.8*b*). Estos salmones transgénicos en realidad no son más grandes que los salmones normales, sino que simplemente alcanzan el tamaño ideal para su comercialización mucho más rápido. El gen de la hormona del crecimiento en el salmón natural se activa por la luz; por tanto, los salmones crecen rápidamente sólo durante los meses de verano. En el caso de los salmones modificados genéticamente, el promotor de la hormona del crecimiento fue sustituído por el promotor procedente de otro pescado que crece a un ritmo más o menos constante durante todo el año. El resultado fue un tipo de salmón que produce la hormona del crecimiento de forma constante, y por lo tanto, crece más rápido.

26.8 Minirrevisión

La ingeniería genética se puede utilizar para desarrollar animales transgénicos capaces de producir proteínas de valor farmacológico, pero también para crear animales modelo para enfermedades humanas que pueden ser útiles en la investigación médica. Actualmente, se están desarrollando técnicas para mejorar el ganado para el consumo humano, en lugar de utilizar a los animales simplemente para producir proteínas aisladas.

- ¿Qué se entiende por *pharming*?
- ¿Por qué los ratones *knockout* son útiles para investigar la función de los genes humanos?
- ¿Qué ventaja de tipo medioambiental presenta el Enviropig™ frente a los cerdos normales?

26.9 Terapia génica en seres humanos

Los seres humanos padecen una gran variedad de enfermedades hereditarias. Dado que los ensayos genéticos convencionales no pueden realizarse con seres humanos de la misma manera que se realizan con otros animales, nuestros conocimientos de genética humana se encuentran muy por detrás de los que poseemos acerca de la genética de otros organismos. No obstante, el advenimiento de la ingeniería genética nos ha permitido cubrir de forma indirecta muchas lagunas que existían en nuestro conocimiento. Además, se ha conseguido secuenciar el genoma humano (Sección 13.1)

y esta base de datos también resulta de una gran ayuda a la hora de identificar las causas de las enfermedades hereditarias.

Enfermedades hereditarias humanas

Se conoce un gran número de enfermedades genéticas humanas. En la base de datos OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), disponible en la web **http://www.ncbi.nlm.nih.gov/,** se puede encontrar una lista de estas enfermedades. Mediante el uso de la tecnología del DNA recombinante, unido a los estudios genéticos convencionales —relacionados con la herencia familiar, etc.—, es posible localizar los defectos genéticos en regiones específicas de cromosomas concretos. Una vez localizado el defecto genético, es posible clonar y secuenciar la región que lo contiene para, a continuación, realizar comparaciones entre la secuencia básica del gen normal y el gen defectuoso. A partir de dichos estudios, aun cuando no se conozca el defecto enzimático, es posible obtener información sobre el cambio genético. Muchos genes, como el de la enfermedad de Huntington, la hemofilia de tipo A y B, la fibrosis quística, la distrofia muscular de Duchenne, la esclerosis múltiple, o el cáncer de mama, se han localizado con estas técnicas, lo que ha permitido identificar las mutaciones de los genes defectuosos identificados. Teniendo en cuenta esto, ¿cómo se puede utilizar la ingeniería genética para tratar o curar estas enfermedades?

Terapia génica

El uso de ingeniería genética para tratar enfermedades humanas y combatir las células cancerígenas se conoce como **terapia génica**. En la *terapia génica de sustitución*, se «sustituye» un gen no funcional o disfuncional por un gen funcional. En términos estrictos, no se sustituye el *gen* defectuoso, sino su *función*. El gen terapéutico de tipo salvaje se inserta en algún otro sitio del genoma, y su producto genético corrige el trastorno genético. Los principales obstáculos que presenta este método surgen al intentar localizar las células correctas para la terapia génica y al tratar de insertar con éxito el gen requerido en líneas celulares que perpetúen la alteración genética.

La primera enfermedad genética para la que se aprobó el uso de terapia génica fue una grave deficiencia inmunitaria combinada, que tiene su causa en la deficiencia de adenosinadeaminasa (ADA), una enzima que participa en el metabolismo de las purinas de la médula ósea y cuya ausencia provoca un sistema inmunitario deficitario. El procedimiento terapéutico consistía en utilizar un retrovirus como vector para insertar una copia correcta del gen de ADA en los linfocitos T —que forman parte del sistema inmunitario; Sección 29.1— recogidos del paciente para, a continuación, colocar estas células «corregidas» en el cuerpo. El retrovirus también lleva un gen marcador de resistencia a la neomicina, por lo que las células que llevan el retrovirus insertado pueden seleccionarse e identificarse. Como los linfocitos T tienen una vida limitada, es necesario repetir la terapia cada ciertos meses, por lo que, en protocolos de tratamiento posteriores, se insertó el gen ADA en células madre de cordones umbilicales de bebés a los que se les habían diagnosticado defectos en el gen ADA. Las células madre modificadas genéticamente se volvieron a colocar en los bebés, y dado que las células madre continúan dividiéndose y proporcionando linfocitos T nuevos, esta técnica efectúa una curación a largo plazo.

En la actualidad, se están comprobando otros tratamientos de terapia génica, algunos de los cuales usan otros tipos de virus como vectores. Desde el primer ensayo de terapia génica realizado con ADA en 1990, no hubo avances prácticos notables hasta el año 2000. Otra forma de deficiencia inmunitaria combinada, causada por defectos en un gen distinto, se ha tratado de forma satisfactoria en numerosos pacientes. Parece posible que esta forma tan extraña de la enfermedad pueda tratarse con éxito utilizando la terapia génica.

Problemas técnicos de la terapia génica

Pese a que la terapia génica tiene un tremendo potencial práctico, la mayoría de sus aplicaciones todavía son sólo proyectos que están lejos de convertirse en una realidad. Algunas de las dificultades que existen en la actualidad están relacionadas con los vectores que se utilizan. Aunque el uso de vectores de retrovirus ofrece una integración estable del transgén, el sitio de inserción no se puede predecir y la expresión del gen clonado es a menudo transitoria. Los vectores también tienen una capacidad de infección limitada, por lo que quedan desactivados rápidamente en el hospedador. Muchos vectores que no proceden de retrovirus, tales como el vector del adenovirus, presentan problemas similares, y las reacciones adversas al vector pueden constituir también un grave problema. No obstante, han surgido nuevos vectores prometedores para la terapia génica, como son los cromosomas humanos artificiales (Sección 12.15) y las versiones altamente modificadas de vectores de retrovirus.

Es importante señalar que, en los protocolos de terapia génica que se están comprobando actualmente, lo que se reemplaza no es la copia del gen defectuosa, sino su función defectuosa. El retrovirus, que contiene la copia correcta del gen, simplemente se integra en algún punto del genoma humano de las células diana. Las sustituciones reales de los genes en las líneas celulares germinales —células que dan lugar a gametos— pueden realizarse en algunos animales, aunque las técnicas de aislamiento de animales individuales con estos cambios no pueden aplicarse sin más en seres humanos. Además, los intentos de cambiar las células germinales de un ser humano también plantearían cuestiones éticas que convertirían este tipo de procedimientos, tan prometedores desde el punto de vista médico, en sólo una remota posibilidad.

www.medil

26.9 Minirrevisión

Una de las grandes promesas de la ingeniería genética es la terapia génica, que permite insertar copias correctas de un gen en un individuo para tratar una enfermedad genética.

- ¿Por qué es tan grave la deficiencia inmunitaria combinada? ¿Cómo puede ayudar la terapia génica a las personas que padezcan esta enfermedad?
- ¿Qué problemas surgen al usar un retrovirus como vector en la terapia génica?
- Una persona tratada con éxito con la terapia génica seguirá teniendo una copia defectuosa del gen. Explique por qué.

26.10 Plantas transgénicas en la agricultura

La mejora genética de las plantas mediante métodos tradicionales de selección y cultivo data de tiempos inmemoriales, pero la tecnología del DNA recombinante ha producido cambios revolucionarios. Hoy en día, la ingeniería genética permite modificar un DNA vegetal y utilizarlo a continuación para transformar las células vegetales por electroporación o por el método del disparador de partículas (Sección 12.11), o bien utilizando plásmidos procedentes de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*, que puede transferir DNA directamente a las células de ciertas plantas de forma natural (Sección 24.14).

A diferencia de lo que ocurre con los animales, la línea germinal no experimenta una separación real de las células somáticas vegetales, de manera que, con frecuencia, las plantas se pueden regenerar a partir de una sola célula. Además, es posible cultivar células vegetales *in vitro*, por lo que las modificaciones genéticas generalmente se realizan con células vegetales obtenidas en cultivos celulares. Una vez se han seleccionado los clones alterados genéticamente, se aplican tratamientos con hormonas vegetales que inducen a estas células a que produzcan plantas completas.

Actualmente, la ingeniería genética en plantas ha conseguido numerosos éxitos y se están produciendo diversas plantas transgénicas en el sector agrícola. Este tipo de plantas son conocidas comúnmente con el nombre de plantas *modificadas genéticamente (GM)* (del inglés: *genetically modified)*. En esta sección veremos cómo se insertan genes foráneos en el genoma vegetal, y los usos que pueden tener las plantas transgénicas.

El plásmido Ti y las plantas transgénicas

La bacteria fitopatógena gramnegativa *Agrobacterium tumefaciens* contiene un gran plásmido denominado **plásmido Ti**, que es el responsable de su virulencia. Este plásmido contiene genes que movilizan el DNA para transferirlo a la planta, que contrae así la enfermedad denominada en inglés *crown gall*, consistente en la formación de tumores (agallas) en el cuello y raíces de la planta (Sección 24.14). El segmento de DNA del plásmido Ti que se transfiere a la planta se llama T-DNA. Las secuencias de los extremos del T-DNA son esenciales para la transferencia, y el DNA que se va a transferir debe estar entre estos extremos.

Un sistema común de vector Ti que se ha utilizado para transferir genes a plantas es un sistema de dos plásmidos denominado *vector binario*, que consta de un vector de clonación y un plásmido colaborador. El vector de clonación contiene los dos extremos del T-DNA a cada lado del sitio de clonación múltiple, así como un marcador de resistencia a los antibióticos que puede utilizarse en plantas. El plásmido también contiene dos orígenes de replicación que pueden replicarse tanto en *Agrobacterium tumefaciens* como en *Escherichia coli* —éste último sirve como hospedador para trabajos de clonación—, así como otro marcador de resistencia a los antibióticos para la selección en las bacterias (**Figura 26.9**). El DNA foráneo se inserta en el vector, que a continuación se transforma en *Escherichia coli* y acto seguido se transfiere a *Agrobacterium tumefaciens* por conjugación.

Este vector de clonación no contiene los genes necesarios para transferir el T-DNA a una planta. No obstante, si se coloca en una célula de *Agrobacterium tumefaciens* que contenga un plásmido colaborador adecuado, se puede producir la transferencia de T-DNA a la planta. Este plásmido colaborador «desarmado», llamado D-Ti, contiene la región de virulencia (*vir*) del plásmido Ti, pero carece del T-DNA, de manera que puede dirigir la transferencia de DNA a la planta porque ya no tiene los genes que causan la enfermedad. Así pues, el plásmido colaborador proporciona todas las funciones necesarias para transferir el T-DNA desde el vector de clonación. El DNA clonado y el marcador de resistencia a la kanamicina del vector pueden movilizarse mediante el plásmido D-Ti y transferirse a una célula vegetal (Figura 26.9). Tras su integración en un cromosoma vegetal, el DNA foráneo puede expresarse y conferir así nuevas propiedades a la planta.

El uso del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* ha permitido la creación de numerosas plantas transgénicas. El sistema Ti funciona de forma satisfactoria en plantas herbáceas (dicotiledóneas), tales como el tomate, la patata, el tabaco, la soja, la alfalfa y el algodón, y también se ha empleado en la producción de árboles transgénicos, como el nogal y el manzano. Aunque el uso de este plásmido no ha proporcionado los mismos resultados en plantas de la familia de las gramíneas (monocotiledóneas, como el maíz), se han utilizado con éxito otros métodos de introducción del DNA, como el disparador de partículas (Sección 12.11), para generar plantas transgénicas de este tipo.

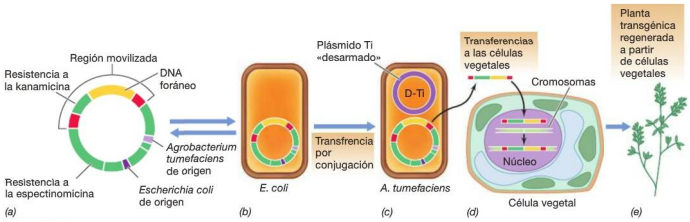


Figura 26.9 **Producción de plantas transgénicas utilizando un vector binario en *Agrobacterium tumefaciens*.** *(a)* Vector generalizado de clonación en plantas, que contiene extremos de T-DNA (en color rojo), DNA foráneo, elementos de origen de replicación y marcadores de resistencia. *(b)* El vector se coloca dentro de células de *Escherichia coli* para la clonación, y a continuación, se transfiere a *Agrobacterium tumefaciens* por conjugación. *(c)* El plásmido residente Ti (D-Ti), que se utiliza para transferir el vector a la planta, ha sido modificado genéticamente para eliminar los genes clave implicados en la patogénesis. *(d)* Sin embargo, D-Ti puede movilizar la región T-DNA del vector para realizar la transferencia a las células vegetales que han crecido en cultivos de tejidos. A partir de la célula recombinante se pueden regenerar plantas completas. La biología de *Agrobacterium tumefaciens* y del plásmido Ti aparece descrita en la Sección 24.14.

Resistencia a los insectos y a los herbicidas

Las principales áreas de investigación para mejorar la genética de las plantas son la resistencia a los herbicidas, a los insectos y a las enfermedades microbianas, así como se la mejora de la calidad del producto. El primer cultivo genéticamente modificado (cultivo GM) que se comercializó fue una cosecha de tabaco de China, en el año 1992, que había sido modificado para mostrar resistencia a los virus. En el año 2005 se estimaba que ya había más de 1.000 millones de acres (440 millones de hectáreas) de cultivos genéticamente modificados repartidos por todo el mundo. Hoy en día, los principales cultivos GM son de soja, maíz, algodón y colza. Casi todas las cosechas GM de soja y colza sembradas eran resistentes a los herbicidas, mientras que las de maíz y algodón eran resistentes a los herbicidas o a los insectos, o bien a ambos. En 2005, en Estados Unidos se sembraron más de la mitad de los cultivos GM de todo el mundo. Argentina, Canadá, Brasil y China fueron los otros productores principales, mientras que el resto del mundo sólo sembró menos de un 5% del total de este tipo de cultivos.

La resistencia a los herbicidas se obtiene modificando genéticamente las plantas para protegerlas de los productos químicos que se les aplican para matar las malas hierbas. Muchos herbicidas actúan inhibiendo una de las enzimas principales de la planta o una proteína necesaria para el crecimiento. Por ejemplo, el herbicida glifosato (Roundup™) mata las plantas, puesto que inhibe la acción de una enzima necesaria para sintetizar aminoácidos aromáticos. Algunas bacterias contienen una enzima equivalente y también son aniquiladas por el glifosato. Sin embargo, se seleccionaron bacterias mutantes que contienen una enzima resistente al glifosato. Se ha clonado un gen que codifica esta enzima resistente del *Agrobacterium*, se ha modificado para que se pueda expresar en plantas, y se ha transferido a plantas como la soja. Cuando se las pulveriza con glifosato, las plantas que contienen el gen bacteriano no mueren (**Figura 26.10**). De esta manera, el glifosato se utiliza para matar las malas hierbas que compiten por el agua y los nutrientes con las plantas del cultivo, y ahora se siembran grandes

Figura 26.10 **Plantas transgénicas resistentes a herbicidas.** La fotografía muestra un detalle de una plantación de soja que se ha tratado con Roundup™, un herbicida derivado del glifosato, fabricado por Monsanto Company (Estados Unidos). Las plantas de la derecha son sojas normales, mientras que las de la izquierda se han modificado genéticamente para expresar resistencia al glifosato.

cantidades de soja resistente a los herbicidas en los Estados Unidos.

Resistencia a los insectos: las toxinas-Bt

También se han introducido nuevos medios de resistencia a los insectos en las plantas mediante métodos genéticos. Uno de los que más se ha utilizado se basa en la introducción de genes que codifican la proteína tóxica del *Bacillus thuringiensis*. *Bacillus thuringiensis* produce una proteína cristalina, llamada *toxina-Bt* (Sección 16.2), que es tóxica para las larvas de las polillas y de las mariposas. Existen diversas variantes de la toxina-Bt que son específicas para insectos distintos. Algunas cepas de *Bacillus thuringiensis* producen proteínas adicionales que son tóxicas para las larvas de escarabajos y moscas, así como para los mosquitos.

Se han utilizado numerosos métodos para potenciar la eficacia de la toxina-Bt en el control de las plagas. Uno de estos métodos consistía en desarrollar una única toxina-Bt que resultara eficaz frente a muchos insectos distintos. Esto se consiguió debido a que la proteína tiene regiones estructurales o dominios separados para su especificidad y para su toxicidad. El dominio tóxico está altamente conservado en todas las toxinas-Bt. Mediante técnicas de ingeniería genética se crearon genes híbridos que codificaban un dominio tóxico y uno de los distintos dominios de especificidad. De esta manera, se produjeron toxinas específicas para cada planta y cada tipo de plaga.

Un método eficaz para conseguir la expresión y la estabilidad transgénicas consistió en transferir el gen directamente al genoma vegetal. Por ejemplo, se ha clonado una toxina-Bt natural en un plásmido vector bajo el control del promotor del rRNA del cloroplasto, y posteriormente se ha transferido a los cloroplastos de plantas de tabaco mediante el bombardeo de partículas (Sección 12.11). Con este método, se han obtenido plantas transgénicas que expresan esta proteína a niveles que son extremadamente tóxicos para las larvas de un buen número de especies de insectos (**Figura 26.11**).

Aunque la toxina-Bt transgénica parecía ser un gran éxito para la agricultura, han surgido algunos problemas, como el hecho de que algunos insectos han adquirido resistencia a esta toxina. La resistencia a insecticidas y herbicidas es un problema muy habitual en la agricultura, y el hecho de que se haya fabricado un producto con ingeniería genética no lo exime de este problema. Además, la toxina-Bt a menudo mata más insectos de los que son deseables, puesto que algunos de ellos podrían ser útiles. Se deben utilizar diversas estrategias para controlar las plagas, y la toxina-Bt sólo es una de ellas. No obstante, todavía se siembran numerosos cultivos transgénicas con toxina-Bt en los Estados Unidos.

La toxina-Bt es inofensiva para los mamíferos, incluidos los seres humanos, puesto que se destruye al cocinar y procesar los alimentos. Además, cualquier toxina que se ingiera es digerida por el tracto gastrointestinal de los mamíferos. Por otra parte, la toxina-Bt actúa uniéndose a receptores específicos del intestino de los insectos que no se hallan en el intestino del resto de organismos. Esta unión promueve un cambio en la conformación de la toxina, que genera poros en la superficie intestinal de los insectos y rompe así el aparato digestivo del animal, causando su muerte.

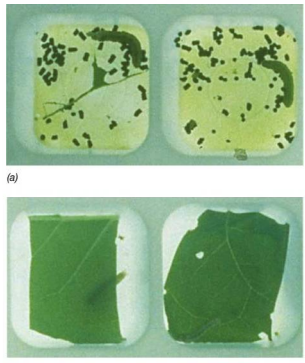


Figura 26.11 Plantas transgénicas resistentes a los insectos. *(a)* Resultado de dos ensayos distintos para determinar el efecto de las larvas de la oruga negra sobre hojas de tabaco de plantas normales. *(b)* Resultados de ensayos similares, pero utilizando hojas de tabaco recogidas de plantas de tabaco transgénicas, que expresan la toxina-Bt en sus cloroplastos.

Otros usos de la biotecnología vegetal

No toda la ingeniería genética está dirigida a obtener plantas resistentes a las enfermedades. La ingeniería genética también puede utilizarse para desarrollar plantas GM que sean más nutritivas o que tengan características que las hagan más deseables para el consumidor. Por ejemplo, el primer alimento genéticamente modificado que salió a la venta en los Estados Unidos fue un tomate que tardaba más en estropearse, lo cual aumentaba la vida útil de esta hortaliza. Además, las plantas transgénicas pueden modificarse genéticamente para conseguir productos comerciales o farmacéuticos, tal y como se ha hecho con los microorganismos y los animales. Cultivos como el tabaco o los tomates se han modificado genéticamente para obtener diferentes productos, como la proteína humana *interferón*. Las plantas transgénicas también se pueden utilizar para producir anticuerpos humanos de

manera eficaz y barata. Estos anticuerpos, que reciben en inglés el nombre de *plantibodies*, tienen un cierto potencial como agentes anticancerígenos o antivíricos, y algunos de ellos se encuentran en la actualidad en el estadio de ensayos clínicos. Por ejemplo, el tabaco transgénico se ha empleado en la producción de un anticuerpo llamado CaroRx que bloquea las bacterias causantes de la caries dental. CaroRx se produce en gran cantidad en las hojas de tabaco, y es relativamente fácil de purificar. Hasta el momento, los ensayos clínicos han demostrado que este anticuerpo es seguro y eficaz. Las plantas resultan útiles para sintetizar este tipo de productos, no sólo porque modifican las proteínas correctamente, sino porque, además, las plantas se pueden cultivar de forma eficaz y recolectar en grandes cantidades.

También se están desarrollando plantas de cultivo para la producción de vacunas. Por ejemplo, se ha fabricado mediante técnicas de ingeniería genética un virus del mosaico de tabaco recombinante (Sección 19.6) cuya cubierta contiene antígenos de *Plasmodium vivax*, el microorganismo que causa la malaria (Sección 35.5). Las proteínas de *Plasmodium vivax* provocan una respuesta inmunológica en los seres humanos, por lo que este virus recombinante podría usarse para desarrollar una vacuna contra la malaria, que podría fabricarse en grandes cantidades y a bajo coste sólo con recolectar el tabaco o las tomateras infectadas que crecen en los campos y procesarlas para extraer la proteína inmunogénica. Otro método muy interesante consiste en producir una vacuna en un producto vegetal comestible. Estas *vacunas comestibles* se encuentran en proceso de desarrollo, pero podrían ofrecer inmunización frente a enfermedades causadas por bacterias entéricas, como el cólera y la diarrea (Sección 36.5).

Un tipo muy diferente de planta transgénica es la patata Amflora, desarrollada por BASF, una multinacional química alemana. La patata Amflora no es comestible, y al contrario que las patatas normales, que producen dos tipos de almidón (la amilopectina y la amilosa), la patata Amflora sólo produce amilopectina, una materia prima que se utiliza en la fabricación de papel y de adhesivos. El uso de la patata Amflora evitaría el costoso proceso de purificación de la amilosa, que además consume mucha energía. Actualmente, la Unión Europea todavía está debatiendo la aprobación de este cultivo transgénico.

Aunque la aceptación de los cultivos genéticamente modificados sigue siendo muy amplia en los Estados Unidos, en los últimos años se ha planteado una serie de interrogantes debido a la introduccion de maíz GM en alimentos humanos, un cereal que hasta el momento sólo se ha aprobado como alimento animal. En algunos países europeos existe una gran preocupación sobre los organismos GM, especialmente en lo relativo a los efectos adversos que podrían tener los genes foráneos en los seres humanos o los animales domésticos, o el posible «escape» de transgenes de las plantas transgénicas a las plantas autóctonas. Actualmente, no existen pruebas científicas que confirmen ninguna de estas posibilidades; de todos modos, hay indicios de que la resistencia al glifosato se está comenzando a extender a las malas hierbas. Así pues, todavía quedan muchas dudas por resolver sobre los cultivos genéticamente modificados, lo cual ha provocado que estos productos entren en el mercado a un ritmo moderado.

26.10 Minirrevisión

La ingeniería genética permite crear plantas resistentes a las enfermedades, mejorar la calidad del producto, y utilizar las plantas de cultivo como fuente de proteínas recombinantes o incluso de vacunas. Uno de los vectores de clonación que más se utiliza en las plantas es el plásmido Ti de la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*. Este plásmido puede transferir DNA a células vegetales. Las plantas cuyo genoma se ha modificado utilizando técnicas genéticas *in vitro* se denominan organismos genéticamente modificados u OGM.

- ¿Qué es una planta transgénica?
- Mencione un ejemplo de planta genéticamente modificada y describa qué beneficios presenta para la agricultura su modificación genética.
- ¿Qué ventajas presenta el uso de plantas como vehículos para la producción de anticuerpos?

Glosario de términos

Biotecnología: uso de organismos vivos, que suelen estar modificados genéticamente, para aplicaciones industriales, médicas o agrícolas.

Ingeniería genética: uso de técnicas *in vitro* para conseguir el aislamiento, la manipulación, la recombinación y la expresión del DNA (o RNA), así como para desarrollar organismos genéticamente modificados.

Organismo genéticamente modificado (OGM): organismo cuyo genoma ha sido modificado utilizando métodos de ingeniería genética. El acrónimo *GM* también se utiliza en términos tales como *cosechas GM* y *alimentos GM*.

Organismo transgénico planta o animal en cuyo genoma se ha insertado DNA foráneo.

Plásmido Ti: plásmido de *Agrobacterium tumefaciens* capaz de transferir genes de las bacterias a las plantas.

Proteína de fusión: proteína que es el resultado de la fusión de dos proteínas diferentes mediante la unión de sus secuencias codificantes en un solo gen.

Ruta metabólica modificada genéticamente: creación de una ruta bioquímica nueva o mejorada, utilizando genes procedentes de uno o más organismos.

T-DNA: segmento del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* que se transfiere a las células vegetales.

Terapia génica: tratamiento de una enfermedad causada por la disfunción de un gen, que consiste en la introducción de una copia funcional de dicho gen.

Transcripción inversa: conversión de una secuencia de RNA en la secuencia correspondiente de DNA.

Vacuna de DNA: vacuna que utiliza el DNA de un patógeno para provocar una respuesta inmunológica.

Vacuna de vector: vacuna fabricada mediante la inserción de genes de un virus patógeno en un virus portador relativamente inofensivo.

Vacuna polivalente: vacuna que inmuniza contra más de una enfermedad.

Preguntas de repaso

www.medilibros.com

1. ¿Qué importancia tiene la enzima transcriptasa inversa en el proceso de clonación de genes animales para ser expresados en bacterias (Sección 26.2)?
2. ¿Qué clases de proteínas se producen mediante biotecnología? ¿Cómo se obtienen los genes para dichas proteínas (Sección 26.3)?
3. ¿Qué es una vacuna de subunidad? ¿Por qué las vacunas de subunidad se consideran un medio más seguro para conferir inmunidad frente a patógenos víricos que las vacunas de virus atenuadas (Sección 26.5)?
4. ¿Cómo se ha utilizado la metagenómica para encontrar nuevos productos de utilidad (Sección 26.6)?
5. ¿Qué es la modificación genética de rutas metabólicas? ¿Por qué resulta más difícil producir un antibiótico que producir una sola enzima mediante ingeniería genética (Sección 26.7)?
6. ¿Qué es un ratón *knockout*? ¿Por qué son tan importantes los ratones *knockout* para el estudio de la fisiología humana y los defectos hereditarios (Sección 26.8)?
7. ¿Qué beneficios ha aportado la ingeniería genética a los tratamientos de la grave deficiencia inmunitaria combinada y la fibrosis quística (Secciones 26.4 y 26.9)?
8. ¿En qué se diferencian las plantas transgénicas de las plantas modificadas mediante técnicas de selección convencionales (Sección 26.10)?
9. ¿Qué es el plásmido Ti y cómo se ha utilizado en la ingeniería genética (Sección 26.10)?
10. Mencione varios ejemplos de cultivo de plantas que hayan mejorado gracias a la ingeniería genética. ¿Cómo han contribuído las plantas genéticamente modificadas al desarrollo de la medicina?

Ejercicios prácticos

1. Imagine que acaba de descubrir una proteína en los ratones que puede servir para fabricar una cura eficaz para el cáncer, pero sólo se halla presente en pequeñas cantidades. Describa los pasos que realizarías para obtener la producción de esta proteína en grandes cantidades. ¿Qué hospedador utilizaría para clonar el gen? ¿Por qué? ¿Qué hospedador emplearía para expresar la proteína? ¿Por qué?
2. La terapia génica se utiliza para tratar a personas que padecen una enfermedad genética y, si el tratamiento tiene éxito, para curarlas. Sin embargo, estas personas todavía podrán transmitir la enfermedad genética a su descendencia. Explique las razones. ¿Por qué cree que éste puede ser un campo de investigación que no atraiga tanta atención como el tratamiento de individuos?
3. Compara las ventajas e inconvenientes del uso de cultivos transgénicos —como el maíz Bt— en la alimentación humana. Considere varios puntos de vista: el de las personas que producen el cultivo, el de las personas preocupadas por el medio ambiente y el de quienes consumen el producto.

27

Control del crecimiento microbiano

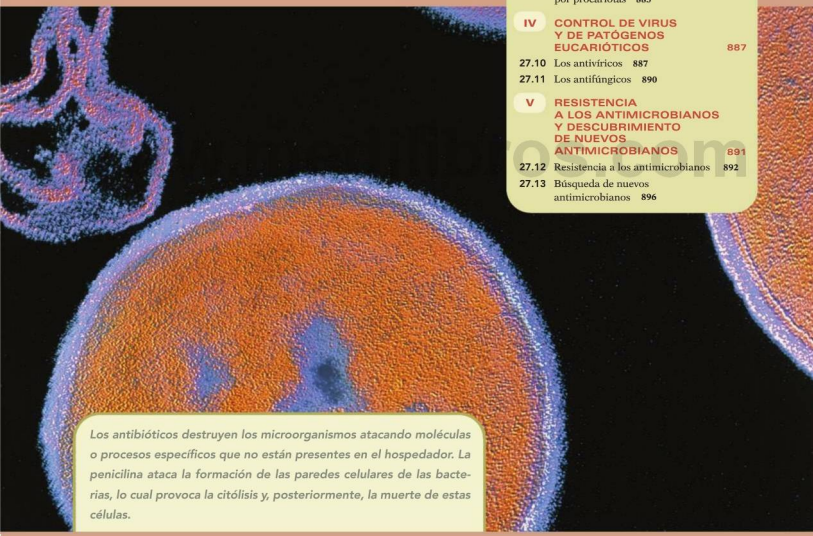
I CONTROL FÍSICO ANTIMICROBIANO 866
- **27.1** Esterilización por calor **866**
- **27.2** Esterilización por radiación **869**
- **27.3** Esterilización por filtración **871**

II CONTROL QUÍMICO ANTIMICROBIANO 873
- **27.4** Control químico del crecimiento microbiano **873**
- **27.5** Agentes antimicrobianos químicos para uso externo **875**

III AGENTES ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS *IN VIVO* 878
- **27.6** Antimicrobianos sintéticos **880**
- **27.7** Antimicrobianos naturales: los antibióticos **882**
- **27.8** Los antibióticos β-lactámicos: las penicilinas y las cefalosporinas **883**
- **27.9** Antibióticos producidos por procariotas **885**

IV CONTROL DE VIRUS Y DE PATÓGENOS EUCARIÓTICOS 887
- **27.10** Los antivíricos **887**
- **27.11** Los antifúngicos **890**

V RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS Y DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS ANTIMICROBIANOS 891
- **27.12** Resistencia a los antimicrobianos **892**
- **27.13** Búsqueda de nuevos antimicrobianos **896**



Los antibióticos destruyen los microorganismos atacando moléculas o procesos específicos que no están presentes en el hospedador. La penicilina ataca la formación de las paredes celulares de las bacterias, lo cual provoca la citólisis y, posteriormente, la muerte de estas células.

En este capítulo comenzaremos una nueva unidad en la que estudiaremos las relaciones entre los microorganismos y los seres humanos. Empezaremos señalando los agentes y los métodos empleados para el control del crecimiento microbiano. Algunos agentes acaban con el crecimiento microbiano mediante **esterilización**, es decir, mediante la muerte o eliminación de todos los organismos viables de un medio de cultivo. En la práctica, a menudo no se puede alcanzar la esterilidad, pero en muchos casos los microorganismos se pueden controlar de forma eficaz limitando su crecimiento mediante el proceso de **inhibición**.

Entre los métodos para inhibir el crecimiento rápido de los microorganismos se encuentran la descontaminación y la desinfección. La **descontaminación** consiste en tratar un objeto o superficie para que su manejo sea más seguro. Por ejemplo, el simple hecho de pasarle un trapo húmedo a una mesa después de comer en ella elimina los microorganismos y sus potenciales nutrientes. Por el contrario, la **desinfección** ataca directamente a los organismos patógenos, aunque es posible que no elimine todos los microorganismos. Los *desinfectantes* químicos o físicos pueden matar microorganismos o inhibir su crecimiento. Por ejemplo, la lejía (hipoclorito de sodio) es un desinfectante que se utiliza para limpiar y desinfectar las zonas en las que se prepara comida.

En ocasiones, puede ser necesario destruir todos los microorganismos. Aunque es difícil llevarla a cabo, la esterilización elimina por completo todos los microorganismos, entre ellos los virus. Tal medida es necesaria, por ejemplo, cuando se preparan medios de cultivo microbiológicos o instrumental quirúrgico. La finalidad de todos estos procedimientos es reducir o eliminar la carga microbiana.

El control microbiano *in vivo* es mucho más difícil, puesto que los agentes bactericidas y bacteriostáticos útiles para uso clínico impiden y reducen, respectivamente, el crecimiento bacteriano sin causar daño al hospedador. Esto se consigue con una gran variedad de agentes quimioterapéuticos naturales y sintéticos.

En este capítulo, examinaremos en primer lugar los métodos para el control microbiano que se utilizan *in vitro*. A continuación, estudiaremos los medicamentos antimicrobianos que se usan en el ser humano.

I CONTROL FÍSICO ANTIMICROBIANO

Los métodos físicos se usan a menudo para lograr la descontaminación microbiana, la desinfección y la esterilización. El calor, la radiación y la filtracion pueden destruir o eliminar los microorganismos. Estos métodos impiden el crecimiento, o descontaminan zonas o materiales contaminados por microorganismos. En esta sección discutiremos los mecanismos de control físicos y los ilustraremos con algunos ejemplos prácticos.

27.1 Esterilización por calor

Quizás el método más generalizado para el control del crecimiento microbiano sea la aplicación de calor, especialmente como método de esterilización. Entre los factores que afectan a la susceptibilidad de los microorganismos al calor, se hallan la temperatura y duración del tratamiento, y el tipo de calor —húmedo o seco— aplicado.

Cuantificación de la esterilización por calor

Para todos los microorganismos existe una temperatura máxima de crecimiento por encima de la cual disminuye su viabilidad (*véase* Sección 6.12). Esto es debido a que, a temperaturas muy altas, la mayoría de las macromoléculas pierden su estructura y su función por el proceso llamado *desnaturalización*. La eficacia del calor como esterilizante se mide por el tiempo que se requiere para reducir diez veces la viabilidad de una población microbiana a una temperatura determinada, lo que se conoce como *reducción decimal* o *D*. En el margen habitual de temperaturas utilizado en la preparación de alimentos —por ejemplo, al cocinar o enlatar los alimentos—, la relación entre *D* y temperatura es prácticamente exponencial. Así, cuando el logaritmo de *D* se representa frente a la temperatura, se obtiene una línea recta (**Figura 27.1**). La pendiente de la recta proporciona una medida de la sensibilidad del organismo al calor en las condiciones empleadas, y el gráfico puede usarse para calcular los tiempos del proceso para conseguir la esterilización, por ejemplo en los tratamientos de productos enlatados (*véase* Sección 37.2). La muerte de los organismos a causa del calor es una función exponencial (de primer orden) que crece más rápidamente a medida que aumenta la temperatura, como muestra la **Figura 27.2**. El tiempo ne-

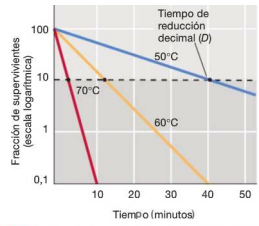


Figura 27.1 Efecto de la temperatura a lo largo del tiempo en la viabilidad de una bacteria mesófila. El tiempo de reducción decimal, *D*, es el tiempo en el que únicamente el 10% de la población original de microorganismos permanece viable a una temperatura determinada. Para 70 °C, *D* = 3 min; para 60 °C, *D* = 12 min; para 50 °C, *D* = 42 min.

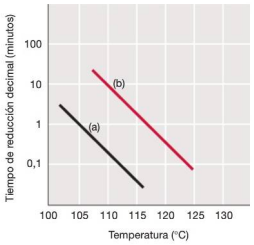


Figura 27.2 Relación entre la temperatura y la tasa de muerte en mesófilos y termófilos. Los datos se obtuvieron para los tiempos de reducción decimal, *D*, a diferentes temperaturas, como en la Figura 27.1. Para el organismo *(a)*, un mesófilo típico, la exposición a 110 °C durante menos de 20 segundos dio como resultado un tiempo de reducción decimal, mientras que para el organismo *(b)*, un termófilo, se necesitaron 10 minutos para conseguir una reducción decimal.

cesario para matar una fracción definida (por ejemplo, 90%) de células viables es independiente de la concentración inicial de células. El resultado es que la esterilización de una población microbiana tarda más en realizarse a temperaturas bajas que a temperaturas altas. Por tanto, el tiempo y la temperatura deben ajustarse para lograr llevar a cabo la esterilización en las condiciones específicas de cada caso. El tipo de calor también es importante, puesto que el calor húmedo penetra mejor que el seco y, a una temperatura determinada, produce una reducción más rápida del número de organismos vivos.

La determinación de los tiempos de reducción decimal requiere un número considerable de medidas de contaje de organismos viables (*véase* Sección 6.10). Una manera más fácil de caracterizar la sensibilidad de un organismo al calor es medir el *tiempo de muerte térmica*, que es el tiempo que se necesita para matar todas las células a una temperatura determinada. Para determinar el tiempo de muerte térmica, se calientan las muestras de una suspensión celular durante diferentes períodos de tiempo, se mezclan las suspensiones calentadas con medio de cultivo y se incuban. Si todas las células están muertas, no se observa ningún crecimiento en las muestras incubadas. El tiempo de muerte térmica depende del tamaño de la población sometida al ensayo, dado que se requiere más tiempo para matar todas las células de una población grande que de una pequeña. Una vez que el número de células se ha estandarizado, es posible comparar las sensibilidades al calor de diferentes organismos contrastando sus respectivos tiempos de muerte térmica a una temperatura determinada.

Las endosporas y la esterilización por calor

Algunas bacterias producen células con una elevada resistencia al calor llamadas *endosporas* (*véase* Sección 4.12). La resistencia al calor de las células vegetativas y las endosporas de un mismo organismo varía considerablemente. Por ejemplo, en el autoclave (*véase* más adelante) habitualmente se alcanza una temperatura de 121 °C. En estas condiciones, las endosporas pueden necesitar unos 4 ó 5 minutos para alcanzar una reducción decimal, mientras que las células vegetativas pueden necesitar sólo de unos 0,1 a unos 0,5 minutos a 65 °C. Debido a esta diferencia, los procesos eficaces de esterilización por calor están diseñados para destruir las endosporas.

Las endosporas pueden sobrevivir a temperaturas que matarían rápidamente las células vegetativas de la misma especie. Un factor importante en la resistencia al calor es la cantidad de agua y el estado de hidratación en el interior de la endospora. Durante la formación de la endospora, el protoplasma se reduce hasta un volumen mínimo como resultado de la acumulación de compuestos de Ca^{2+} y ácido dipicolínico y de proteínas de esporulación pequeñas solubles en ácido (SASP, de *small acid soluble spore proteins*). Esta mezcla forma un gel citoplasmático y a continuación, se forma una corteza gruesa alrededor de la endospora que se está desarrollando. La contracción de la corteza da lugar a una célula deshidratada y reducida con un contenido hídrico de sólo el 10%-30% del de una célula vegetativa (*véase* Sección 4.12).

El contenido hídrico de la endospora, junto con la concentración de SASP, determina su resistencia al calor. Si las endosporas tienen una baja concentración de SASP y un elevado contenido hídrico, presentan una escasa resistencia al calor. Por el contrario, si tienen una elevada concentración de SASP y un bajo contenido hídrico, presentan una elevada resistencia al calor. El agua entra y sale libremente de las endosporas, por lo que no es la impermeabilidad de la pared de la endospora la que limita el agua, sino el gel que se encuentra en el interior del protoplasto de la espora.

El medio en el que tiene lugar el calentamiento también influye en la acción letal tanto de las células vegetativas como de las endosporas. La muerte microbiana es más rápida en un pH ácido, por lo que los alimentos ácidos, tales como tomates, frutas y pepinillos, se esterilizan mucho más fácilmente que los alimentos de pH neutro como el maíz o las alubias. Las concentraciones altas de azúcares, proteínas y grasas disminuyen la penetración del calor y generalmente aumentan la resistencia de los organismos al calor, mientras que las concentraciones elevadas de sal pueden aumentar o disminuir la resistencia al calor, dependiendo del organismo. Las células deshidratadas y secas y las endosporas son más resistentes que las hidratadas y húmedas; en consecuencia, la esterilización por calor de objetos secos, como las endosporas, requiere temperaturas superiores y tiempos más largos que la esterilización de objetos húmedos, como los cultivos bacterianos líquidos.

El autoclave

El **autoclave** es un dispositivo sellado de calentamiento que permite la entrada de vapor de agua bajo presión (**Figura 27.3**). Para matar las endosporas resistentes al calor se necesita un calentamiento a temperaturas por encima de 100 °C, el punto de ebullición del agua bajo una presión atmosférica normal. Esto se consigue mediante la aplicación de vapor de agua bajo presión (Figura 27.3*a*). El autoclave emplea vapor bajo una presión de 1,1 kilogramos/centímetro cuadrado (kg/cm^2), lo que permite alcanzar una temperatura de 121 °C. A esta temperatura, el tiempo de esterilización suele ser de 10 a 15 minutos (Figura 27.3*b*).

Si el objeto que se está esterilizando es muy voluminoso, la transferencia de calor a su interior tarda más tiempo, y se debe aumentar el tiempo total de calentamiento para garantizar que el objeto entero esté sometido a una temperatura de 121 °C durante los 10-15 minutos. También se requieren mayores tiempos cuando se autoclavan grandes volúmenes de líquidos, dado que los volúmenes grandes tardan más tiempo en alcanzar las temperaturas de esterilización. Obsérvese que no es la *presión* que hay en el interior del autoclave la que mata a los microorganismos, sino la *elevada temperatura* que puede alcanzarse cuando el vapor de agua se aplica bajo presión.

www.medilibros.com

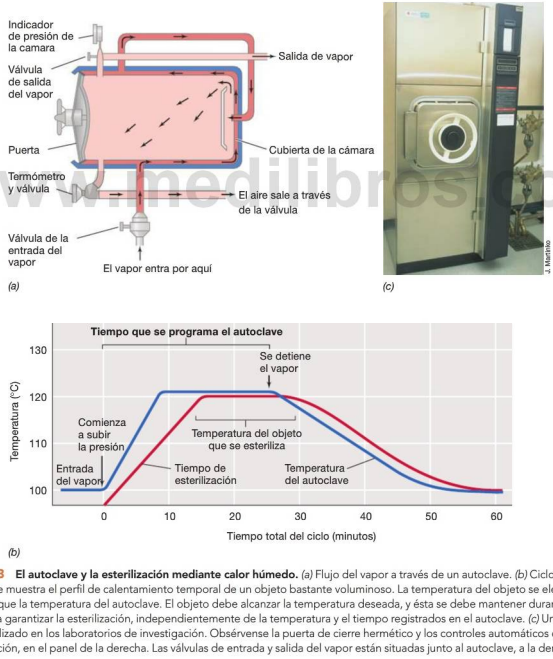


Figura 27.3 **El autoclave y la esterilización mediante calor húmedo.** *(a)* Flujo del vapor a través de un autoclave. *(b)* Ciclo típico de un autoclave. Se muestra el perfil de calentamiento temporal de un objeto bastante voluminoso. La temperatura del objeto se eleva más lentamente que la temperatura del autoclave. El objeto debe alcanzar la temperatura deseada, y ésta se debe mantener durante 10-15 minutos para garantizar la esterilización, independientemente de la temperatura y el tiempo registrados en el autoclave. *(c)* Un autoclave moderno utilizado en los laboratorios de investigación. Obsérvense la puerta de cierre hermético y los controles automáticos de los ciclos de esterilización, en el panel de la derecha. Las válvulas de entrada y salida del vapor están situadas junto al autoclave, a la derecha.

La pasteurización

La **pasteurización** consiste en la aplicación de calor controlado, con la finalidad de reducir la población microbiana que se encuentra en la leche y en otros alimentos termosensibles. Este proceso recibe su nombre de Louis Pasteur (*véase* Sección 1.7), y se utilizó por primera vez para controlar la contaminación del vino. La pasteurización no es sinónimo de esterilización, puesto que en ella no se destruyen todos los microorganismos. Inicialmente, se utilizó la pasteurización de la leche para matar las bacterias patógenas, especialmente los organismos causantes de la tuberculosis, la brucelosis, la fiebre Q y la fiebre tifoidea. Aunque estos organismos patógenos ya no son frecuentes ni siquiera en los alimentos crudos que se encuentran en los países desarrollados, la pasteurización se sigue utilizando porque permite controlar algunos patógenos que actualmente sí son habituales, como *Listeria monocytogenes*, y algunas especies de *Campylobacter*, *Salmonella* y *Escherichia coli* O157:H7. Estas bacterias se pueden encontrar en los productos lácteos y en los zumos (*véanse* Secciones 37.7-37.11). Además, la pasteurización retrasa el crecimiento de organismos alterantes e incrementa considerablemente la vida útil de los líquidos perecederos (*véanse* Secciones 37.1 y 37.2).

La pasteurización de la leche se realiza habitualmente pasando la leche a través de un intercambiador de calor. La leche se bombea a través de un tubo que está en contacto con una fuente de calor. El control cuidadoso de la tasa de circulación de la leche y el tamaño y la temperatura de la fuente de calor elevan la temperatura de la leche a 71 °C durante 15 segundos. A continuación, la leche se enfría rápidamente. Todo el proceso se llama pasteurización rápida.

La leche también puede calentarse en grandes depósitos a 63-66 °C durante 30 minutos. No obstante, este método de pasteurización baja es menos satisfactorio porque la leche se calienta y se enfría lentamente y debe mantenerse a temperaturas altas durante períodos de tiempo más largos. La pasteurización rápida —que en ocasiones se realiza a mayores temperaturas y durante períodos de tiempo más cortos— altera el sabor en menor medida, mata los organismos resistentes al calor con mayor eficacia y puede realizarse en un sistema continuo, por lo que este método se adapta mejor a las grandes operaciones de la industria de productos lácteos.

27.1 Minirrevisión

La esterilización consiste en la eliminación de todos los microorganismos, incluídos los virus. La aplicación de calor es el método de esterilización más empleado. La temperatura debe ser lo bastante alta como para eliminar los organismos más resistentes al calor, que suelen ser las endosporas bacterianas. El autoclave permite la aplicación de vapor caliente bajo presión a temperaturas que alcanzan más de 100 °C y matan las endosporas. La pasteurización no esteriliza los líquidos, pero reduce la población microbiana, mata la mayor parte de los patógenos e inhibe el crecimiento de los microorganismos alterantes.

- ¿Por qué es el calor un agente esterilizante tan eficaz?
- ¿Qué pasos son necesarios para esterilizar un material que puede estar contaminado con endosporas bacterianas?
- Explique la diferencia entre la necesidad de esterilizar un medio de cultivo microbiano y la necesidad de pasteurizar un zumo de manzana.

27.2 Esterilización por radiación

El calor es sólo una de las formas de energía que se emplean para esterilizar o reducir la carga microbiana. Las microondas, la radiación ultravioleta (UV), los rayos X, las radiaciones gamma (radiaciones γ) y los electrones son tipos de radiación que pueden reducir el crecimiento microbiano de forma eficaz si se aplican en la dosis y durante el período de tiempo adecuados. Sin embargo, cada tipo de radiación actúa de un modo específico. Por ejemplo, los efectos antimicrobianos de las microondas se deben, al menos en parte, a efectos térmicos. La radiación UV entre 220 y 300 nm de longitud de onda tiene suficiente energía para causar modificaciones o incluso roturas en el DNA, que en ocasiones provocan la alteración del DNA y la muerte del organismo expuesto (*véase* Sección 11.7). Esta luz UV «casi visible» se utiliza para desinfectar superficies, aire y otros materiales como el agua que no absorben la radiación UV. Por ejemplo las cabinas de los laboratorios de biología vienen equipadas con una lámpara «microbicida» de luz UV para descontaminar su superficie después de ser utilizadas (**Figura 27.4**). No obstante, la luz UV no penetra las superficies sólidas, opacas, o que absorban la luz, y su utilidad se limita a la desinfección de las superficies expuestas.

Radiación ionizante

La radiación ionizante es un tipo de radiación electromagnética con suficiente energía para producir iones y otras especies moleculares reactivas con las que colisionan las partículas de radiación. La radiación ionizante produce electrones (e^-), radicales hidroxilo (OH·) y radicales hídrido (H·) (*véase* Sección 6.18). Cada una de estas moléculas reactivas es capaz de degradar y alterar macromoléculas como el DNA y las proteínas. La ionización y la posterior degradación de estas moléculas biológicas importantes provocan la muerte de las células irradiadas. Se utilizan diversas fuentes de radiación para la esterilización.

La unidad de radiación es el *roentgen*, que es una medida de la energía radiante procedente de una fuente. El parámetro estándar para las aplicaciones biológicas, ta-

Figura 27.4 Cabina de seguridad biológica. La cabina que aparece en la imagen está dotada de una fuente de radiación ultravioleta (UV) (lámpara de vapor de mercurio), que se utiliza para descontaminar las superficies del interior de la misma. La rejilla de metal que aparece al fondo cubre un filtro de aire particulado de alta eficacia (HEPA). El aire se toma del exterior de la cabina y se bombea a través del filtro HEPA. El aire filtrado, que está libre de sustancias contaminantes tales como microorganismos, entra en la cabina. A continuación, el aire que está en el interior de la campana se impulsa a través de los conductos de ventilación que rodean la parte frontal, y se redirige hacia el filtro HEPA. Así, la cabina está diseñada para proveer un espacio de trabajo libre de sustancias contaminantes al mismo tiempo que protege al personal investigador, al impedir que el aire fluya directamente hacia el exterior de la cabina.

Tabla 27.1 Sensibilidad a la radiación de los microorganismos y función biológica

Especie o función	*Tipo de microorganismo*	*D10[a] (Gy)*
Clostridium botulinum	Bacteria grampositivas anaerobias esporuladas	3.300
Clostridium tetani	Bacteria grampositivas anaerobias esporuladas	2.400
Bacillus subtilis	Bacteria grampositivas anaerobias esporuladas	600
Escherichia coli O157:H7	Bacteria gramnegativas	300
Salmonella typhimurium	Bacteria gramnegativas	200
Lactobacillus brevis	Bacteria grampositivas	1.200
Deinococcus radiodurans	Bacteria gramnegativas resistentes a la radiación	2.200
Aspergillus niger	Moho	500
Saccharomyces cerevisiae	Levadura	500
Glosopeda	Virus	13.000
Coxsackie	Virus	4.500
Inactivación de enzimas		20.000-50.000
Desinsectación		1.000-5.000

[a] D10 es la cantidad de radiación necesaria para reducir la población inicial o la actividad inicial a la décima parte (una unidad logarítmica). Gy = grays. 1 gray = 100 rad. La dosis letal para los seres humanos es 10 Gy.

les como la esterilización, es la dosis de radiación absorbida, que se mide en *rads* (100 erg/g) o en *grays* (1 Gy = 100 rad). Algunos microorganismos son mucho más resistentes a la radiación que otros. La **Tabla 27.1** muestra la dosis de radiación necesaria para reducir 10 veces (un logaritmo) el número de algunos microorganismos representativos o algunas funciones biológicas. Por ejemplo, la cantidad de energía necesaria para conseguir la reducción decimal (*D*) de una bacteria sensible a la radiación como *Escherichia coli* O157:H7 es 300 Gy. El valor de *D* es análogo al tiempo de reducción decimal en la esterilización por calor: la relación de la fracción de supervivientes representada en una escala semilogarítmica frente a la dosis de radiación en grays es esencialmente lineal (**Figura 27.5**; comparar con Figura 27.1).

En la práctica, esto significa que, sometidos a una dosis de radiación de 300 Gy, el 90% de *Escherichia coli* O157:H7 de una muestra morirían. Una dosis de 2 *D*, o 600 Gy, mataría al 99% de los organismos, y así sucesivamente. Una dosis letal estándar requerida para realizar una esterilización por radiación es 12 *D*. Para destruir endosporas resistentes a la radiación como las de *Clostridium botulinum*, por ejemplo, se necesitan 39.600 Gy (Tabla 27.1). En general, los microorganismos son mucho más resistentes a la radiación ionizante que los organismos multicelulares. Por ejemplo, la dosis de radiación letal para un ser humano ¡puede ser de sólo 10 Gy si se aplica durante varios minutos!

Libros.com

Práctica de la irradiación

Las fuentes más habituales de radiación ionizante son los tubos de rayos catódicos que generan rayos de electrones, los dispositivos de rayos X, y los nucleidos ra-

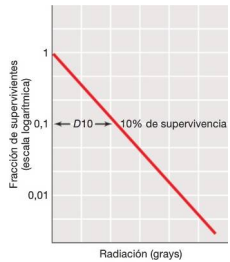


Figura 27.5 Relación entre la fracción de supervivientes y la dosis de radiación de un microorganismo. La *D*10, o dosis de reducción decimal se puede interpolar a partir de los datos mostrados.

diactivos ^{60}Co y ^{137}Cs, que son subproductos de la fisión nuclear relativamente baratos. Estas fuentes producen electrones, rayos X y rayos γ, respectivamente, y los tres tipos de radiación tienen suficiente energía para inhibir el crecimiento microbiano. Además, los rayos X y los rayos γ penetran en los cuerpos sólidos y líquidos, lo cual los convierte en idóneos para el tratamiento de objetos voluminosos como la carne de ternera o los cereales.

Actualmente, la radiación se utiliza para esterilizar y descontaminar suministros médicos y productos de la industria alimentaria. En Estados Unidos, la Administración para Alimentos y Medicamentos (Food and Drug Administration, FDA) ha aprobado el uso de radiación para la esterilización de objetos tan diversos como suministros quirúrgicos, materiales de laboratorio de un solo uso, medicamentos, e incluso injertos de tejidos (**Tabla 27.2**). Sin embargo, dado el coste y la peligrosidad de los equipos de radiación, este tipo de esterilización se limita a las aplicaciones industriales a gran escala y a instalaciones muy especializadas.

Algunos alimentos y productos alimenticios se irradian de forma rutinaria para garantizar su esterilización, pasteurización o desinsectación. La radiación ha sido aprobada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y en los Estados Unidos se utiliza como medida de descontaminación de alimentos particularmente susceptibles a la contaminación microbiana; especialmente los productos cárnicos frescos, como las hamburguesas o el pollo, y las especias (*véase* Sección 37.2). El uso de la radiación para todos estos fines es una tecnología establecida y aprobada en numerosos países, mientras que en otros ha sido aceptada con mayor reticencia debido al temor que suscitan la posible contaminación radiactiva, la alteración del valor nutritivo, la producción de elementos tóxicos o carcinógenos y la percepción de sabores «desagradables» en los alimentos irradiados.

Tabla 27.2 Productos médicos y de laboratorio esterilizados por radiación.

Implantes	*Medicamentos*	*Suministros médicos y de laboratorio*
Cartílago	Cloranfenicol	Material de laboratorio de un solo uso
Tendón	Ampicilina	Medios de cultivo
Piel	Tetraciclina	Jeringas
Válvula cardíaca	Atropina	Equipos quirúrgicos
	Vacunas	Suturas
	Ungüentos	

27.2 Minirrevisión

Las dosis de radiación electromagnética aplicadas bajo control inhiben de forma eficaz el crecimiento microbiano. La radiación ultravioleta se utiliza para descontaminar superficies y materiales que no absorben la luz, como el aire y el agua. La radiación ionizante, que es útil para penetrar los materiales sólidos o los que absorben la luz, se emplea en la esterilización y descontaminación de productos de la industria médica y la alimentaria.

- Defina la dosis de reducción decimal y la dosis letal para un tratamiento de microorganismos.
- ¿Por qué la radiación ionizante es más eficaz que la radiación ultravioleta para esterilizar productos alimenticios?

27.3 Esterilización por filtración

Como ya hemos visto, el calor es un método muy eficaz para esterilizar la mayoría de los líquidos, e incluso se puede utilizar en el tratamiento de gases. No obstante, los líquidos y gases termosensibles se deben tratar utilizando otros métodos diferentes. La filtración es un método que consigue descontaminar e incluso esterilizar los objetos sin tener que exponerlos a un calor desnaturalizante. El líquido o el gas se pasa por un filtro, que es un dispositivo con poros demasiado pequeños para que pasen los microorganismos, pero suficientemente grandes para permitir el paso de un líquido o un gas. El tipo de filtro de esterilización seleccionado dependerá del tamaño de las sustancias contaminantes que se quieran excluir. Algunas células microbianas pueden medir más de 10 μm de diámetro, mientras que las bacterias más pequeñas tienen un diámetro inferior a 0,3 μm. Tradicionalmente, los métodos de filtración selectiva se utilizaron para definir y aislar virus, cuyo diámetro oscila entre los 25 nm y los 200 nm (0,2 μm). La **Figura 27.6** muestra los principales tipos de filtros.

Los filtros de profundidad

Un filtro de profundidad es una lámina fibrosa o tapete compuesto de matrices dispuestas al azar de fibras de papel o de vidrio de borosilicato que se solapan (Figura 27.6*a*). El filtro de profundidad atrapa las partículas en la trama de fibras creada a través del espesor o profundidad de la estructura. Dado que el material de filtración está dispuesto al azar en una lámina gruesa, los filtros de profundidad no se obstruyen fácilmente, por lo que se utilizan a menudo como prefiltros para eliminar las partículas más grandes de las suspensiones líquidas y evitar así la obstrucción del filtro final del proceso de esterilización. Los filtros de profundidad también se utilizan para esterilizar por filtración el aire en los procesos industriales. En el ámbito doméstico, el filtro que se utiliza en los sistemas de aire acondicionado es un simple filtro de profundidad diseñado para atrapar partículas como el polvo, las esporas y los alérgenos.

UNIDAD 6

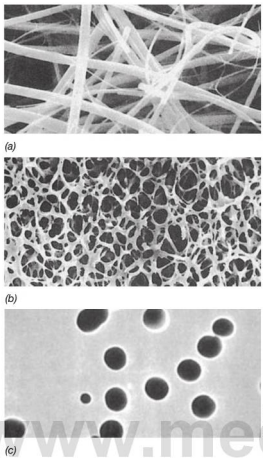


Figura 27.6 **Filtros microbiológicos.** Estructuras de *(a)* un filtro de profundidad, *(b)* un filtro de membrana convencional, y *(c)* un filtro Nucleopore.

Los filtros de profundidad son importantes para las aplicaciones de bioseguridad. Por ejemplo, en las manipulaciones de cultivos celulares, cultivos microbianos, o cultivos de medios de crecimiento, la contaminación tanto de la persona que los manipula como del material experimental debe ser mínima. Estas operaciones se pueden realizar de manera eficaz en una cabina de seguridad biológica con flujo de aire, tanto dentro como fuera de la cabina, dirigido a traves de un filtro de profundidad llamado filtro de aire particulado de alta eficacia (HEPA, por sus siglas en inglés, *High efficiency particulate air filter*) (Figura 27.4). Un filtro HEPA típico consiste en una lámina de fibras de vidrio de borosilicato que se ha tratado con un aglutinante repelente al agua, y se ha plegado para aumentar el área total de su superficie. Finalmente, este filtro se ha montado sobre un marco rígido que lo sostiene. Los filtros HEPA pueden ser de diversas formas y tamaños, que abarcan desde varios centímetros cuadrados en el caso de los filtros para aspiradoras, hasta varios metros cuadrados en el caso de las cabinas de seguridad biológica (Figra 27.4) o los sistemas de ventilación. El control de partículas aéreas mediante filtros HEPA permite la construcción de «habitaciones limpias» y habitaciones de aislamiento para casos de cuarentena, así como de laboratorios de seguridad biológica especializados (*véase* Sección 32.4). Los filtros HEPA suelen eliminar partículas de prueba de 0,3 μm con una eficacia de, por lo menos, el 99,97%, eliminando eficazmente del aire tanto las partículas pequeñas como las grandes —entre ellas, la mayoría de los microorganismos—.

Los filtros de membrana

Los filtros de membrana son los que se usan más habitualmente en los laboratorios de microbiología para esterilizar líquidos (Figura 27.6*b*). Los filtros de membrana se componen de polímeros con una elevada resistencia —como el acetato de celulosa, el nitrato de celulosa o la polisulfona— diseñados para presentar numerosos poros o agujeros diminutos. Ajustando las condiciones de polimerización durante su fabricación, se puede controlar con precisión el tamaño de los poros de las membranas —y, por tanto, el tamaño de las moléculas que pueden pasar a través de ellos—. Los filtros de membrana se diferencian de los filtros de profundidad en que funcionan como un tamiz, reteniendo muchas de las partículas en la superficie del filtro. Alrededor del 80-85% de la superficie de la membrana está constituida por poros abiertos, lo cual permite obtener una tasa de flujo de líquido relativamente alta.

En la **Figura 27.7** aparecen diversos filtros de membrana para la esterilización de líquidos. Los filtros de membrana previamente esterilizados diseñados para esterilizar volúmenes pequeños y medianos de líquidos, tales como los medios de cultivos, se utilizan de forma rutinaria en laboratorios de investigación y laboratorios clínicos. La filtración se realiza utilizando una jeringa, una bomba, o el vacío para hacer pasar el líquido a través del aparato de filtración y recolectarlo en un recipiente esterilizado.

Otro tipo de filtro de membrana que se usa comúnmente es el filtro de nucleación (Nucleopore). Estos filtros se

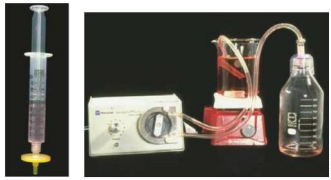
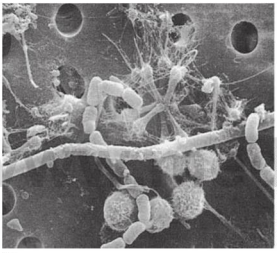
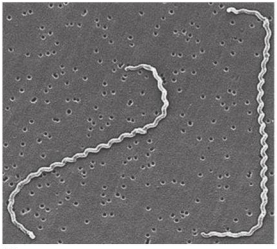


Figura 27.7 **Filtros de membrana.** Unidades de un filtro de membrana de un solo uso, preesterilizadas y ensambladas. Izquierda: un sistema de filtración diseñado para pequeños volúmenes. Derecha: un sistema de filtración diseñado para volúmenes mayores.

obtienen tratando películas muy finas de policarbonato (10 μm de grosor) con radiación nuclear, y fracturando a continuación la película con un producto químico. La radiación produce microlesiones localizadas en la película, y la acción química incrementa el tamaño de estos daños microscópicos producidos hasta formar pequeños agujeros. El tamaño de estos agujeros se controla con precisión variando la capacidad corrosiva de la solución química empleada y el tiempo de tratamiento. Así, un filtro de nucleación típico presenta agujeritos muy uniformes (Figura 27.6*c*). Los filtros Nucleopore se usan habitualmente en microscopía electrónica de barrido para aislar especímenes. Los microorganismos se separan del líquido y se concentran en un único plano en la superficie del filtro, donde pueden observarse con el microscopio (**Figura 27.8**).



(a)



(b)

Figura 27.8 Micrografías al microscopio electrónico de barrido de bacterias atrapadas en filtros de membana Nucleopore. *(a)* Bacterias acuáticas y algas. El tamaño del poro es de 5 μm. *(b) Leptospira interrogans.* La bacteria mide aproximadamente 0,1 μm de diámetro y 20 μm de longitud. El tamaño de los poros del filtro es de 0,2 μm.

27.3 Minirrevisión

Los filtros se emplean para eliminar microorganismos del aire o de líquidos. Los filtros de profundidad, como el filtro HEPA, se utilizan para eliminar microorganismos y otras sustancias contaminantes de líquidos o del aire. Los filtro de membrana se usan para la esterilización de líquidos termosensibles, y los filtros de nucleación se utilizan para aislar especímenes en microscopía electrónica.

- ¿Por qué se utilizan filtros para la esterilización de líquidos termosensibles?
- Describa el uso de filtros de profundidad para mantener el aire limpio en hospitales, laboratorios y casas particulares.

II CONTROL QUÍMICO ANTIMICROBIANO

Diariamente empleamos productos químicos para controlar el crecimiento microbiano, tanto en el ámbito doméstico como en el laboral. Un **agente antimicrobiano** es un compuesto químico, natural o sintético, que mata o inhibe el crecimiento de los microorganismos. Los agentes que matan microorganismos se denominan agentes *-cida*, un prefijo que indica el tipo de microorganismos que matan. Así, tenemos agentes **bactericidas**, **fungicidas** y **virucidas** que matan bacterias, hongos y virus, respectivamente. Los agentes que no matan, sino que sólo inhiben el crecimiento se llaman agentes *-estáticos*, como por ejemplo, los agentes **bacteriostáticos**, **fungistáticos** y **virustáticos**.

UNIDAD 6

27.4 Control químico del crecimiento microbiano

Los agentes antimicrobianos varían con respecto a su toxicidad selectiva. Los agentes que actúan de forma no selectiva tienen efectos similares sobre todo tipo de células, mientras que los agentes antimicrobianos que tienen toxicidad selectiva son especialmente útiles para el tratamiento de enfermedades infecciosas porque matan a los microorganismos *in vivo* sin afectar al hospedador. Éstos se describirán más adelante en este capítulo. En esta sección estudiaremos los agentes químicos que tienen una toxicidad relativamente amplia y se usan para limitar el crecimiento microbiano *in vitro*.

Efecto de los agentes antimicrobianos sobre el crecimiento

Los agentes antimicrobianos se pueden clasificar como bacteriostáticos, bactericidas o bacteriolíticos, según el efecto que se observe al añadirlos a un cultivo bacteriano

(**Figura 27.9**). Los agentes bacteriostáticos suelen ser inhibidores de la síntesis de proteínas y actúan uniéndose a los ribosomas. Si disminuye la concentración del agente, el antimicrobiano se libera de los ribosomas y se reanuda el crecimiento (Figura 27.9*a*). Muchos antibióticos actúan siguiendo este mecanismo, como se verá en las Secciones 27.6 a 27.9. Los agentes bactericidas se unen fuertemente a sus células diana, provocan la muerte de la célula y no se eliminan por dilución. No obstante, las células muertas no se destruyen, y el número total de células se mantiene estable (Figura 27.9*b*). Algunos *bactericidas* son también *bacteriolíticos*, que provocan la muerte celular por lisis y por liberación de contenidos citoplasmáticos. La lisis provoca una reducción del número de células y también de la turbidez del cultivo (Figura 27.9*c*). Entre los agentes bacteriolíticos se incluyen los antibióticos que inhiben la síntesis de la pared celular, como la penicilina, y compuestos químicos como los detergentes, que lesionan la membrana citoplasmática.

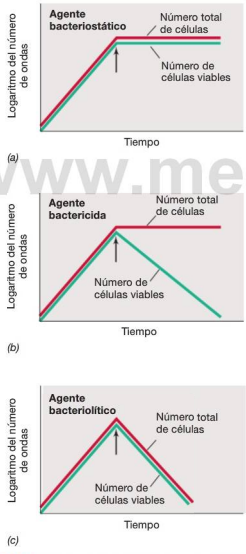


Figura 27.9 Agentes antimicrobianos bacteriostáticos, bactericidas, y bacteriolíticos. En el momento (tiempo) indicado por la flecha, se añadió el agente antimicrobiano en una concentración inhibitoria del crecimiento, a un cultivo en fase exponencial de crecimiento. Obsérvese la relación entre el número de células viables y el de células totales.

Cuantificación de la actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana se mide determinando la cantidad más pequeña que se necesita de un agente para inhibir el crecimiento de un organismo control, valor llamado **concentración mínima inhibitoria (CMI)**. Para determinar la CMI de un determinado agente frente a un microorganismo, se prepara una serie de tubos de cultivo y se inoculan. Cada tubo contiene un medio con una concentración diferente del agente. Tras la incubación, se comprueba si ha habido crecimieto visible (turbidez) en los tubos. La CMI es la concentración de agente más baja que inhibe completamente el crecimiento del organismo utilizado en el ensayo (**Figura 27.10**). Este procedimiento se denomina *técnica de dilución en tubo*.

La CMI no es constante para un agente determinado, sino que varía dependiendo del microorganismo utilizado en el ensayo, el tamaño del inóculo, la composición del medio de cultivo, el tiempo de incubación y las condiciones de ésta, tales como la temperatura, el pH y la aireación. No obstante, cuando se estandarizan todas las condiciones del cultivo, es posible comparar diferentes agentes antimicrobianos para determinar cuál resulta más eficaz frente a un determinado microorganismo.

Otro procedimiento comúnmente utilizado para comprobar la acción antimicrobiana es el *método de difusión en agar* (**Figura 27.11**). Se prepara una placa Petri que conten-

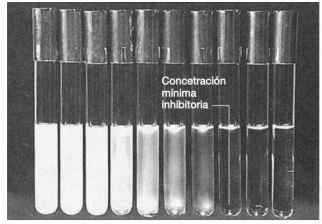


Figura 27.10 Evaluación de la sensibilidad a los antibióticos mediante métodos de dilución. El ensayo permite determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) del agente. Se prepara una serie de tubos con concentraciones crecientes del antibiótico en el medio de cultivo. Cada tubo se inocula con una concentración específica de un organismo control, y se someten todos a incubación. El crecimiento, que se mide según la turbidez, tiene lugar en los tubos con concentraciones del antibiótico inferiores a la CMI.

www.medi

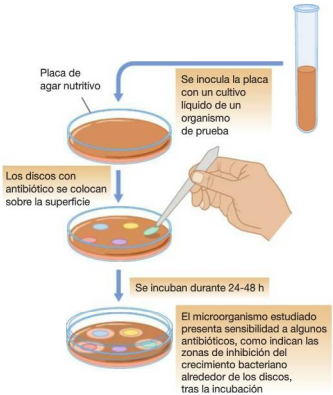


Figura 27.11 Cuantificación de la acción antimicrobiana. El antibiótico se difunde desde los discos de papel al agar que los rodea, inhibiendo el crecimiento de los microorganismos sensibles.

www.MMicol

ga un medio con agar, y se inocula con un cultivo del organismo control. Se añaden cantidades conocidas del agente antimicrobiano a discos de papel de filtro, que se colocan en la superficie del agar. Durante la incubación, el agente difunde desde el papel de filtro al agar, estableciendo un gradiente; la concentración del agente disminuye a medida que aumenta la distancia al papel de filtro. A una determinada distancia del disco se alcanza la CMI. A partir de ese punto hay crecimiento microbiano, pero en las proximidades del disco no se produce dicho crecimiento. Se crea entonces una *zona de inhibición* con un diámetro proporcional a la cantidad de agente antimicrobiano añadido al disco, la solubilidad del agente, el coeficiente de difusión y la eficacia del agente. El método de difusión en agar y otros métodos que basados en el crecimiento microbiano se utilizan de forma rutinaria para ensayar la sensibilidad a los antibióticos en patógenos (*véase* Sección 32.3).

27.4 Minirrevisión

A menudo se emplean compuestos químicos para controlar el crecimiento microbiano. Los agentes microbianos que matan organismos se denominan agentes *-cidas*; los que inhiben el crecimiento se denominan *-estáticos*, y los que lisan organismos se denominan *-líticos*. La eficacia de un agente químico antimicrobiano se cuantifica determinando su capacidad para inhibir el crecimiento *in vitro*.

- Explique qué diferencias existen entre los efectos de los agentes antimicrobianos *-estáticos*, de los *-cidas* y de los *-líticos*.
- Describa cómo se determina la concentración mínima inhibitoria de un agente antibacteriano.

27.5 Agentes antimicrobianos químicos para uso externo

Los agentes antimicrobianos químicos se dividen en dos grupos. El primero comprende los productos antimicrobianos que se utilizan para controlar los microorganismos en el ámbito industrial y comercial: productos químicos utilizados en alimentos, torres de refrigeración de aire acondicionado, productos textiles y papeleros, depósitos de combustible, etcétera. Algunos de estos productos son nocivos para el ser humano. La **Tabla 27.3** ofrece ejemplos de aplicaciones industriales de compuestos químicos utilizados para controlar el crecimiento microbiano.

La segunda categoría de agentes antimicrobianos contiene productos diseñados para impedir el crecimiento de microorganismos patógenos para los seres humanos en ambientes inanimados y en superficies corporales externas. Esta categoría se subdivide a su vez en esterilizantes, desinfectantes, higienizantes y antisépticos.

Esterilizantes

Los **esterilizantes** químicos, también denominados **esporicidas**, destruyen todos los tipos de vida microbiana, incluidas las endosporas. Los esterilizantes químicos se utilizan en situaciones en las que es imposible emplear métodos de esterilización o descontaminación por calor (Sección 27.1) o por radiación (Sección 27.2). Por ejemplo, en hospitales y laboratorios se deben descontaminar y esterilizar los materiales sensibles al calor, tales como termómetros, instrumentos con lentes, tubos de polietileno, catéteres e instrumental clínico reutilizable, como los respirómetros. Para ello, generalmente se utiliza algún tipo de esterilización fría. La esterilización fría se lleva a cabo en dispositivos cerrados parecidos a los autoclaves, pero se emplea un agente químico gaseoso, como el óxido de etileno, el formaldehído, el ácido per-acético o el peróxido de hidrógeno. Los esterilizantes líquidos, como las soluciones de hipoclorito de sodio (lejía) o el amilfenol, se utilizan para esterilizar instrumentos que no pueden soportar las altas temperaturas ni la exposición a gases (**Tabla 27.4**).

Desinfectantes, higienizantes y antisépticos

Los **desinfectantes** son productos químicos que matan microorganismos, aunque no necesariamente endosporas, y se usan en objetos inanimados. Por ejemplo, desin-

Tabla 27.3 Aplicaciones industriales de los productos químicos antimicrobianos.

Industria	*Productos químicos*	*Aplicación*
Papelera	Mercuriales orgánicos, fenoles*, metil isotiazolinona	Evitar el crecimiento de microorganismos durante la fabricación
Cuero	Metales pesados, fenoles*	Los agentes antiminoticos presentes en el producto final inhiben el crecimiento
Plástico	Detergentes catiónicos	Evitar el crecimiento de bacterias en las dispersiones acuosas de los plásticos
Textil	Metales pesados, fenoles*	Evitar el deterioro producido por los microorganismos en tejidos expuestos al ambiente, como toldos o tiendas de campaña
Maderera	Sales metálicas, fenoles*	Evitar el deterioro de las estructuras de madera
Metalúrgica	Detergentes catiónicos	Evitar el crecimiento de bacterias en las emulsiones acuosas usadas al cortar metales
Petrolera	Compuestos de mercurio, fenoles*, detergentes catiónicos, metil isotiazolinona	Evitar el crecimiento de bacterias durante la recuperación y el almacenamiento del petróleo y derivados del petróleo
Aire acondicionado	Cloro, fenoles*, metil isotiazolinona	Evitar el crecimiento de bacterias (por ejemplo, Legionella) en torres de refrigeración
Energía eléctrica	Cloro	Evitar el crecimiento de bacterias en condensadores y torres de refrigeración
Nuclear	Cloro	Evitar el crecimiento de bacterias resistentes a la radiación en reactores nucleares

*Los compuestos metálicos (de mercurio, arsénico y cobre) y los compuestos fenólicos pueden producir residuos tóxicos para el medio ambiente y suponer un peligro para la salud.

fectantes como el etanol y los detergentes catiónicos se emplean para descontaminar suelos, mesas, superficies de bancos, paredes, etcétera. Estos agentes son importantes para el control de infecciones en lugares como hospitales u otras instalaciones médicas. Los desinfectantes de uso general se emplean en la limpieza doméstica, la limpieza de piscinas y la depuración de aguas (Tabla 27.4).

Los **agentes higienizantes** son agentes que reducen —pero no eliminan— la cantidad de microorganismos a niveles que se consideran seguros. Los higienizantes para superficies que están en contacto con los alimentos se utilizan de modo generalizado en la industria alimentaria en el tratamiento de superficies tales como platos, utensilios de cocina y equipos para mezclar y cocinar alimentos. Los higienizantes para superficies que no están en contacto con los alimentos se utilizan para tratar superficies como los mostradores, los suelos, las paredes, las alfombras y la ropa (Tabla 27.4).

Los **antisépticos** son agentes químicos que matan o inhiben el crecimiento de microorganismos, y cuya toxicidad es lo bastante baja como para poder ser aplicados a tejidos vivos. La mayoría de compuestos de esta categoría se utilizan para el lavado de manos (*véase* Información adicional: «Cómo prevenir la resistencia a los fármacos antimicrobianos») o para tratar heridas superficiales (Tabla 27.4). En determinadas circunstancias, algunos antisépticos también actúan como desinfectantes eficaces. El etanol, por ejemplo, está clasificado como un antiséptico, pero también puede ser desinfectante. Esto depende fundamentalmente de la concentración de etanol que se emplee y del tiempo de exposición, ya que la desinfección generalmente requiere concentraciones de etanol más altas y tiempos de exposición de varios minutos. En los Estados Unidos, la Administración para Alimentos y Medicamentos (FDA) regula la formulación, fabricación y uso de antisépticos, puesto que la manipulación de estos productos implica un contacto y una exposición directa del ser humano.

Eficacia antimicrobiana

Existen diversos factores que afectan a la eficacia de los agentes antimicrobianos químicos. Por ejemplo, muchos desinfectantes son neutralizados por materiales orgánicos, que reducen las concentraciones eficaces de desinfectante y su consiguiente capacidad de eliminar microbios. Además, los patógenos suelen estar recubiertos de partículas, o crecen en grandes cantidades formando biopelículas y cubriendo superficies de tejido o de aparatos clínicos con diversas capas de células microbianas (Capítulo 6, Información adicional: «Crecimiento microbiano en el mundo real: las biopelículas). Las biopelículas pueden ralentizar, o incluso impedir, la penetración de los agentes microbianos, lo cual reduce o anula su efectividad.

Sólo los esterilizantes son eficaces contra las endosporas bacterianas. Éstas son mucho más resistentes a otros agentes de lo que lo son las células vegetativas, debido a su escasa disponibilidad de agua y a su reducido metabolismo (Sección 27.1). Algunas bacterias como *Mycobacterium tuberculosis*, el agente que causa la tuberculosis, son resistentes a la acción de los desinfectantes comunes debido a la naturaleza cérea de su pared celular (*véanse* Secciones 16.5 y 34.5). Así pues, la eficacia del tratamiento antimicrobiano debe ser determinada de forma empírica en condiciones reales de uso.

Tabla 27.4 Antisépticos, esterilizantes, desinfectantes e higienizantes.

Agente	*Aplicación*	*Modo de acción*
Antisépticos		
Alcohol (60-85% etanol o isopropanol en agua)[a]	Antiséptico de uso tópico	Disuelve líquidos y desnaturaliza proteínas
Compuestos que contienen fenol (hexaclorofeno, triclosán, cloroxilenol, clorhexidina)[b]	Jabones, lociones, cosméticos, desodorantes corporales, desinfectantes de uso tópico	Altera (rompe) la membrana celular
Detergentes catiónicos, especialmente compuestos de amonio cuaternario (cloruro de benzalconio)	Jabones, lociones, desinfectantes de uso tópico	Interacciona con los fosfolípidos de la membrana citoplasmática
Peróxido de hidrógeno[a] (solución al 3%)	Antiséptico de uso tópico	Agente oxidante
Compuestos yodóforos que contienen yodo en solución[a] (Betadine®)	Antiséptico de uso tópico	El yodo se combina con los residuos de tirosina de las proteínas; agente oxidante
Octenidina	Antiséptico de uso tópico	Altera (rompe) la membrana citoplasmática
Esterilizantes, desinfectantes e higienizantes[c]		
Alcohol (60-85% etanol o isopropanol en agua)[a]	Desinfectante para instrumental médico y superficies de laboratorio	Disuelve líquidos y desnaturaliza proteínas
Detergentes catiónicos (compuestos de amonio cuaternario)	Desinfectante e higienizante para instrumental médico y equipos de las industrias láctea y alimentaria	Interacciona con fosfolípidos
Gas cloro	Desinfectante para la depuración de suministros de agua	Agente oxidante
Compuestos clorados (cloraminas, hipoclorito sódico, clorito sódico, dióxido de cloro)	Desinfectante e higienizante para equipos de las industrias láctea y alimentaria y para suministros de agua	Agente oxidante
Sulfato de cobre	Desinfectante algicida para piscinas y suministros de agua	Precipita proteínas
Óxido de etileno (gas)	Esterilizante para materiales termosensibles, como los plásticos y el instrumental con lentes	Agente alquilante
Formaldehído	Solución al 3%-8% usada como desinfectante de superficies; al 37% (formalina) o vapor se usa como esterilizante	Agente alquilante
Glutaraldehído	Solución al 2% usada como desinfectante o esterilizante de nivel de desinfección alto	Agente alquilante
Peróxido de hidrógeno[a]	Vapor usado como esterilizante	Agente oxidante
Compuestos yodóforos que contienen yodo en solución[a] (Wescodyne®)	Desinfectante para instrumental médico y superficies de laboratorio	El yodo se combina con los residuos de tirosina
Dicloruro de mercurio[b]	Desinfectante para superficies de laboratorio	Se combina con los grupos -SH
OPA (Ortoftalaldehído)	Desinfectante de nivel de desinfección alto para instrumental médico	Agente alquilante
Ozono	Desinfectante para agua potable	Fuerte agente oxidante
Ácido peroxiacético	Solución usada como desinfectante o esterilizante de nivel de desinfección alto	Fuerte agente oxidante
Compuestos fenólicos[b]	Desinfectante para superficies de laboratorio	Desnaturaliza proteínas

[a] Los alcoholes, el peróxido de hidrógeno y los compuestos yodóforos que contienen yodo pueden actuar como antisépticos, desinfectantes, higienizantes o esterilizantes, dependiendo de la concentración, el tiempo de exposición y el modo de administración.

[b] El uso de compuestos de metales pesados (de mercurio) y de compuestos fenólicos puede producir residuos tóxicos para el medio ambiente y suponer un peligro para la salud.

[c] Numerosos compuestos antimicrobianos solubles en agua (excepto aquéllos que contienen metales pesados) pueden utilizarse como higienizantes para el equipo de las industrias alimentaria y láctea y para las zonas de preparación de alimentos, siempre que dichos materiales se enjuaguen bien tras el tratamiento.

www.medilibros.com

27.5 Minirrevisión

Los esterilizantes, desinfectantes e higienizantes se utilizan para descontaminar materiales inanimados. Los antisépticos se emplean para reducir el crecimiento microbiano en tejidos vivos. Los compuestos antimicrobianos tienen diversas aplicaciones comerciales, sanitarias e industriales.

Información adicional

Cómo prevenir la resistencia a los fármacos antimicrobianos

Según el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC, por sus siglas en inglés) de Atlanta (EEUU), la resistencia a los agentes antimicrobianos está muy extendida. En Estados Unidos, por ejemplo, cerca de 2 millones de pacientes desarrollan cada año infecciones adquiridas en un hospital, denominadas nosocomiales. La infecciones nosocomiales tienen un tratamiento difícil, porque hasta el 70% de los microorganismos infecciosos son resistentes a los fármacos antimicrobianos. En el caso de *Staphylococcus aureus,* que causa el 10% de estas enfermedades, la **Figura 1** muestra que la resistencia a la meticilina y la oxacilina se ha incrementado el doble en un período de 13 años. Dado que estos aislamientos de *Staphylococcus aureus* también suelen ser resistentes a otros fármacos, la aparición de cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina y la oxacilina limita la oferta de fármacos eficaces. También resulta preocupante la resistencia desarrollada por *Mycobacterium tuberculosis, Enterococcus faecium* y *Candida albicans.*

El CDC ha promovido un programa de 12 pasos para prevenir la resistencia a los agentes antimicrobianos, que aparece resumido a continuación (*véase* también **http://www.cdc.gov/drugresistance/healthcare/ha/12steps_HA.htm).** El programa pone especial énfasis en la importancia de prevenir las infecciones, diagnosticar y tratar las infecciones de forma rápida, utilizar los agentes antimicrobianos de forma responsable y prevenir la transmisión de patógenos.

Figura 1 ***Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM).** Infecciones nosocomiales en pacientes de cuidados intensivos, 1989-2001. Datos del CDC.

1. **Inmunizarse para prevenir la aparición de enfermedades comunes.** Las inmunizaciones se deben tener actualizadas, especialmente si existen probabilidades de que se produzca una exposición a la enfermedad. Además de las vacunas necesarias (*véase* Sección 30.5), este punto incluye la vacuna anual contra la gripe para casi todas las personas, y las vacunas de meningitis y las inmunizaciones contra neumococos para el personal sanitario y para aquellas personas que trabajan expuestas al público, como en el caso de los centros educativos o el ejército.
2. **Evitar la introducción innecesaria de instrumentos parenterales, tales como catéteres.** Todos ellos presentan el riesgo de introducir agentes infecciosos en el cuerpo. Si el uso de dichos instrumentos es necesario, deben retirarse lo antes posible.
3. **Atacar al patógeno.** Se debe intentar cultivar el agente infeccioso mientras se busca un tratamiento antimicrobiano para los patógenos de mayor incidencia. Tras los resultados positivos del cultivo, se debe ajustar la terapia para atacar al patógeno conocido y su sensibilidad a los antibióticos.
4. **Contactar con personal experto.** En los casos de infecciones graves, es recomendable realizar el seguimiento con la supervisión de una persona experta en enfermedades infecciosas. Si la persona infectada no mejora rápidamente tras el inicio del tratamiento, se debe solicitar una segunda opinión.
5. **Practicar el control antimicrobiano.** Es necesario conocer y estar al día de los fármacos antimicrobianos adecuados y de su uso. Asegúrese de que el tratamiento ofrecido está actualizado y recomendado para el patógeno en cuestión.
6. **Utilizar datos locales.** Se recomienda consultar fuentes sanitarias locales para obtener y entender el perfil de

mundolibros.com

- Explique cuál es la diferencia entre un esterilizante, un desinfectante, un higienizante y un antiséptico.
- ¿Qué desinfectantes se utilizan de forma rutinaria en la esterilización del agua? ¿Por qué no son dañinos para el ser humano estos desinfectantes?

III AGENTES ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS *IN VIVO*

Hasta ahora hemos considerado los efectos de los agentes físicos y químicos que se emplean para inhibir el crecimiento microbiano *fuera* del cuerpo humano. La mayoría de los métodos físicos son demasiado severos, y la mayor

(continuación)

sensibilidad a los antibióticos del agente infeccioso.

7. **Tratar la infección, no la contaminación.** Deben emplearse técnicas antisépticas para obtener muestras adecuadas de tejidos infectados. Los organismos contaminantes pueden estar presentes en piel, catéteres y/o vías intravenosas. Se deben obtener cultivos sólo del sitio de infección.
8. **Tratar la infección, no la colonización.** Es importante tratar el patógeno y no los otros microorganismos colonizadores que no causan la enfermedad. Por ejemplo, los cultivos de tejidos cutáneos y faríngeos normales suelen estar colonizados por patógenos potenciales, tales como algunas especies de *Staphylococcus*, que pueden no estar relacionados con la infección en curso.
9. **Tratar con el agente antimicrobiano menos exótico que pueda eliminar el patógeno.** Aun siendo eficaz, un tratamiento con el antibiótico de amplio espectro más novedoso puede no estar garantizado si existen otros fármacos que todavía son eficaces. Cuanto más se emplea un fármaco, mayor es la probabilidad de que se desarrollen organismos resistentes a éste. Por ejemplo, algunos aislamientos de *Enterococcus* ya son resistentes a la vancomicina, un antibiótico de amplio espectro relativamente nuevo. Esto se debe en gran parte a que, cuando fue introducido, este fármaco se prescribió de forma abusiva para el tratamiento de infecciones producidas por SARM (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina).
10. **Hacer un seguimiento del uso de antimicrobianos.** El uso de agentes antimicrobianos debe interrumpirse tan pronto como se cumpla el tratamiento prescrito. Si no es posible diagnosticar una infección, se debe interrumpir el tratamiento. Por ejemplo, en el caso de la faringitis, a menudo se comienza el tratamiento con antibióticos para *Streptococcus pyogenes* (causante de la amigdalitis) antes de que se confirme el resultado del cultivo de tejidos faríngeos. Si estos cultivos dan un resultado negativo de *Streptococcus pyogenes*, el tratamiento con antibióticos debe interrumpirse, puesto que estos fármacos son ineficaces para el tratamiento de virus, que son la causa más probable de faringitis.
11. **Aislar el patógeno.** Las zonas que rodean a las personas infectadas se deben mantener libres de contaminación, por lo que es importante limpiar bien y recoger los fluidos corporales en contenedores adecuados. Es necesario descontaminar sábanas, ropa y demás fuentes de contaminación potenciales. En los hospitales, se recomienda consultar al personal experto en el control de infecciones.
12. **Romper la cadena de contagios.** Cuando una persona está enferma debe evitar el contacto con otras personas, incluso en el puesto de trabajo o en clase. Si se tiene una infección, o se está cuidando de personas enfermas, es imprescindible mantener la higiene, especialmente mediante el lavado de manos (**Figura 2**).

©DCNetwork/ Getty

Figura 2 Lavado de manos. *El lavado de manos es el método más sencillo, y uno de los más importantes, para prevenir la propagación de patógenos en el ámbito sanitario y doméstico, y también en los laboratorios. Esta instalación para el lavado de manos se encuentra en un laboratorio clínico.*

www.mhe.es/bros.com

parte de los productos químicos mencionados son demasiado tóxicos como para utilizarlos *en el interior* del cuerpo humano; de hecho, los antisépticos relativamente suaves se pueden usar solamente sobre la piel. Para controlar las enfermedades infecciosas, es necesario disponer de compuestos químicos que puedan usarse por vía interna. El descubrimiento y desarrollo de fármacos antimicrobianos ha desempeñado un papel importantísimo en la medicina clínica y veterinaria, así como en la agricultura.

Los fármacos antimicrobianos se clasifican según su estructura molecular, mecanismo de acción (**Figura 27.12**) y espectro de acción antimicrobiana (**Figura 27.13**). Anualmente se fabrican en todo el mundo más de 500 toneladas métricas de fármacos antimicrobianos variados (**Figura 27.14**). Los agentes antimicrobianos se dividen en dos grandes categorías: los *agentes sintéticos* y los *antibióticos*. En primer lugar nos centraremos en los compuestos antimicrobianos sintéticos, y

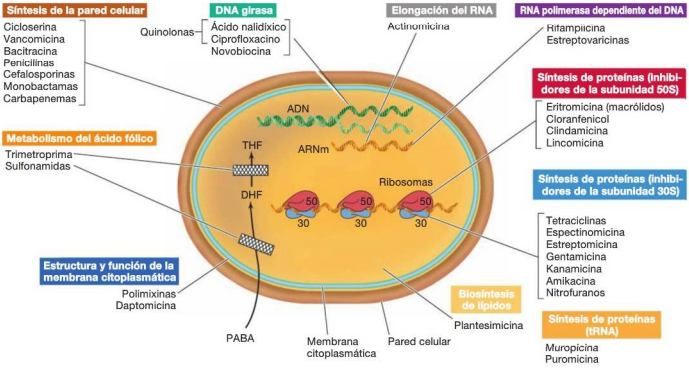


Figura 27.12 **Modo de acción de los principales agentes quimioterapéuticos antimicrobianos.** Los agentes se clasifican según sus estructuras diana en la célula bacteriana. THF, tetrahidrofolato; DHF, dihidrofolato; mRNA, RNA mensajero.

www.medilibros.com

estudiaremos los antibióticos producidos de forma natural en las secciones siguientes.

27.6 Antimicrobianos sintéticos

El desarrollo de fármacos antimicrobianos comenzó con el científico alemán Paul Ehrlich. En los primeros años del siglo xx, Ehrlich desarrolló el concepto de **toxicidad selectiva**, que consiste en la capacidad de inhibir o matar microorganismos patógenos sin perjudicar al hospedador. En su búsqueda de una «bala mágica» que matase sólo a los patógenos, Ehrlich ensayó la toxicidad selectiva de una serie de colorantes químicos y descubrió los primeros fármacos antimicrobianos eficaces, de los cuales el Salvarsán —un compuesto que contiene arsénico y se empleaba en el tratamiento de la sífilis— fue el más famoso (**Figura 27.15**).

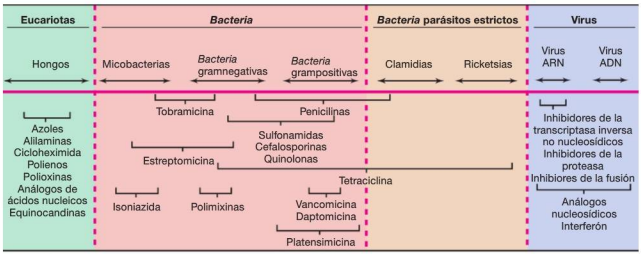


Figura 27.13 **Espectro de acción antimicrobiana.** Cada agente quimioterapéutico antimicrobiano afecta a un grupo de microorganismos limitado y bien definido. Algunos agentes son muy específicos y afectan al crecimiento de un único genero. Por ejemplo, la isoniazida afecta sólo a los microorganismos del genero *Mycobacterium*.

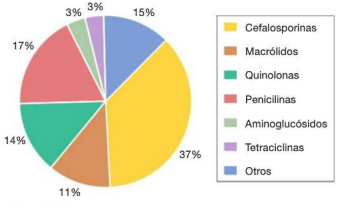


Figura 27.14 **Producción y consumo mundial anual de antibióticos.** Cada año se producen más de 500 toneladas métricas de agentes quimioterapéuticos.

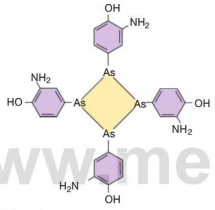


Figura 27.15 **Salvarsán.** Este compuesto que contiene arsénico fue uno de los primeros agentes antimicrobianos eficaces.

www.medilibros.com

Análogos de los factores de crecimiento

Existe una la clase de fármacos antimicrobianos que actúa alterando el metabolismo bacteriano. En la Sección 5.1 definimos los factores de crecimiento como sustancias químicas específicas que se requieren en el medio de cultivo porque los microorganismos no pueden sintetizarlas. Un **análogo del factor de crecimiento** es un compuesto sintético cuya estructura es similar a la de un factor de crecimiento, pero que posee diferencias estructurales sutiles que le impiden realizar la función del factor de crecimiento en la célula. Se conocen análogos de muchas biomoléculas importantes, como las vitaminas, los aminoácidos, las purinas, las pirimidinas y otros compuestos. Además de los análogos de los factores de crecimiento como antibacterianos, que veremos a continuación, existen diversos análogos de los factores de crecimiento que resultan eficaces para el tratamiento de infecciones víricas y fúngicas, de los que hablaremos en las Secciones 27.10 y 27.11.

Las sulfamidas

Descubiertas en la década de 1930 por Gerhard Domagk, las *sulfamidas* fueron los primeros análogos de factores de crecimiento capaces de inhibir específicamente el crecimiento de bacterias. El descubrimiento de la primera sulfamida surgió como consecuencia de la búsqueda a gran escala de productos químicos que fuesen activos frente a infecciones estreptocócicas en animales de experimentación.

La sulfanilamida, que es la sulfamida más simple, es un análogo del ácido *p*-aminobenzoico, que, a su vez, forma parte del ácido fólico (vitamina), un precursor del ácido nucleico (**Figura 27.16**). La sulfanilamida actúa bloqueando la síntesis del ácido fólico, e inhibe así la síntesis de ácido nucleico. La sulfanilamida sólo es activa en bacterias debido a que éstas sintetizan su propio ácido fólico, mientras que la mayoría de los animales obtienen el ácido fólico de su dieta. Al principio, las sulfamidas se usaron de forma muy extendida para el tratamiento de infecciones estreptocócicas (*véase* Sección 34.2), pero actualmente, la resistencia a las sulfonamidas ha aumentado porque numerosos patógenos que eran sensibles a este fármaco han desarrollado la capacidad de utilizar fuentes exógenas de ácido fólico. La terapia antimicrobiana de sulfametoxazol (un tipo de sulfamida) combinado con trimetoprima, un competidor de la síntesis del ácido fólico relacionado, todavía resulta eficaz en muchos casos, debido a que la combinación de fármacos produce un bloqueo secuencial de la ruta de la síntesis del ácido fólico. La resistencia a esta combinación farmacológica sólo se produce si se dan dos mutaciones en genes de una misma ruta, lo cual ocurre en casos relativamente excepcionales.

La isoniazida

La isoniazida (*véase* Figura 34.11) es un importante análogo de factor del crecimiento con un espectro de acción muy reducido (Figura 27.13). La isoniazida, que sólo es eficaz frente a *Mycobacterium*, interfiere la síntesis del ácido micólico, un material específico de la pared celular de las micobacterias. La isoniazida es un análogo de

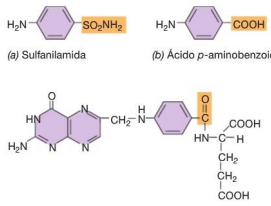


Figura 27.16 **Sulfamidas.** *(a)* La sulfamida más sencilla, la sulfanilamida. *(b)* La sulfanilamida es un análogo del ácido *p*-aminobenzoico, un precursor del ácido fólico *(c)*, que es un factor de crecimiento.

UNIDAD 6

la nicotinamida (vitamina), y es el fármaco de utilización única más eficaz en el control y tratamiento de la tuberculosis (*véase* Sección 34.5).

Análogos de bases del ácido nucleico

En los ejemplos que muestra la **Figura 27.17**, los análogos de bases del ácido nucleico se han formado por adición de un átomo de flúor o bromo. El flúor es un átomo relativamente pequeño y no afecta a la estructura general de la base del ácido nucleico, pero cambia las propiedades químicas de tal manera que el compuesto no actúa de forma normal en el metabolismo celular, y provoca así el bloqueo de la síntesis del ácido nucleico. Como ejemplos cabe citar el fluorouracilo, un análogo del uracilo, y el bromouracilo, un análogo de la timina. Los análogos de los factores de crecimiento que se parecen a los ácidos nucleicos se utilizan en el tratamiento de infecciones víricas y fúngicas, y se emplean también como mutágenos (*véanse* Secciones 27.10 y 27.11).

Las quinolonas

Las **quinolonas** son compuestos antibacterianos que interaccionan con la DNA girasa bacteriana impidiendo que se produzca el superenrollamiento del DNA necesario para el empaquetamiento del DNA en la célula bacteriana (Figura 27.12) (*véase* Sección 7.3). Las fluoroquinolonas como el ciprofloxacino (**Figura 27.18**) se usan de forma rutinaria para tratar infecciones del tracto urinario en seres humanos. El ciprofloxacino también es el tratamiento de elección para el carbunco o ántrax maligno, puesto que algunas cepas de *Bacillus anthracis*, el agente causante del ántrax (*véase* Sección 33.12), son resistentes a la penicilina. Dado que la DNA girasa se encuentra en todas las *Bacteria*, las fluoroquinolonas son eficaces en el tratamiento de las infecciones provocadas por bacterias grampositivas y gramnegativas (Figura 27.13). Las fluoroquinolonas también se usan industrialmente en la cría de terneros y pollos para evitar y tratar enfermedades respiratorias.

27.6 Minirrevisión

Los agentes antimicrobianos sintéticos tienen toxicidad selectiva para *Bacteria*, virus y hongos. Los análogos de factores de crecimiento como las sulfamidas, la isoniazida y los análogos del ácido nucleico son inhibidores del metabolismo sintéticos. Las quinolonas inhiben la acción de la DNA girasa en *Bacteria*.

- Explique qué se entiende por toxicidad selectiva en el contexto de la terapia antibiótica.
- Explique qué diferencias existen entre los agentes quimioterapéuticos sintéticos y los agentes antisépticos y desinfectantes.
- Describa la acción de un análogo del factor de crecimiento.

www.medilibros.com

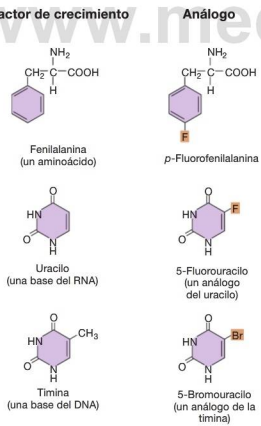


Figura 27.17 Factores de crecimiento y análogos antimicrobianos. Factores de crecimiento estructuralmente similares y sus análogos biológicamente activos. Los factores de crecimiento se describen en la Sección 5.1.

27.7 Antimicrobianos naturales: los antibióticos

Los **antibióticos** son agentes antimicrobianos producidos por microorganismos (bacterias y hongos), y aparentemente, su única función consiste en inhibir o matar a otros microorganismos. De los miles de antibióticos que se conocen, menos de un 1% tienen aplicación en medicina, y esto se debe a menudo a su toxicidad o a la ausencia de captación por parte de los hospedadores. No obstante, los antibióticos que tienen aplicación médica han

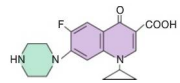


Figura 27.18 Ciprofloxacino, una quinolona. El ciprofloxacino, un derivado fluorado del ácido nalidíxico, es más soluble que este ácido, lo cual le permite alcanzar niveles terapéuticos en sangre y tejidos.

tenido un impacto sustancial en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Los antibióticos *naturales* se pueden modificar de forma artificial para potenciar su eficacia, y el resultado se denomina antibiótico *semisintético*. La producción industrial de antibióticos se describe en el Capítulo 25.

Los antibióticos y la toxicidad selectiva antimicrobiana

La sensibilidad de los microorganismos a los agentes antimicrobianos varía significativamente (Figura 27.13). Por ejemplo, las *Bacteria* grampositivas son generalmente más sensibles a antibióticos como la penicilina, mientras que la mayoría de las *Bacteria* gramnegativas son más resistentes. Sin embargo, algunos **antibióticos de amplio espectro**, como la tetraciclina, actúan tanto en *Bacteria* grampositivas como en *Bacteria* gramnegativas. Generalmente, un antibiótico de amplio espectro tiene mayor aplicación en medicina que un antibiótico de espectro reducido; no obstante, éste último puede ser de gran valor en el control de patógenos que no son sensibles a otros antibióticos. Un buen ejemplo de ello es la vancomicina, un antibiótico glicopéptido de espectro reducido que actúa con gran eficacia frente a *Bacteria* grampositivas resistentes a la penicilina de los géneros *Staphylococcus*, *Bacillus* y *Clostridium* (Figuras 27.12 y 27.13).

En *Bacteria*, las dianas importantes para la acción de los antibióticos son los ribosomas, la pared celular, la membrana citoplasmática, las enzimas de biosíntesis de lípidos, y los elementos de replicación y transcripción del DNA (Figura 27.12).

Antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas

Existen numerosos antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas interaccionando con el ribosoma y alterando la traducción (Figura 27.12). Estas interacciones son muy específicas y muchas implican una unión al rRNA. Muchos de estos antibióticos tienen aplicaciones en medicina, mientras que otros son herramientas muy eficaces para la investigación porque bloquean pasos específicos de la síntesis de proteínas (*véase* Sección 7.15). Por ejemplo, la estreptomicina inhibe la iniciación de la cadena proteica, mientras que la puromicina, el cloranfenicol, la cicloheximida y la tetraciclina inhiben la elongación de la cadena proteica.

Aun cuando dos antibióticos inhiban el mismo paso de la síntesis de proteínas, los mecanismos de inhibición pueden ser muy dispares. Por ejemplo, la puromicina se une al sitio A del ribosoma, y la cadena polipeptídica que se está formando se transfiere a la puromicina en lugar de al complejo aminoácido tRNA. El complejo puromicina-péptido se libera entonces del ribosoma, deteniendo la elongación de forma prematura. Por el contrario, el cloranfenicol inhibe la elongación bloqueando la formación de la unión peptídica (*véase* Sección 7.15).

Muchos antibióticos inhiben específicamente los ribosomas de organismos solamente de un dominio filogenético. Por ejemplo, el cloranfenicol y la estreptomicina son específicos para los ribosomas de *Bacteria*, mientras que la cicloheximida sólo afecta a los ribosomas citoplasmáticos de *Eukarya*. Dado que los principales orgánulos (las mitocondrias y los cloroplastos) de *Eukarya* también tienen ribosomas similares a los de las *Bacteria* (es decir, ribosomas 70S), los antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas en *Bacteria* también inhiben la síntesis de proteínas de estos orgánulos. Por ejemplo, la tetraciclina inhibe ribosomas 70, pero tiene aplicación clínica porque las mitocondrias eucarióticas necesitan concentraciones más altas que las empleadas en la terapia antimicrobiana para verse afectadas.

Antibióticos que afectan a la transcripción

Existen diversos antibióticos que inhiben específicamente la transcripción mediante la inhibición de la síntesis de RNA (Figura 27.12). Por ejemplo, las rifamicinas y las estreptovaricinas inhiben la síntesis de RNA uniéndose a la subunidad β de la RNA polimerasa. Estos antibióticos son específicos para *Bacteria*, cloroplastos y mitocondrias. La actinomicina inhibe la síntesis de RNA combinándose con el DNA y bloqueando la elongación del RNA. Este antibiótico se une más fuertemente al DNA en los pares guanina-citosina, situándose en el surco principal de la doble cadena donde se está sintetizando el RNA.

Algunos de los antibióticos más utilizados actúan directamente contra estructuras características de *Bacteria*, como las paredes celulares. Estudiaremos estos antibióticos y sus dianas en la siguiente sección.

27.7 Minirrevisión

Los antibióticos son un grupo químicamente diverso de compuestos antimicrobianos producidos por microorganismos. Aunque se conocen muchos antibióticos, y algunos de ellos tienen aplicación clínica, la mayoría no se pueden utilizar en el ser humano ni en los animales. Los antibióticos actúan inhibiendo los procesos y funciones celulares del microorganismo diana.

- Explique cuáles son las diferencias entre los antibióticos y los análogos de factores del crecimiento.
- ¿Qué es un antibiótico de amplio espectro?
- Identifique los sitios diana potenciales para los antibióticos que inhiben la síntesis de proteínas y la transcripción.

27.8 Los antibióticos β-lactámicos: las penicilinas y las cefalosporinas

Uno de los grupos más importantes de antibióticos, tanto desde el punto de vista histórico como médico, es el grupo β-lactámico. Los **antibióticos β-lactámicos** comprenden las penicilinas, las cefalosporinas y las cefamicinas, todos ellos empleados en medicina. Estos antibió-

ticos comparten una estructura característica llamada *anillo β-lactámico* (**Figura 27.19**). En conjunto, las penicilinas y las cefalosporinas constituyen aproximadamente la mitad de todos los antibióticos que se producen y consumen en el mundo (Figura 27.14).

Las penicilinas

En 1929, el científico británico Alexander Fleming caracterizó el primer antibiótico, un producto antibacteriano del hongo *Penicillium chrysogenum* llamado *penicilina* (Figura 27.19). A pesar del éxito de las sulfamidas en la década de 1930, la mayor parte de las enfermedades producidas por bacterias aún no estaba bajo control. No obstante, hasta 1939 no se desarrolló un proceso para la producción de **penicilina** a gran escala. Los artífices de este descubrimiento fueron un grupo de científicos liderados por Howard Florey, que trabajaron motivados por la inminente Segunda Guerra Mundial. La penicilina G fue el primer antibiótico de aplicación clínica que se utilizó. Este antibiótico β-lactámico resultó ser tremendamente eficaz para el control de infecciones estafilococicas y neumococicas en los soldados, y también era más eficaz que las sulfamidas en el tratamiento de infecciones provocadas por *Streptococcus*. Cuando la Segunda Guerra Mundial terminó en 1945, el uso de la penicilina se hizo extensivo a la sociedad civil y las empresas farmacéuticas comenzaron a investigar otros antibióticos. Surgieron así diversos fármacos que revolucionarían el tratamiento de las enfermedades infecciosas.

La penicilina G actúa principalmente contra *Bacteria* grampositivas porque las *Bacteria* gramnegativas son resistentes al antibiótico. No obstante, la modificación química de la penicilina G ha permitido cambiar significativamente las propiedades del antibiótico resultante. Muchas penicilinas semisintéticas modificadas químicamente muestran una gran eficacia frente a *Bacteria* gramnegativas. La Figura 27.19 muestra las estructuras de algunos tipos de penicilina. Por ejemplo, la ampicilina y la carbenicilina son dos penicilinas semisintéticas que actúan contra algunas *Bacteria* gramnegativas. Las diferencias estructurales en los grupos *N*-acilo de estas penicilinas semisintéticas hacen que éstas puedan transportarse al interior de la membrana externa de las gramnegativas (*véase* Sección 4.7), donde inhiben la síntesis de la pared celular. La penicilina G también es sensible a la β-lactamasa, una enzima producida por numerosas *Bacteria* resistentes a la penicilina (Sección 27.12). La oxacilina y la meticilina son penicilinas semisintéticas resistentes a la β-lactamasa muy utilizadas en medicina.

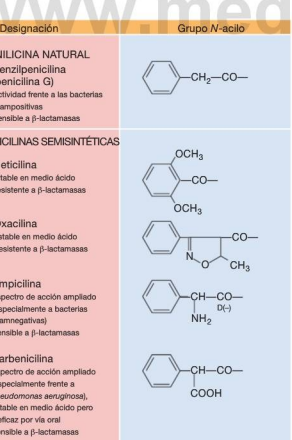


Figura 27.19 **Peniclinas.** La flecha roja (ilustración superior) indica el sitio de acción de la mayoría de las β-lactamasas.

Mecanismos de acción

Los antibióticos β-lactámicos son inhibidores de la síntesis de la pared celular. Una de las características importantes de la síntesis de la pared celular bacteriana es la reacción de *transpeptidación*, que da como resultado el entrecruzamiento de dos cadenas de peptidoglicano (*véanse* Sección 6.4 y Figura 6.7). Las enzimas transpeptidasas se unen a la penicilina o a otros antibióticos β-lactámicos. Por ello, las transpeptidasas se denominan *proteínas que unen penicilina* (PBP, *penicillin-binding proteins*). Cuando las PBP se unen a la penicilina, no pueden catalizar la reacción de transpeptidación, pero la pared celular continúa formándose. Como consecuencia, la pared bacteriana recién sintetizada ya no se entrecruza, y esto provoca su debilitamiento. Además, el complejo antibiótico PBP estimula la liberación de autolisinas que digieren la pared celular existente. El resultado es una pared celular debilitada que acaba por degradarse. Las diferencias de presión osmótica entre el interior de la célula y el exterior provocan finalmente la lisis de la célula. Por el contrario, la vancomicina, que también es un inhibidor de la síntesis de la pared celular, no se une a PBP, sino que se une directamente al péptido terminal D-alanil

D-alanina en los precursores del peptidoglicano (*véase* Figura 6.7), lo cual bloquea la transpeptidación.

Dado que la pared celular y sus mecanismo de síntesis son específicos de *Bacteria*, los antibióticos β-lactámicos tienen una especificidad muy elevada y no son tóxicos para las células del hospedador. No obstante, algunas personas desarrollan alergias a algunos componentes β-lactámicos tras someterse a tratamientos repetidos con esta terapia antibiótica.

Las cefalosporinas

Las cefalosporinas son otro grupo de antibióticos β-lactámicos importante para la medicina. Producidas por el hongo *Cephalosporium* sp. (*véase* Sección 25.6), su estructura es diferente de la de las penicilinas. Las cefalosporinas conservan el anillo β-lactámico, pero tienen un anillo dihidrotiazínico de 6 átomos, en lugar del anillo tiazolidínico de 5 átomos que tienen las penicilinas. Las cefalosporinas tienen el mismo mecanismo de acción que las penicilinas: se unen irreversiblemente a las **PBP** e impiden el entrecruzamiento del peptidoglicano. Las cefalosporinas más importantes que se utilizan en medicina son antibióticos semisintéticos que tienen un espectro de acción más amplio que las penicilinas, y además suelen ser más resistentes a las β-lactamasas, las enzimas que destruyen los anillos β-lactámicos. Por ejemplo, la ceftriaxona (**Figura 27.20**) es muy resistente a las β-lactamasas y, actualmente, ha reemplazado a la penicilina en el tratamiento de infecciones producidas por *Neisseria gonorrhoeae* (gonorrea), debido a que muchas cepas de *Neisseria gonorrhoeae* han desarrollado resistencia a la penicilina (Sección 27.12, *véase* Sección 34.13).

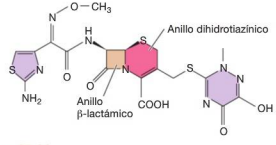


Figura 27.20 Ceftriaxona. La ceftriaxona es un antibiótico β-lactámico resistente a la mayoría de las β-lactamasas debido al anillo dihidrotiazínico de 6 átomos adyacente. Compárese esta estructura con el anillo tiazolidínico de 5 átomos que poseen las penicilinas sensibles a las β-lactamasas (Figura 27.19).

Los aminoglicósidos

Los antibióticos que contienen aminoazúcares unidos por enlaces glicosídicos se denominan **aminoglicósidos**. Algunos de los aminoglicósidos que más se usan en medicina son la estreptomicina —producida por *Streptomyces griseus*— y sus compuestos relacionados, la kanamicina (**Figura 27.21**), la neomicina, la gentamicina, la tobramicina, la netilmicina, la espectinomicina y la amikacina. Los aminoglicósidos actúan inhibiendo la síntesis de proteínas en la subunidad 30S del ribosoma (Figura 27.12), y tienen aplicación clínica contra *Bacteria* gramnegativas (Figura 27.13).

La estreptomicina fue el primer antibiótico que demostró su eficacia en el tratamiento de la tuberculosis. Sin embargo, los antibióticos aminoglicósidos ya no se utilizan de forma generalizada actualmente y, en total, sólo suponen alrededor del 3% de todos los antibióticos

www.libros.com

27.8 Minirrevisión

Los compuestos β-lactámicos, como las penicilinas y las cefalosporinas, son la clase de de antibióticos más importante que se usa en medicina. Estos antibióticos y sus derivados semisintéticos atacan a la síntesis de la pared celular de *Bacteria*. Los antibióticos β-lactámicos son muy poco tóxicos para el hospedador y tienen un espectro de acción muy amplio.

- Dibuje la estructura del anillo β-lactámico e indique el sitio de acción de la β-lactamasa.
- ¿Cómo actúan los antibióticos β-lactámicos?

27.9 Antibióticos producidos por procariotas

Muchos antibióticos que son activos frente a *Bacteria* también son producidos por este tipo de microorganismos. Muchos de estos antibióticos tienen importantes aplicaciones clínicas, por lo que estudiaremos sus propiedades generales en esta sección.

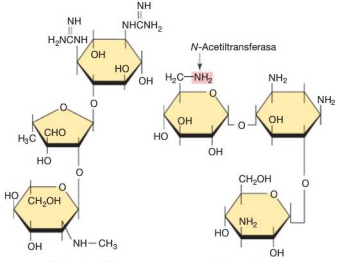


Figura 27.21 Antibióticos aminoglicósidos: la estreptomicina y la kanamicina. Los aminoazúcares se muestran en color amarillo. En la posición indicada, la kanamicina se puede modificar mediante un plásmido de resistencia que codifique *N*-acetiltransferasa. Tras la acetilación, el antibiótico queda inactivo.

producidos y utilizados (Figura 27.14). La estreptomicina presenta efectos secundarios graves, tales como la neurotoxicidad y la nefrotoxicidad, por lo que ha sido sustituida por diversos compuestos sintéticos en el tratamiento de la tuberculosis. Además, las bacterias desarrollan resistencia a los aminoglicósidos rápidamente, de manera que el uso de aminoglicósidos en el tratamiento de infecciones gramnegativas ha descendido debido al desarrollo de penicilinas semisintéticas (Sección 27.8) y de tetraciclinas (que se verán más adelante en esta sección). Actualmente, los aminoglicósidos son considerados antibióticos de reserva y se usan principalmente cuando otros antibióticos dejan de ser activos.

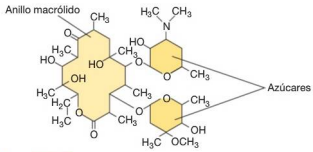
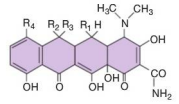


Figura 27.22 La eritromicina, un antibiótico macrólido. La eritromicina es un antibiótico de amplio espectro de uso generalizado.

Los macrólidos

Los macrólidos contienen anillos de lactona unidos a azúcares (**Figura 27.22**). Las variaciones tanto del anillo de lactona como de los azúcares dan como resultado una gran variedad de antibióticos macrólidos. El macrólido más conocido es la eritromicina —producida por *Streptomyces erythreus*—, aunque también tienen aplicaciones clínicas la diritromicina, la claritromicina y la azitromicina. Los macrólidos constituyen el 11% de los antibióticos producidos y consumidos mundialmente (Figura 27.14). La eritromicina es un antibiótico de amplio espectro que actúa inhibiendo la síntesis de proteínas de la subunidad 50S del ribosoma bacteriano (Figura 27.12 y Figura 27.13). En medicina, la eritromicina se utiliza habitualmente en lugar de la penicilina en pacientes que tienen alergia a la penicilina u otros antibióticos β-lactámicos. La eritromicina es especialmente útil en el tratamiento de la legionelosis (*véase* Sección 36.7).



Análogo de la tetracilina	R_1	R_2	R_3	R_4
Tetraciclina	H	OH	CH_3	H
7-Clortetraciclina (aureomicina)	H	OH	CH_3	Cl
5-Oxitetraciclina (terramicina)	OH	OH	CH_3	H

Figura 27.23 Tetraciclina. Los análogos semisintéticos de la tetraciclina son antibióticos importantes.

Las tetraciclinas

Las **tetraciclinas** son producidas por diversas especies de *Streptomyces* (*véase* Sección 25.6), y son grupo de antibióticos muy importante de amplia aplicación médica en humanos. Fueron algunos de los primeros antibióticos de amplio espectro que se usaron, y actúan inhibiendo casi todas las *Bacteria* grampositivas y gramnegativas. La estructura básica de las tetraciclinas consiste en un sistema de anillos de naftaceno (**Figura 27.23**). La estructura básica del anillo de naftaceno puede estar sustituida en diferentes posiciones de forma natural, lo cual da lugar a nuevos análogos de tetraciclina. También se han desarrollado tetraciclinas semisintéticas que tienen sustituciones en el sistema de anillos de naftaceno. Al igual que la eritromicina y los aminoglicósidos, la tetraciclina es un inhibidor de la síntesis de proteínas, e interfiere con la función de la subunidad 30S del ribosoma (Figura 27.12).

Las tetraciclinas y los antibióticos β-lactámicos son los dos grupos antibióticos más importantes usados en medicina. Las tetraciclinas también se emplean en veterinaria, y en algunos países, se utilizan como suplemento nutricional para pollos y cerdos. No obstante, el empleo abusivo de antibióticos de gran importancia médica con otros fines que no son los clínicos ha provocado la aparición generalizada de resistencias a antibióticos. Por este motivo, actualmente se desaconseja el uso de antibióticos con otro fin que no sea el médico.

La daptomicina

La daptomicina es otro antibiótico producido por una especie del género *Streptomyces*. Este nuevo antibiótico es un lipopéptido cíclico (**Figura 27.24**) con un singular mecanismo de acción. La daptomicina, que se utiliza principalmente para tratar infecciones causadas por *Bacteria* grampositivas como *Staphylococcus* y *Streptococcus*, forma un poro que provoca una rápida despolarización en la membrana. La célula despolarizada pierde rápidamente la capacidad de sintetizar macromoléculas tales como los ácidos nucleicos y las proteínas, lo cual provoca la muerte de la célula. En casos excepcionales, las alteraciones en la estructura de la membrana celular pueden provocar resistencia a este antibiótico.

La platensimicina

La platensimicina es el primer miembro de una nueva clase estructural de antibióticos. Producido por *Streptomyces platensis*, este antibiótico (**Figura 27.25**) inhibe

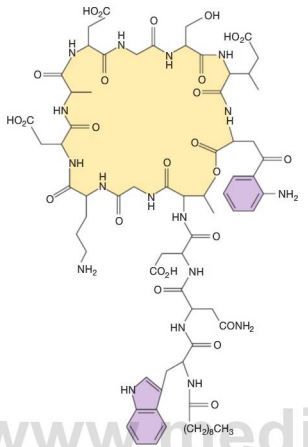


Figura 27.24 **Daptomicina.** La daptomicina es un lipopéptido cíclico que despolariza las membranas citoplasmáticas de las *Bacteria* grampositivas.

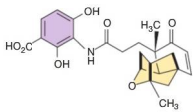


Figura 27.25 **Platensimicina.** La platensimicina inhibe de forma específica la biosíntesis de lípidos en *Bacteria*.

de forma específica una enzima bacteriana que es indispensable para la síntesis de los ácidos grasos, lo cual provoca la alteración de la biosíntesis de lípidos. La platensimicina actúa contra una gran variedad de *Bacteria* grampositivas, tales como *Staphylococcus aureus*, que es resistente a la meticilina, y enterococos que son resistentes a la vancomicina. Ambos tipos de *Bacteria* causan infecciones que resultan especialmente difíciles de tratar. Tras demostrar su eficacia en la erradicación de *Staphylococcus aureus* en ratones, la platensimicina no ha dado muestras de toxicidad. Este antibiótico tiene un mecanismo de acción único, y no se conoce ningún factor potencial de desarrollo de resistencia por parte de los patógenos. Estudiaremos el descubrimiento de la platensimicina en la Sección 27.13.

27.9 Minirrevisión

Los aminoglicósidos, los macrólidos y las tetraciclinas son moléculas estructuralmente complejas producidas por *Bacteria*, y son activas frente a otras *Bacteria*. Estos antibioticos interfieren de forma específica con la síntesis de proteínas de las *Bacteria*. La daptomicina y la platensimicina son antibióticos con una estructura hasta ahora desconocida que atacan a las funciones de la membrana citoplasmática y la biosíntesis de lípidos, respectivamente.

- ¿Cuáles son las fuentes biológicas de los aminoglicósidos, las tetraciclinas, los macrólidos, la daptomicina y la platensimicina?
- ¿Qué mecanismo de acción utiliza cada una de estas clases de antibióticos para provocar la muerte de la célula diana?

IV CONTROL DE VIRUS Y DE PATÓGENOS EUCARIÓTICOS

Los fármacos que controlan el crecimiento de los virus y de los patógenos eucarióticos a menudo afectan también a las células del hospedador. Como consecuencia, es muy difícil lograr toxicidad selectiva para patógenos eucarióticos, y sólo los compuestos que afectan preferentemente a las rutas mebtaólicas específicas del patógeno o a sus componentes estructurales son útiles para tratar estas infecciones. Existe un número limitado de dichos fármacos, y en esta sección describiremos los más importantes.

UNIDAD 6

27.10 Los antivíricos

Dado que los virus utilizan a sus hospedadores eucarióticos para reproducirse y realizar sus funciones metabólicas, la mayoría de los antivíricos son tóxicos no sólo para el patógeno, sino también para el hospedador. No obstante, se sabe que algunos agentes son más tóxicos para los virus que para el hospedador, y que algunos agentes actúan específicamente sobre los virus. Gracias a los esfuerzos realizados por encontrar medidas eficaces para controlar las infecciones provocadas por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), causante del SIDA (*véase* Sección 34.15), se han conseguido algunos logros importantes en el desarrollo y la utilización de antivíricos.

Los quimioterápicos antivíricos

Los agentes más eficaces y utilizados en la quimioterapia antivírica son los análogos de nucleósidos (**Tabla 27.5**). El primer compuesto de esta categoría que tuvo una acepta-

www.medilibros.com

Tabla 27.5 Compuestos quimioterapéuticos antivíricos.

Categoría/medicamento	*Mecanismo de acción*	*Virus afectado*
Inhibidor de la fusión		
Enfuvirtida	Bloquea la fusión de las membranas del VIH y los linfocitos T	VIH[a]
Interferones		
Interferón α	Induce las proteínas que inhiben la replicación vírica	Amplio espectro (específico del hospedador)
Interferón β		
Interferón γ		
Inhibidores de la neuraminidasa		
Oseltamivir (Tamiflue)	Bloquea el sitio activo de la neuraminidasa de la gripe	Virus de la gripe A y B
Zanamivir (Relenza®)		Virus de la gripe A y B
Inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de los nucleósidos NNRTI[b]		
Nevirapine	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH
Análogos de nucleósidos		
Aciclovir	Inhibidores de la polimerasa vírica	Herpesvirus, Varicella zoster
Ganciclovir		Citomegalovirus
Trifluridina		Herpesvirus
Valaciclovir		Herpesvirus
Vidarabina		Herpesvirus, virus vaccinia, virus de la hepatitis B
Abacavir (ABC)	Inhibidores de la transcriptasa inversa	VIH
Didanosina (didesoxiinosina o ddI)		VIH
Emtricitabina (FTC)		VIH
Lamivudina (3TC)		VIH, virus de la hepatitis B
Estavudina (d4T)		VIH
Zalcitabina (ddC)		VIH
Zidovudina (AZT) (Figura 34.42)		VIH
Ribavirina	Bloquea el RNA vírico (capping)	Virus respiratorio sincital, virus de la gripe A y B, virus Lassa
Análogos de nucleótidos		
Cidofovir	Inhibidor de la polimerasa vírica	Citomegalovirus, herpesvirus
Tenofovir (TDF)	Inhibidor de la transcriptasa inversa	VIH
Inhibidores de la proteasa		
Amprenavir	Inhibidor de la proteasa vírica	VIH
Indinavir (Figura 27.31)		VIH
Lopinavir		VIH
Nelfinavir		VIH
Saquinavir (Figura 27.31)		VIH
Análogo de pirofosfato		
Ácido fosfonofórmico (Foscarnet)	Inhibidor de la polimerasa vírica	Herpesvirus, VIH, virus de la hepatitis B
Inhibidor de la ARN polimerasa		
Rifamicina	Inhibidor de la RNA polimerasa	Virus vaccinia, poxvirus
Aminas sintéticas		
Amantadina	Bloquea la decapsidación del virus	Virus de la gripe A
Rimantadina		Virus de la gripe A

[a] Virus de la inmunodeficiencia humana
[b] NNRTI *(Nonnudoside reverse transcriptase inhibitor)*

www.medilibros.com

ción generalizada fue la zidovudina o azidotimidina (AZT) (*véase* Figura 34.42). La AZT inhibe retrovirus tales como el VIH (*véase* Sección 10.12), y está relacionada químicamente con la timidina, pero es un derivado didesoxi-, que carece del grupo hidroxilo 3′. La AZT inhibe la multiplicación de los retrovirus bloqueando la transcripción inversa y la producción del ADN intermediario codificado por el virus, y esto da como resultado la inhibición eficaz de la

multiplicación del VIH. Se han desarrollado otros análogos de nucleósidos que tienen mecanismos de acción similares para el tratamiento del VIH y de otros virus.

Casi todos los análogos de nucleósidos, o **inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos NRTI** (del inglés, *nucleoside reverse transcriptase inhibitors)*, tienen el mismo mecanismo de acción: inhiben la elongación de la cadena del ácido nucleico del virus provocada por la polimerasa de ácidos nucleicos. El análogo de nucleótido cidofovir actúa de la misma manera (Tabla 27.5). Debido a que la diana de acción es la función replicativa normal de la célula, estos compuestos casi siempre son tóxicos para el hospedador. Algunos NRTI también pierden su potencia antivírica con el tiempo debido a la emergencia de virus resistentes a antivíricos (*véase* Sección 34.15).

Otros antivíricos actúan sobre la enzima clave de los retrovirus, la transcriptasa inversa. La nevirapina, un **inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de los nucleósidos NNRTI** (del inglés, *nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor*, se une directamente a la transcriptasa inversa e inhibe la transcripción inversa. El ácido fosfonofórmico, un análogo del pirofosfato orgánico, inhibe los enlaces internucleótidos normales y evita así la síntesis de ácidos nucleicos en los virus. Como ocurre con los NRTI, los NNRTI generalmente tienen cierto nivel de toxicidad debido a que su acción afecta también a la síntesis del ácido nucleico de las células del hospedador.

Los **inhibidores de la proteasa** son otra clase de antivíricos eficaces en el tratamiento del VIH (Tabla 27.5 y Figura 27.31). Estos fármacos evitan la replicación vírica uniéndose al sitio activo de la proteasa del VIH, y de este modo inhiben el procesamiento de los polipéptidos víricos y evitan la maduración de los virus (*véanse* Secciones 19.15, 27.13 y 34.15).

La última categoría de antirretrovirales que veremos en esta sección está representada por un solo fármaco, la enfuvirtida, un **inhibidor de la fusión** formado por un péptido sintético de 36 aminoácidos que se une a la proteína gp41 de la membrana del VIH (Tabla 27.5 y *véase* Sección 34.15). La unión de la enfuvirtida a la proteína gp41 impide que se produzcan los cambios conformacionales necesarios para la fusión de las membranas del VIH y los linfocitos T, y evita así que éstos últimos se infecten.

Los fármacos antigripales

Existen dos categorías de fármacos que limitan de forma eficaz la infección gripal. La amantadina y la rimantadina son dos aminas sintéticas derivadas del adamantano que interfieren con una proteína transportadora de iones del virus gripal A, e inhiben la decapsidación del virus y su replicación posterior. Por su parte, los inhibidores de la neuraminidasa oseltamivir (Tamiflu®) y zanamivir (Relenza®) bloquean el sitio activo de la neuraminidasa en los virus A y B de la gripe, e inhiben así la liberación de viriones a partir de las células infectadas. El zanamivir se utiliza sólo en el tratamiento de la gripe, mientras que el oseltamivir se emplea tanto en el tratamiento como en la profilaxis. Los fármacos derivados de la adamantina son menos eficaces que los inhibidores de la neuraminidasa porque crean resistencias rápidamente en algunas cepas del virus de la gripe (*véase* Sección 34.9).

Los interferones

En algunos estudios sobre interferencia viral —un fenómeno por el cual la infección por un virus interfiere con la infección posterior por otro virus distinto— se descubrió que la causa de esta interferencia son diversas proteínas pequeñas, que se denominaron interferones. Los **interferones** son proteínas pequeñas que impiden la multiplicación vírica en células normales estimulando la producción de proteínas antivíricas. Los interferones se producen en mayor cantidad en células infectadas por virus poco virulentos, mientras que se producen muy pocos frente a virus muy virulentos. Esto se debe a que los virus con una gran virulencia inhiben la síntesis proteica de la célula antes de que se lleguen a producir interferones. Los interferones también son producidos por moléculas de RNA de doble cadena (dsRNA), sintéticas o naturales. Dado que, en la naturaleza, el dsARNA sólo existe en células infectadas como forma replicativa de ciertos virus ARN, tales como los *Rhinovirus* (virus del resfriado) (*véase* Sección 34.8), la presencia de dsARNA puede servir como señal de infección vírica y estimular a la célula animal a producir interferón.

Los interferones de las células infectadas por virus interaccionan con los receptores de las células no infectadas, y promueven la síntesis de proteínas antivíricas que actúan impidiendo que la infección vírica se extienda. Los interferones son citocinas, y existen tres tipos de moléculas diferentes: *IFN-*α (interferón α), producido por leucocitos; *IFN-*β (interferón β), producido por fibroblastos, y *IFN-*γ (interferón γ), producido por células del sistema inmunitario llamadas linfocitos (*véase* Sección 31.10). Todos ellos son inhibidores víricos eficaces.

La acción del interferón no es específica del *virus*, sino del *hospedador*. El interferón producido por un miembro de una especie reconoce los receptores específicos sólo en células de la misma especie. Por tanto, el interferón producido por las células de un animal en respuesta, por ejemplo, a un *Rhinovirus*, podría inhibir también la multiplicación de virus de la gripe en células de la misma especie, pero no tendría ningún efecto sobre la multiplicación de ningún virus en células de otras especies animales.

El interés de los interferones radica en su potencial como antivíricos y como agentes anticancerígenos. Actualmente se dispone de diversos interferones recombinantes aprobados. No obstante, el uso de interferones como agentes quimioterapéuticos no se ha generalizado porque el interferón se debe administrar localmente y en concentraciones elevadas para estimular la producción de proteínas antivíricas en las células no infectadas del hospedador. Por tanto, la utilidad clínica de estos antivíricos depende de nuestra capacidad para suministrar el interferón en áreas localizadas del hospedador mediante

inyecciones o aerosoles. Por otra parte, las señales de estimulación del interferón adecuadas —como la estimulación con nucleótidos víricos, virus no virulentos, e incluso nucleótidos sintéticos— que se den a las células del hospedador previamente a la infección vírica podrían estimular la producción natural de interferones.

27.10 Minirrevisión

Los antivíricos eficaces actúan inhibiendo enzimas y procesos víricos específicos. Entre los antivíricos clínicamente eficaces se encuentran los análogos de nucleósidos y otros fármacos que inhiben las polimerasas del ácido nucleico y la replicación del genoma vírico, e inhibidores de la proteasa que interfieren con los procesos de maduración de los virus. Las células del hospedador también producen proteínas antivíricas llamadas interferones, que detienen la replicación vírica.

- ¿Por qué existen tan pocos agentes quimioterapéuticos que sean eficaces? ¿Por qué no se utilizan estos agentes para tratar enfermedades víricas comunes como el resfriado?
- ¿Qué pasos del proceso de maduración de los virus inhiben los análogos de nucleósidos? ¿Y los inhibidores de la proteasa? ¿Y los interferones?

www.medi

27.11 Los antifúngicos

Al igual que los virus, los hongos plantean problemas especiales para el desarrollo de quimioterapia. Dado que los hongos son *Eukarya*, la mayor parte de su maquinaria celular es la misma que la del ser humano y los animales, por lo que los agentes antifúngicos que afectan a las rutas metabólicas de los hongos a menudo afectan también a las rutas correspondientes en las células del hospedador, lo cual convierte estos medicamentos en tóxicos. Por este motivo, muchos antifúngicos sólo pueden administrarse por vía tópica (superficial). No obstante, algunos farmacos presentan toxicidad selectiva frente a los hongos porque actúan sobre estructuras o procesos metabólicos específicos de los hongos. Los antifúngicos están adquiriendo una importancia creciente a medida que aumentan las infecciones fúngicas en individuos inmunosuprimidos (*véanse* Secciones 34.15 y 35.8). En esta sección estudiaremos la toxicidad selectiva y las dianas de algunos antifúngicos eficaces.

Inhibidores del ergosterol

En los hongos, el ergosterol de las membranas celulares sustituye al colesterol que se encuentra en las membranas celulares de los animales. Existen dos tipos de compuestos antifúngicos que actúan interfiriendo con el ergosterol o inhibiendo su síntesis (**Tabla 27.6**). En el primer grupo se encuentran los polienos, una grupo de antibióticos producidos por algunas especies de *Streptomyces*. Los polienos se unen al ergosterol, que interfiere con la función de la membrana y finalmente produce la permeabilización de la membrana y la muerte de la célula (**Figura 27.26**). El segundo grupo importante de compuestos antifúngicos lo constituyen los azoles y las alilaminas, agentes sintéticos que inhiben selectivamente la biosíntesis del ergosterol y que, por tanto, tienen un amplio espectro de acción antifúngica. El tratamiento con azoles produce membranas fúngicas anormales, lo cual provoca lesiones en la membrana y alteraciones de

Tabla 27.6 Compuestos antifúngicos.

Categoría	*Diana de acción*	*Ejemplos*	*Uso*
Alilaminas	Síntesis de ergosterol	Terbenafina	Vía oral, vía tópica
Antibiótico aromatizante	Inhibidor de la mitosis	Griseofulvina	Vía oral
Azoles	Síntesis de ergosterol	Clortrimazol	Vía tópica
		Fluconazol	Vía oral
		Itraconazol	Vía oral
		Ketoconazol	Vía oral
		Miconazol	Vía tópica
		Posoconazol	Experimental
		Ravuconazol	Experimental
		Voriconazol	Vía oral
Inhibidor de la síntesis de quitina	Síntesis de quitina	Nikomicina Z	Experimental
Equinocandinas	Síntesis de la pared celular	Caspofungina	Vía intravenosa
Análogos de ácidos nucleicos	Síntesis de DNA	5-Fluorocitosina	Vía oral
Polienos	Síntesis de ergosterol	Amfotericina B	Vía oral, vía intravenosa
		Nistatina	Vía oral, vía tópica
Polioxinas	Síntesis de quitina	Polioxina A	Agrícola
		Polioxina B	Agrícola

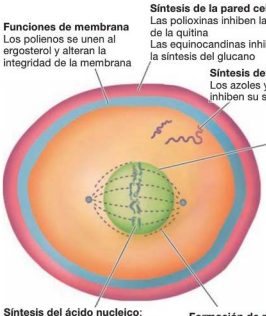


Figura 27.26 Mecanismo de acción de algunos agentes quimioterapéuticos antifúngicos. Los agentes antibacterianos tradicionales generalmente son ineficaces para el tratamiento de hongos, puesto que éstos son células eucarióticas. Las dianas de la membrana y la pared celular que aquí aparecen son estructuras únicas que no están presentes en las células de hospedadores vertebrados.

las actividades críticas de la membrana, como el transporte. Las alilaminas también inhiben la biosíntesis del ergosterol, pero sólo se pueden administrar por vía tópica porque no son captadas fácilmente por las células y tejidos animales.

Las equinocandinas

Las equinocandinas actúan inhibiendo 1,3 β-D glucano sintasa, la enzima que forma polímeros de glucano en la pared celular fúngica (Figura 27.26 y Tabla 27.6). Dado que las células de los mamíferos carecen de 1,3 β-D glucano sintasa (o paredes celulares), la acción de estos antifúngicos es específica y provoca la muerte selectiva de la célula fúngica. Estos fármacos se utilizan en el tratamiento de infecciones causadas por hongos como *Candida* y por distintos hongos resistentes a otros antifúngicos (*véanse* Secciones 34.15 y 35.8).

Otros antifúngicos

Existen otros medicamentos antifúngicos que interfieren con estructuras y funciones específicamente fúngicas (Tabla 27.6). Por ejemplo, las paredes celulares de los hongos contienen quitina, un polímero de *N*-acetilglucosamina que sólo se encuentra en hongos e insectos. Diversas polioxinas inhiben la síntesis de la pared ceular interfiriendo con la biosíntesis de la quitina. Aunque el uso de polioxinas como fungicidas en la agricultura está muy extendido, este compuesto no se utiliza en medicina. Otros fármacos inhiben la biosíntesis del folato, interfieren con la topología del DNA durante la replicación, o, como en el caso de la griseofulvina, interfieren con la agregación de los microtúbulos durante la mitosis. Por su parte, el análogo del ácido nucleico 5-fluorocitosina es un inhibidor eficaz de la síntesis de ácidos nucleicos en hongos. Algunos antifúngicos muy eficaces también tienen otras aplicaciones; por ejemplo, la vincristina, la vinblastina y el toxol son antifúngicos eficaces que también tienen propiedades anticancerígenas.

Como era de prever, el uso de antifúngicos ha provocado el surgimiento de poblaciones de hongos resistentes y la aparición de «nuevos» patógenos fúngicos. Por ejemplo, algunas especies de *Candida* que habitualmente no son patógenas, ahora producen enfermedades en individuos inmunodeprimidos. Lamentablemente, las cepas de *Candida* patógenas resistentes a antifúngicos se han desarrollado en individuos que habían sido tratados con estos fármacos, y ahora estas cepas son resistentes a todos los antifúngicos que se utilizan en la actualidad (Figura 27.29).

27.11 Minirrevisión

Los antifúngicos se clasifican en muchas categorías químicas. Debido a que los hongos son *Eukarya*, es difícil conseguir una toxicidad selectiva en antifúngicos, pero existen algunos quimioterápicos eficaces. El tratamiento de las infecciones fúngicas es uno de los retos sanitarios emergentes.

- ¿Por qué existen tan pocos antifúngicos eficaces?
- ¿Qué factores contribuyen al aumento de las infecciones fúngicas?

V RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS Y DESCUBRIMIENTO DE NUEVOS ANTIMICROBIANOS

La resistencia a los antimicrobianos es el principal problema a la hora de tratar muchos microorganismos patógenos, especialmente en instalaciones sanitarias. En esta sección describiremos los mecanismos de resistencia que han desarrollado algunos microorganismos, y presentaremos algunas de las estrategias seguidas para desarrollar nuevos antimicrobianos. Los métodos prácticos para preservar y potenciar la eficacia de los antimicrobianos que se usan actualmente se explican en la sección Panel microbiano: «Cómo prevenir la resistencia a los fármacos antimicrobianos».

27.12 Resistencia a los antimicrobianos

La **resistencia a los antimicrobianos** es la capacidad adquirida de un organismo para resistir los efectos de un agente quimioterapéutico al que es sensible habitualmente. No existe un único antibiótico que inhiba todos los microorganismos; por otra parte, la resistencia a los antimicrobianos es una propiedad inherente a prácticamente todos los microorganismos. Como ya hemos visto, los productores de antibióticos son microorganismos que, para poder sobrevivir, desarrollan mecanismos de resistencia que neutralizan o destruyen sus propios antibióticos. Se considera que éste es el origen de los genes que codifican la resistencia a los antibióticos. La resistencia a los antimicrobianos se puede extender rápidamente si estos genes pasan a otros microorganismos por transferencia horizontal de genes.

Mecanismos de resistencia

Existen seis razones por las que los microorganismos pueden ser naturalmente resistentes a ciertos antibióticos: (1) El microorganismo puede carecer de la estructura que es inhibida por el antibiótico; por ejemplo, algunas bacterias como los micoplasmas carecen de una pared celular típica, por lo que son resistentes de forma natural a las penicilinas. (2) El organismo puede ser impermeable al antibiótico, como ocurre con la mayoría de las *Bacteria* gramnegativas, que son impermeables a la penicilina G y la platensimicina. (3) El organismo puede alterar el antibiótico inactivándolo. Muchos estafilococos contienen β-lactamasas, unas enzimas que rompen el anillo β-lactámico de la mayoría de las penicilinas (**Figura 27.27**). (4) El microorganismo puede modificar la diana del antibiótico. (5) El microorganismo puede desarrollar una ruta bioquímica resistente; por ejemplo, muchos patógenos desarrollan resistencia a las sulfamidas, que inhiben la producción de ácido fólico en *Bacteria* (Sección 27.6 y Figura 27.16). Las bacterias resistentes modifican su metabolismo para captar ácido fólico ya sintetizado del medio, obviando así la necesidad de una ruta que pueda ser bloqueada por las sulfamidas. (6) El microoganismo puede ser capaz de bombear hacia el exterior un antibiótico que haya penetrado la célula. Este proceso se denomina *eflujo*. En la **Tabla 27.7** se muestran algunos ejemplos específicos de la resistencia bacteriana a antibióticos.

La resistencia a antibióticos puede ser codificada genéticamente por el microorganismo, bien en el cromosoma, bien en plásmidos llamados *plásmidos de resistencia* o *plásmidos R* (*véanse* Secciones 11.2 y 11.3) (Tabla 27.7). Debido a la ya extendida resistencia a antibióticos, y a la aparición de nuevas resistencias, debe determinarse la sensibilidad a antibióticos de las bacterias aisladas de muestras clínicas, utilizando para ello el método CMI (de concentración mínima inhibitoria) o un método de difusión en agar (Sección 27.4). En la Sección 32.3 se describen con más detalle los ensayos de sensibilidad a antibióticos de los aislamientos clínicos.

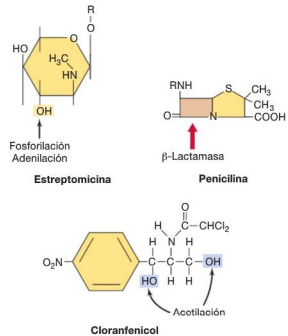


Figura 27.27 Sitio en los que los antibióticos son atacados por enzimas codificadas por genes en plásmidos R. Los antibióticos pueden ser inactivados por modificación química o por rotura. La estructura completa de la estreptomicina aparece en la Figura 27.21, y la de la penicilina, en la Figura 27.19.

En el laboratorio, las células resistentes a antibióticos se pueden aislar de cultivos realizados a partir de cepas que mostraban una sensibilidad generalizada al antibiótico de elección. La resistencia de estos aislamientos se suele deber a mutaciones en los genes cromosómicos. En la mayoría de los casos, la resistencia a antibióticos mediada por genes cromosómicos aparece como una modificación de la diana de acción del antibiótico —por ejemplo, un ribosoma—.

Mecanismo de resistencia mediado por plásmidos R

La mayoría de las bacterias resistentes aisladas de pacientes contienen genes de resistencia en plásmidos R, en lugar de en el cromosoma. En estos casos, la resistencia se debe generalmente a la presencia en el plásmido R de genes que codifican enzimas que modifican e inactivan el fármaco (Figura 27.27), o de genes que codifican enzimas que impiden la captación del fármaco o lo bombean fuera de la célula. Por ejemplo, la estreptomicina, la neomicina, la kanamicina y la espectinomicina son antibióticos aminoglicósidos que poseen estructuras químicas similares. Las cepas que contienen plásmidos R para estos fármacos producen enzimas que modifican químicamente estos antibióticos, ya sea por fosforilación, acetilación o adenilación. Una vez modificado, el fármaco carece de acción antibiótica.

ilibros.com

Tabla 27.7 Mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos.

Mecanismo de resistencia	*Ejemplo de antibiótico*	*Base genética de la resistencia*	*Mecanismo presente en:*
Permeabilidad reducida	Penicilinas	Cromosómica	*Pseudomonas aeruginosa* Bacterias entéricas
Inactivación del antibiótico (por ejemplo, penicilinasa; enzimas modificadoras como metilasas, acetilasas, fosforilasas y otras)	Penicilinas	Plasmídica y cromosómica	*Staphylococcus aureus* Bacterias entéricas *Neisseria gonorrhoeae*
	Cloranfenicol	Plasmídica y cromosómica	*Staphylococcus aureus* Bacterias entéricas
	Aminoglicósidos	Plasmídica	*Staphylococcus aureus*
Alteración de la diana (por ejemplo, RNA polimerasa, rifamicina; ribosoma, eritromicina y estreptomicina; DNA girasa, quinolonas)	Eritromicina Rifamicina Estreptomicina Norfloxacino	Cromosómica	*Staphylococcus aureus* Bacterias entéricas Bacterias entéricas Bacterias entéricas *Staphylococcus aureus*
Desarrollo de una ruta bioquímica resistente	Sulfamidas	Cromosómica	Bacterias entéricas *Staphylococcus aureus*
Eflujo (bombeo hacia el exterior de la célula)	Tetraciclinas Cloranfenicol Eritromicina	Plasmídica Cromosómica Cromosómica	Bacterias entéricas *Staphylococcus aureus* *Bacillus subtilis* *Staphylococcus* spp.

En el caso de las penicilinas, los plásmidos R codifican la enzima *penicilinasa*, una β-lactamasa que rompe el anillo β-lactámico e inactiva así el antibiótico. La resistencia al cloranfenicol se debe a una enzima codificada por el plásmido R que acetila el antibiótico. Muchos plásmidos R contienen varios genes de resistencia diferentes, y pueden conferir resistencia múltiple a una célula que previamente era sensible a cada antibiótico por separado (*véase* Sección 11.3).

Origen de los plásmidos de resistencia

Existen indicios de que la existencia de plásmidos R es anterior a la era de los antibióticos. Por ejemplo, una cepa de *Escherichia coli* que fue liofilizada en 1946 contenía un plásmido con genes que conferían resistencia a la tetraciclina y la estreptomicina, aunque ninguno de estos antibióticos se utilizaría en medicina hasta varios años más tarde. También se ha demostrado que los genes plasmídicos R de resistencia a las penicilinas semisintéticas existían ya antes de que estas penicilinas hubiesen sido sintetizadas.

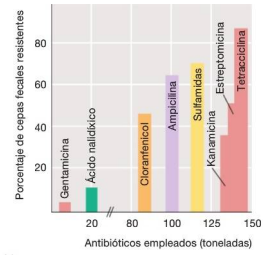
Quizás tenga todavía mayor importancia ecológica el hecho de que los plásmidos R con genes de resistencia a antibióticos se hayan detectado en algunas bacterias gramnegativas no patógenas del suelo. En el suelo, los plásmidos R pueden conferir ventajas selectivas porque los principales organismos productores de antibióticos (*Streptomyces* y *Penicillium*) son también organismos del suelo. Por tanto, parece que los plásmidos R existían en las poblaciones microbianas naturales antes de que se descubrieran los antibióticos y se utilizaran con fines terapéuticos y agrícolas.

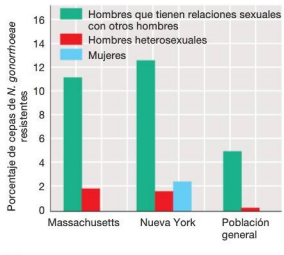
Transmisión de la resistencia a los antimicrobianos

El uso generalizado de antibióticos en medicina, veterinaria y agricultura proporciona condiciones altamente selectivas para la propagación de plásmidos R. Los genes de resistencia de estos plásmidos confieren una ventaja selectiva inmediata, y de este modo, la resistencia a antibióticos debida a los plásmidos R se ha convertido en el resultado predecible de la selección natural. Los plásmidos R y otras fuentes de genes de resistencia limitan significativamente el empleo a largo plazo de cualquier antibiótico como agente quimioterapéutico eficaz.

El uso inapropiado de antimicrobianos es la causa principal del rápido desarrollo de resistencias específicas en microorganismos causantes de enfermedades. El descubrimiento y uso clínico de muchos de los antibióticos conocidos ha sido paralelo a la aparición de bacterias resistentes a su acción. La **Figura 27.28** muestra la correlación entre el número de toneladas de antibióticos consumidos y el porcentaje de bacterias resistentes a cada antibiótico.

Existen numerosos ejemplos que ilustran la relación entre el abuso de antibióticos y el desarrollo de resistencias. Resulta cada vez más frecuente el hecho de tener que cambiar los antimicrobianos prescritos para el tratamiento de una infección concreta por otros antimicrobianos distintos, debido al incremento de resistencias desarrolladas por el microorganismo causante de la enfermedad. Un ejemplo clásico es el desarrollo de resistencia a la penicilina en *Neisseria gonorrhoeae*, la bacteria que causa la enfermedad de transmisión sexual llamada gonorrea (Figura 27.28*b*). Antes de 1980, la pe-





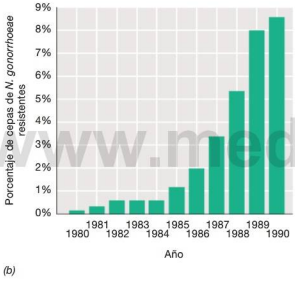


Figura 27.28 Pautas de resistencia a fármacos en patógenos. *(a)* Relación entre el uso de antibióticos y el porcentaje de bacterias resistentes a antibióticos aisladas de pacientes con diarrea. Los fármacos que se han utilizado en mayores cantidades (lo cual viene indicado por la cantidad producida comercialmente) son los que tienen mayor número de cepas resistentes. *(b)* Porcentaje de casos de gonorrea registrados causados por cepas resistentes. El número de casos de resistencia registrados en 1985 fue de 9.000, cantidad que aumentó hasta 59.000 en 1990. Más del 95% de los casos de resistencia registrados se debieron a cepas productoras de penicilinasa de *Neisseria gonorrhoeae*. Desde 1990, no se recomienda la penicilina para el tratamiento de la gonorrea, debido a la aparición de resistencia a este fármaco. *(c)* Predominio de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes a fluoroquinolonas en ciertas poblaciones de los Estados Unidos en 2003. En 2007 dejó de recomendarse la fluoroquinolona ciprofloxacino como antibiótico de elección para el tratamiento de infecciones provocadas por *Neisseria gonorrhoeae*.

www.medi...com

nicilina era el antibiótico de elección para el tratamiento de esta enfermedad, y se había utilizado de forma ininterrumpida con este fin desde que se generalizó su uso en 1940. No obstante, la penicilina ya no es un antibiótico útil en el tratamiento de la gonorrea porque un alto porcentaje de los aislamientos clínicos actuales de *Neisseria gonorrhoeae* producen β-lactamasa, lo cual los convierte en resistentes a la penicilina. Prácticamente todos los aislamientos resistentes se han desarrollado desde 1980. El creciente desarrollo de resistencias a la fluoroquinolona en hombres que tienen relaciones sexuales con otros hombres, y en fuentes de infección de Asia, Hawaii y California, ha impulsado un cambio en la recomendación de antibióticos de elección para el tratamiento de la gonorrea. Actualmente, la ceftriaxona ha sustituido al ciprofloxacino (una fluoroquinolona) como antibiótico de elección (Figura 27.28*c*). Las medidas indicadas para el tratamiento de la gonorrea se actualizan casi cada año para controlar la creciente resistencia a antibióticos desarrollada por *Neisseria gonorrhoeae* (*véase* Sección 24.13).

Los antibióticos todavía se utilizan en medicina con mucha más frecuencia de la que es necesaria. Los datos indican que el tratamiento con antibióticos está garantizado en el 20% de los individuos que acuden al médico por enfermedades infecciosas. Aun así, los antibióticos se prescriben hasta en el 80% de los casos. Además, en el 50% de los casos, las dosis recomendadas o la duración de los tratamientos no son correctos. Esto va acompañado del incumplimiento del tratamiento por parte de la o el paciente: muchas de estas personas dejan de tomar la medicación, especialmente los antibióticos, en cuanto notan una mejoría en su estado. Por ejemplo, la aparición de tuberculosis resistente a la isoniazida muestra una correlación con la interrupción del tratamiento por parte de la persona enferma, que deja de tomar la medicación oral diaria durante períodos de 6 a 9 meses (*véase* Sección 34.5). Los patógenos virulentos están expuestos a

dosis subletales de antibióticos por períodos de tiempo inapropiados, y esto provoca la selección de las cepas resistentes al antibiótico.

No obstante, existen estudios recientes que indican que esta tendencia está cambiando en los Estados Unidos. En los últimos 10 años, el personal médico ha reducido en una tercera parte el número de antibióticos que prescribe para el tratamiento de infecciones infantiles. Esta reducción se ha llevado a cabo gracias a los esfuerzos dirigidos a educar al personal sanitario y a las personas enfermas sobre el uso adecuado de terapias antibióticas.

El uso indiscriminado de antibióticos para fines que no son los clínicos también ha contribuído a la aparición de cepas resistentes. Además de su uso tradicional como tratamiento para enfermedades, los antibióticos se utilizan en agricultura y ganadería como suplementos alimenticios que estimulan el crecimiento de los animales, y como aditivos profilácticos que previenen la aparición de enfermedades. El 50% de todos los antibióticos fabricados en el mundo son para uso agrícola y ganadero. Los antibióticos también se usan en acuicultura, ¡e incluso en la producción de fruta! Está comprobado que los antibióticos que se utilizan de forma abusiva, durante períodos de tiempo largos y en dosis altas en la alimentación, provocan brotes de infecciones transmitidas por los alimentos debido a la selección de patógenos resistentes a los antibióticos. Por ejemplo, las fluoroquinolonas, un grupo de antibióticos de amplio espectro que comprende fármacos terapéuticos tan importantes como el ciprofloxacino, se han utilizado en agricultura de forma abusiva durante 20 años como estimuladores del crecimiento y agentes profilácticos. Como consecuencia, han aparecido cepas de *Campylobacter jejuni* resistentes a las fluoroquinolonas que se han convertido en patógenos transmitidos por los alimentos (*véase* Sección 37.9), supuestamente debido a la práctica de tratar a los pollos de las granjas con fluoroquinolonas para prevenir enfermedades respiratorias. Por esta razón, los criadores de pollos y los fabricantes de medicamentos han tomado medidas de forma voluntaria para controlar y reducir el empleo de fluoroquinolonas.

Patógenos resistentes a antibióticos

Debido en gran parte al empleo inadecuado de antibióticos y a la falta de control sobre las resistencias desarrolladas, casi todos los patógenos han desarrollado resistencia a algún agente quimioterapéutico desde que comenzó el uso generalizado de quimioterapia microbiana en la década de 1950 (**Figura 27.29**). La penicilina y las sulfamidas, que fueron los primeros agentes quimioterapéuticos utilizados en medicina, ya no se utilizan de forma tan abusiva porque muchos patógenos han adquirido alguna forma de resistencia. Incluso los organismos que todavía son uniformemente sensibles a la penicilina, como *Streptococcus pyogenes* —la bacteria que causa la amigdalitis, la escarlatina y la fiebre reumática—, requieren hoy en día dosis más elevadas de penicilina que hace diez años para que el tratamiento surta efecto.

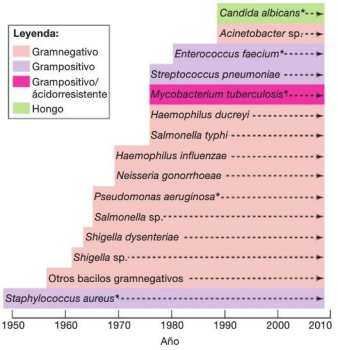


Figura 27.29 Aparición de resistencia a fármacos antimicrobianos en algunos patógenos humanos. Los asteriscos indican que algunas cepas de estos patógenos ya no se pueden tratar con fármacos antimicrobianos conocidos.

www.libros.com

Algunos patógenos han desarrollado resistencia a todos los agentes antimicrobianos conocidos (Figura 27.29). Entre ellos se encuentran varios aislamientos de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina MRSA *Methicillin resistant Staphylococcus aureus)*. Como ya vimos en la Sección 27.8, la meticilina es una penicilina semisintética. Aunque el MRSA se asocia habitualmente a los hospitales, también causa un gran número de infecciones comunitarias (*véase* Sección 33.7). Un número creciente de cepas de MRSA derivadas independientemente han desarrollado una sensibilidad reducida incluso a la vancomicina, y se denominan cepas de «*Staphylococcus aureus* con resistencia intermedia a la vancomicina» VISA *(Vancomycin intermediate Staphylococcus aureus) (véase* Sección 34.10). Las cepas de *Enterococcus faecium* resistentes a la vancomicina VRE *(Vancomycin resistant Enterococcus faecium)* y algunos aislamientos de *Mycobacterium tuberculosis* y *Candida albicans* también han desarrollado resistencias a todos los antimicrobianos que se conocen. La resistencia a antibióticos puede minimizarse si estos fármacos se utilizan solamente en el tratamiento de las enfermedades que sean sensibles a ellos, y si se administran en dosis suficientemente elevadas y durante períodos de tiempo lo bastante largos como para reducir la población microbiana antes de que puedan aparecer mutantes resistentes. Dicha resistencia también puede reducirse combinando dos agentes quimioterapéuticos no relacionados, ya que es poco probable que una cepa mutante resistente a uno de los antibióticos sea también resistente al otro fármaco.

No obstante, existen algunos plásmidos R muy comunes que confieren resistencias múltiples a los microorganismos, por lo que la antibioticoterapia múltiple está dejando de aplicarse como estrategia clínicamente útil.

Algunos informes sugieren que, si se suspende el empleo de un antibiótico determinado, la resistencia a dicho antibiótico desaparecerá en unos años. Por otra parte, los organismos resistentes a antibióticos pueden sobrevivir en el intestino durante algún tiempo. Estos datos indican que la eficacia de algunos antibióticos puede restablecerse eliminando su uso durante algún tiempo, pero esto sólo puede hacerse siguiendo un plan muy controlado de uso responsable cuando se reintroduzcan dichos fármacos. Por último, como ya hemos explicado anteriormente, se están desarrollando nuevos antimicrobianos constantemente mediante diversos métodos que permiten diseñar y descubrir nuevos medicamentos.

27.12 Minirrevisión

El empleo de fármacos antimicrobianos provoca inevitablemente el desarrollo de resistencias en los microorganismos afectados. El desarrollo de la resistencia puede verse acelerado por el uso indiscriminado de antimicrobianos. Algunos patógenos han desarrollado resistencias a todos los antimicrobianos que se conocen.

- Identifique los seis mecanismos básicos de resistencia antibiótica en bacterias.
- Identifique las principales fuentes de genes de resistencia a antibióticos.
- ¿Qué prácticas favorecen el desarrollo de patógenos resistentes a antibióticos?

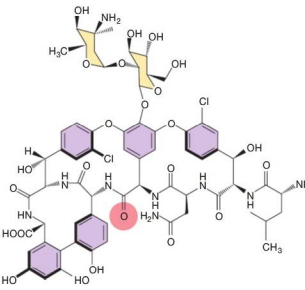
27.13 Búsqueda de nuevos antimicrobianos

Con el tiempo y el nivel de exposición al fármaco suficientes, los microorganismos acabarán por desarrollar resistencia a todos los fármacos antimicrobianos conocidos. Por ello, es necesario utilizar los antibióticos de forma adecuada y no abusar de ellos para prolongar el tiempo de vida clínica de estos medicamentos. No obstante, la solución a largo plazo para acabar con la resistencia a los antimicrobianos reside en nuestra capacidad de desarrollar nuevos antimicrobianos. Se están poniendo en práctica diversas estrategias para identificar y producir análogos útiles de agentes ya existentes, o para diseñar o descubrir nuevos compuestos antimicrobianos.

Nuevos análogos de los antimicrobianos existentes

La síntesis de nuevos análogos de compuestos antimicrobianos ya existentes suele ser productiva, debido en gran parte a que los nuevos compuestos que mimetizan la estructura de los anteriores tienen un mecanismo de acción predecible. En muchos casos, algunos parámetros como la solubilidad y la afinidad pueden optimizarse introduciendo modificaciones mínimas en la estructura química de un fármaco, sin alterar las estructuras que son cruciales para la acción del mismo. El nuevo compuesto puede ser más eficaz que el compuesto del que procede y, dado que que la resistencia se basa en el reconocimiento de la estructura, el nuevo compuesto puede no ser reconocido por los factores de resistencia. Por ejemplo, la Figura 27.23 muestra la estructura de la tetraciclina y dos derivados bioactivos. Usando la tetraciclina como compuesto inicial, se pueden realizar sustituciones químicas sistemáticamente en los cuatro sitios R para generar una serie casi inagotable de análogos de la tetraciclina. Mediante esta estrategia básica, se han sintetizado nuevos compuestos relacionados con la tetraciclina (Sección 27.9), nuevos antibióticos β-lactámicos (Sección 27.8) y nuevos análogos de la vancomicina (**Figura 27.30**). Algunos de estos derivados son hasta cien veces más potentes que el compuesto inicial.

La aplicación de metodos químicos automatizados para el descubrimiento de nuevos medicamentos ha incrementado drásticamente nuestra capacidad para generar rápidamente nuevos compuestos antimicrobianos. Estos métodos automatizados, conocidos como *química combinatoria*, inician modificaciones sistemáticas de un producto antimicrobiano conocido para generar grandes cantidades de análogos nuevos. Por ejemplo, mediante los métodos de química combinatoria automatizados, y



Vancomicina

Figura 27.30 Vancomicina. En los últimos años, se ha desarrollado una resistencia intermedia a la droga con la estructura inicial, que se muestra arriba. No obstante, si se modifica la posición destacada en rojo, sustituyendo un grupo de metileno (═CH_2) por el oxígeno carbonilo, se restituye gran parte de la acción que se había perdido.

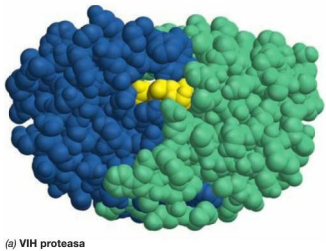
partiendo de la tetraciclina como compuesto inicial (Figura 27.33), se pueden utilizar cinco reactivos diferentes para introducir sustituciones en los cuatro grupos R diferentes de la tetraciclina. Los sitios sustituidos darían como resultado $5 \times 5 \times 5 \times 5$ (cinco derivados de cada uno de los cuatro sitios), o 625 derivados diferentes de la tetraciclina a partir de sólo seis reactivos diferentes, ¡y todo esto en sólo unas pocas horas! La actividad biológica de estos compuestos se ensaya *in vitro* en diferentes microorganismos, mediante técnicas automatizadas para probar la sensibilidad a antibióticos. La síntesis y los procesos de cribado automatizados reducen drásticamente el tiempo que se necesita para descubrir un medicamento, e incrementan el número de nuevos compuestos candidatos en diez veces, o más, cada año.

Según las estimaciones de la industria farmacéutica, deben cribarse alrededor de 7 millones de compuestos candidatos para poder generar un único fármaco de utilidad clínica. Los medicamentos que son eficaces en el laboratorio deben someterse a ensayos para comprobar su eficacia y toxicidad en animales y, por último, se realizan ensayos clínicos en seres humanos. Los ensayos en animales pueden requerir numerosas pruebas a lo largo de varios años para garantizar que el fármaco candidato sea eficaz y seguro. Los ensayos clínicos en seres humanos para comprobar la eficacia y seguridad de un compuesto suelen durar varios años más. Cada año, la industria farmacéutica invierte 4.000 millones de dólares americanos en el desarrollo de nuevos antimicrobianos. En total, se tarda entre 10 y 25 años en descubrir y desarrollar un nuevo medicamento antes de que sea aprobado para su uso clínico. El coste de todo este proceso de descubrimiento y desarrollo, desde el laboratorio hasta los ensayos clínicos, se estima en más de 500 millones de dólares americanos por cada medicamento nuevo aprobado para el consumo humano. Éste es el principal motivo del elevado precio de los fármacos.

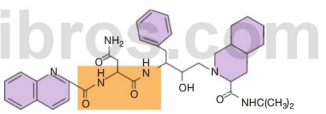
Diseño de medicamentos por ordenador

Los nuevos compuestos antimicrobianos son mucho más difíciles de identificar que los análogos de fármacos ya existentes, debido a que los nuevos antimicrobianos deben actuar en sitios únicos en las rutas metabólicas y biosintéticas, o tener una estructura diferente a la de los compuestos conocidos para evitar los mecanismos de resistencia existentes. Los últimos avances en tecnología digital y biología estructural permiten diseñar un compuesto que interaccione con estructuras microbianas específicas. De esta manera, el descubrimiento de nuevos compuestos ahora puede comenzar en el ordenador, donde los nuevos fármacos pueden sintetizarse y ensayarse rápidamente para comprobar su unión y toxicidad en el ambiente digital con un coste relativamente bajo.

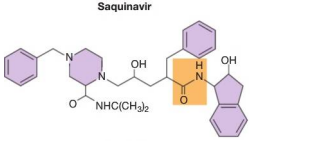
Uno de los éxitos más importantes en el diseño de fármacos dirigido por ordenador ha sido el desarrollo de *saquinavir*, un inhibidor de la proteasa que se emplea para ralentizar el crecimiento del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en individuos infectados (**Figura 27.31**). El saquinavir fue diseñado por ordenador para fijarse al sitio activo de la proteasa del VIH, basándose en la estructura tridimensional conocida del complejo proteasa-sustrato. La proteasa del VIH habitualmente rompe una proteína precursora codificada en el virus para producir la madu-



(a) **VIH proteasa**



Saquinavir



Indinavir

(b)

Figura 27.31 **Fármacos anti-VIH generados por ordenador.** *(a)* El homodímero de la VIH proteasa. Las cadenas polipeptídicas individuales se representan en color verde y azul. Un péptido (en color amarillo) está ligado en sitio activo. La VIH proteasa rompe una proteína precursora del VIH, un paso necesario en la maduración del virus (*véase* Figura 19.26). Si se bloquea el sitio de acción de la proteasa mediante el péptido ligado, se inhibe el procesamiento del precursor y la maduración del VIH. Esta estructura se ha deducido de la información existente en el Protein Data Bank. *(b)* Estos fármacos anti-VIH son análogos de péptidos denominado inhibidores de la proteasa, que fueron diseñados por ordenador para bloquear el sitio activo de la VIH proteasa. Las zonas destacadas en color naranja representan las regiones análogas a los enlaces peptídicos en proteínas.

www.libros.com

ración del núcleo vírico y activar la enzima transcriptasa inversa necesaria para la replicación (*véase* Sección 19.15). El saquinavir es un análogo peptídico de la proteína precursora del VIH que desplaza a la proteína, inhibiendo la maduración del virus y ralentizando su crecimiento en el hospedador humano. Existen otros inhibidores de la proteasa diseñados por ordenador que se están utilizando como fármacos quimioterapéuticos en el tratamiento del SIDA (Tabla 27.5, Figura 27.31 y *véase* Figura 34.42). El diseño y ensayo por ordenador basado en la modelización estructural y bioquímica es un método práctico, rápido y económico para diseñar fármacos antimicrobianos.

Productos naturales utilizados como antibióticos

Tras el descubrimiento y la introducción de los primeros antibióticos para su uso clínico en las décadas de 1930 y 1940, se desarrollaron métodos estandarizados de investigación para aislar nuevos antibióticos. Los compuestos candidatos se aislaban sistemáticamente a partir de fuentes naturales, como cultivos de *Streptomyces* o *Penicillium*, y se cribaban de forma sistemática para comprobar su acción antimicrobiana utilizando métodos estándar de CMI o de difusión en agar con el fin de encontrar nuevos compuestos antimicrobianos. A medida que pasaba el tiempo, el rendimiento de estos métodos tradicionales fue disminuyendo, y fue sustituido por el elevado rendimiento de los métodos de química combinatoria y diseño por ordenador, que ya hemos descrito anteriormente. La mayoría de los antibióticos naturales eficaces producidos en cantidades suficientes por microorganismos ya habían sido aislados. El resto de antibióticos eficaces, que supuestamente se encontraban en la naturaleza en cantidades tan pequeñas que resultaban ineficaces frente a los organismos de los ensayos, no pudieron identificarse.

Sin embargo, la platensimicina (Figura 27.25) es una excepción a esta regla. Este antibiótico fue descubierto recientemente mediante una modificación de los métodos directos de cribado de productos naturales. La platensimicina representa a una nueva clase de antimicrobianos que inhiben selectivamente la biosíntesis de lípidos en bacterias, y es un fármaco especialmente activo frente a patógenos grampositivos como MRSA, VISA y VRE (Sección 27.9). Un factor clave en el descubrimiento de la platensimicina es el hecho de que este medicamento se seleccionó mediante un método nuevo que puede tener aplicaciones importantes en el descubrimiento de fármacos específicos. Para seleccionar un agente que actúe sobre una diana concreta —en este caso, una enzima de la ruta de la síntesis de lípidos de bacterias grampositivas—, se introdujo un defecto en el gen de la β-cetoacil-(proteína transportadora de acilo) sintasa I/II (FabF/B) en *Staphylococcus aureus*, mediante una cepa que expresaba RNA FabF antisentido (*véase* la explicación de la Sección 9.14 sobre RNA antisentido). El RNA antisentido específico del gen disminuyó la expresión de FabF, lo cual redujo la síntesis de ácidos grasos y aumentó la sensibilidad de la cepa defectuosa de *Staphylococcus aureus* a los antibióticos inhibidores de la síntesis de ácidos grasos. Tras cribar 250.000 extractos de productos naturales procedentes de 83.000 cepas de posibles productores de antibióticos, se consiguió identificar y aislar la platensimicina a partir de *Streptomyces platensis*, un microorganismo del suelo. Pese a que el cribado de grandes cantidades de cepas es una tarea inmensa, este método identifica los antibióticos específicos que se encuentran en concentraciones bajas. Esta estrategia se puede aplicar a prácticamente cualquier diana para la cual se conozca la secuencia genética, y, por tanto, la secuencia RNA antisentido correspondiente.

Combinaciones de fármacos

Algunos antibióticos pueden conservar su eficacia si se suministran conjuntamente con compuestos que inhiban la resistencia de los microorganismos. Existen varios antibióticos β-lactámicos que pueden combinarse con inhibidores de la β-lactamasa para conservar la acción de los antibióticos. Por ejemplo, la ampicilina, un antibiótico β-lactámico de amplio espectro (Figura 27.20), se puede mezclar con sulbactam, un inhibidor de la β-lactamasa. El inhibidor se une irreversiblemente a la β-lactamasa, impidiendo la degradación de la ampicilina y permitiendo que ésta altere la formación de la pared celular de la célula afectada. Esta combinación contribuye a conservar la eficacia de la ampicilina sensible a la β-lactamasa frente a los productores de β-lactamasa, como los estafilococos y algunos patógenos gramnegativos. Asimismo, ya hemos mencionado el empleo de trimetoprima-sulfametoxazol, una mezcla de dos inhibidores de la síntesis del ácido fólico, para impedir la pérdida de eficacia de los antibióticos causada por la mutación y la selección de cepas resistentes (Sección 27.6).

Bacteriófagos

Los bacteriófagos son virus que infectan bacterias (Secciones 19.1 a 19.5). La *terapia fágica* se ha utilizado de forma limitada durante los últimos 80 años para tratar infecciones en animales y, en algunos casos, en seres humanos. Los bacteriófagos interaccionan de forma individual con los compuestos de la superficie de la célula bacteriana, y son específicos para algunas especies bacterianas concretas. Durante este proceso, el bacteriófago adherido penetra la célula, se replica y mata al hospedador bacteriano. La eficacia y efectividad de estos agentes en el tratamiento de seres humanos se ha ensayado de forma muy limitada, y es motivo de cierta polémica, pese a que actualmente se están realizando ensayos clínicos con varios productos. No obstante, las bacterias pueden adquirir resistencia a la infección fágica a través de mutaciones que alteren los receptores o que reduzcan la sensibilidad de la la pared celular a las enzimas de los bacteriófagos; por este motivo, la terapia fágica probablemente será susceptible de resistencia, al igual que ocurre con la mayoría de los agentes antimicrobianos.

27.13 Minirrevisión

Constantemente se están descubriendo y desarrollando nuevos antimicrobianos con el fin de combatir los patógenos resistentes a fármacos y mejorar nuestra capacidad para tratar enfermedades infecciosas. A menudo se sintetizan análogos de fármacos ya existentes y se emplean como compuestos antimicrobianos de última generación. El diseño de medicamentos por ordenador es una herramienta importante para el descubrimiento de nuevos fármacos.

- Explique las ventajas e inconvenientes de desarrollar nuevos fármacos basados en análogos de compuestos ya existentes.
- ¿De qué manera permite ahorrar tiempo y dinero en la búsqueda de nuevos fármacos el diseño de medicamentos por ordenador?
- Explique el empleo de RNA antisentido en el descubrimiento de fármacos.

Glosario de términos

Agente antimicrobiano: compuesto químico que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos.

Agente bactericida: agente que mata las bacterias.

Agente bacteriostático: agente que inhibe el crecimiento bacteriano.

Agente fungicida: agente que mata los hongos.

Agente fungistático: agente que inhibe el crecimiento fúngico.

Agente virucida: agente que detiene la replicación y la actividad víricas.

Agente virustático: agente que inhibe la replicación vírica.

Aminoglicósido: un antibiótico, como la estreptomicina, que contiene aminoazúcares ligados por uniones glicosídicas.

Análogo de un factor del crecimiento: agente químico que está relacionado con un factor del crecimiento y bloquea su captación.

Antibiótico: sustancia química producida por un microorganismo, que mata o inhibe el crecimiento de otro microorganismo.

Antibiótico beta(β)lactámico: un antibiótico, como la penicilina, que contiene el anillo β-lactámico heterocíclico de cuatro átomos.

Antibiótico de amplio espectro: un antibiótico que actúa tanto sobre bacterias grampositivas como sobre bacterias gramnegativas.

Antiséptico: agente químico que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos, y que tienen una toxicidad lo bastante baja como para poder ser aplicado a tejidos vivos.

Autoclave: un esterilizador que destruye los microorganismos mediante temperatura y vapor bajo presión.

Concentración mínima inhibitoria (CMI): la concentración mínima de una sustancia necesaria para impedir el crecimiento microbiano.

Descontaminación: tratamiento que hace que un objeto o superficie inanimada sea manipulable sin riesgo.

Desinfección: proceso de eliminación de microorganismos de objetos o superficies inanimadas.

Desinfectante: agente antimicrobiano que se emplea sólo sobre objetos inanimados.

Esterilización: muerte o eliminación de todos los organismos vivos y sus virus de un medio de crecimiento.

Esterilizante (esporicida): agente químico que destruye todas las formas de vida microbiana.

Filtro HEPA: filtro de aire particulado de alta eficacia (*high efficiency particulated air*) que elimina las partículas —entre ellas, los microorganismos— de los flujos de aire entrante o saliente.

Higienizante: agente que reduce el número de microorganismos hasta un nivel seguro, pero no los elimina por completo.

Inhibición: reducción del crecimiento microbiano debido a un descenso en el número de microorganismos presentes o a alteraciones en el ambiente microbiano.

Inhibidor de la fusión: péptido que bloquea la fusión entre las membranas citoplásmaticas de las células diana y los virus.

Inhibidor de la proteasa: inhibidor de una proteasa vírica.

Inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleótido (NRTI): compuesto análogo de un nucleótido que se emplea para inhibir la transcriptasa inversa en los virus.

Inhibidor de la transcriptasa inversa no análogo de nucleótido (NNRTI): compuesto no análogo de un nucleótido que se emplea para inhibir la transcriptasa inversa en los virus.

Interferón: proteína citocina producida por células infectadas por virus, que induce la transducción de señales en las células vecinas, lo cual da lugar a la transcripción de genes antivíricos y a la expresión de proteínas antivíricas.

Pasteurización: reducción de la carga microbiana en líquidos termosensibles para matar los microorganismos productores de enfermedades y reducir el número de microorganismos alterantes.

Penicilina: un tipo de antibiótico que inhibe la síntesis de la pared celular bacteriana y que se caracteriza por tener un anillo β-lactámico.

Quinolona: compuesto antibacteriano sintético que interacciona con la DNA girasa e impide el superenrollamiento del DNA bacteriano.

Resistencia a un compuesto antimicrobiano: la capacidad adquirida

www.medicapro.com

de un microorganismo para crecer en presencia de un compuesto antimicrobiano al que habitualmente es sensible.

Tetraciclina antibiótico caracterizado por tener un anillo de naftaceno de cuatro átomos.

Toxicidad selectiva capacidad de un compuesto para inhibir o matar microorganismos patógenos sin perjudicar al hospedador.

Preguntas de repaso

1. ¿Por qué es importante el tiempo de reducción decimal (*D*) en la esterilización por calor? ¿Cómo afectaría a *D* la presencia de endosporas bacterianas (Sección 27.1)?
2. Describa los efectos de una dosis letal de radiación ionizante a nivel molecular (Sección 27.2).
3. ¿Cuáles son las principales ventajas de la utilización de filtros de membrana? ¿Cuáles son las ventajas de utilizar filtros de profundidad (Sección 27.3)?
4. ¿Por qué se utilizan filtros Nucleopore para aislar muestras para microscopía (Sección 27.4)?
5. Describa el procedimiento para obtener la concentración mínima inhibitoria (CMI) de un compuesto químico bactericida para *Escherichia coli* (Sección 27.5).
6. Explique la diferencia entre la acción de los desinfectantes y la de los antisépticos. ¿Por qué no se pueden utilizar desinfectantes normalmente en tejidos vivos (Sección 27.6)?
7. Los análogos de factores del crecimiento generalmente se diferencian de los antibióticos por un único criterio importante. Explique cuál es (Sección 27.7).
8. Describa el mecanismo de acción característico de un antibiótico β-lactámico. ¿Por qué estos antibióticos son, generalmente, más efectivos contra bacterias grampositivas que contra bacterias gramnegativas (Sección 27.8)?
9. Explique la diferencia entre los mecanismos de acción de al menos tres antibióticos inhibidores de la síntesis de proteínas (Sección 27.8).
10. ¿Por qué los antivíricos generalmente son tóxicos para el hospedador (Sección 27.10)?
11. Identifique las dianas de acción que permiten la toxicidad selectiva de los agentes quimioterapéuticos en hongos (Sección 27.11).
12. Identifique los seis mecanismos responsables de la resistencia a los antibióticos (Sección 27.11).
13. Explique cómo se pueden ampliar los métodos tradicionales de selección de productos naturales mediante la aplicación de métodos de RNA antisentido para el descubrimiento de antibióticos (Sección 27.13).

www.medilibros.com

Ejercicios prácticos

1. ¿Cuáles son algunos de los inconvenientes potenciales del empleo de la radiación en la conservación de alimentos? ¿Crees que estos inconvenientes podrían suponer un peligro para la salud? ¿Por qué, o por qué no? ¿Cuál es la diferencia entre alimentos dañados por la radiación y alimentos contaminados por la radiación?
2. La filtración es un método aceptable para la pasteurización de algunos líquidos. Diseñe un sistema de filtración para pasteurizar un líquido termosensible. Piense en un líquido concreto y señale las ventajas e inconvenientes que presentaría para éste un sistema de filtración frente a un sistema de pasteurización por calor. Explique cómo afectaría a la calidad del producto, a su vida útil y a su precio.
3. Aunque los análogos de los factores de crecimiento pueden inhibir el metabolismo microbiano, sólo algunos de estos agentes son útiles en la práctica. Muchos agentes potenciales, y algunos cuyo uso está muy extendido, como la azidotimidina, tienen toxicidad selectiva para la célula del hospedador. Describa un análogo de un factor de crecimiento que sea eficaz y tenga baja toxicidad selectiva para las células del hospedador. ¿Por qué es baja la toxicidad para el agente que has escogido? Describa también un análogo de un factor de crecimiento que sea eficaz en una enfermedad infecciosa pero muestre toxicidad selectiva para las células del hospedador. ¿Por qué podía utilizarse un agente tóxico como la AZT en ciertas situaciones para tratar enfermedades infecciosas? ¿Qué precauciones tomaría para limitar los efectos tóxicos de dicho compuesto, al tiempo que maximizas la actividad terapéutica? Explique su respuesta.
4. Aunque muchos antibióticos demuestren tener una toxicidad selectiva clara para *Bacteria*, muchos grupos de *Bacteria* son resistentes de forma innata a sus efectos. Indique por qué las bacterias gramnegativas son resistentes a los efectos de la mayoría de, pero no todos, los antibióticos. Explique además por qué algunos antibióticos son útiles frente a estos microorganismos.
5. Haga una lista de las características de un antivírico ideal, especialmente con respecto a su toxicidad selectiva. ¿Existen dichos compuestos? ¿Qué factores podrían limitar la utilización de dicho medicamento?
6. Al igual que los virus, los hongos presentan algunos problemas desde el punto de vista quimioterapéutico. Explique los problemas inherentes a la quimioterapia de ambos grupos de microorganismos, y explique si estás de acuerdo o no con la aseveración anterior. Proporcione ejemplos específicos y sugiera al menos un grupo de agentes quimioterapéuticos que podrían actuar frente a ambos tipos de agentes infecciosos.

7. Explique las bases genéticas de la resistencia adquirida a los antibióticos β-lactámicos en *Staphylococcus aureus*. Diseñe una serie de experimentos para revertir la resistencia a estos antibióticos. ¿Cree que esto se puede realizar en el laboratorio? ¿Podría aplicarse su experimento «en el campo» para evitar la selección de microorganismos resistentes a los antibióticos?
8. Diseñe una serie de experimentos para investigar microorganismos que produzcan nuevos antibióticos. ¿Qué grupo(s) de microorganismos escogería para ello? ¿Dónde podría encontrar y aislar estos microorganismos en un ambiente natural? ¿Qué ventajas, si es que las hay, supondría la producción de un antibiótico para estos organismos en la naturaleza? ¿Qué métodos *in vitro* emplearía para ensayar la eficacia de tus potenciales antibióticos nuevos? ¿Cómo podría aumentar la sensibilidad de los ensayos de productos naturales? ¿Por qué los miembros del género *Streptomyces* todavía son fuentes productoras de nuevos antibióticos?

www.medilibros.com

28

Interacciones de los microorganismos con la especie humana

I INTERACCIONES BENEFICIOSAS DE MICROORGANISMOS CON SERES HUMANOS 903

28.1 Principios básicos de las interacciones de microorganismos con la especie humana **903**

28.2 Microbiota normal de la piel **905**

28.3 Microbiota normal de la cavidad bucal **906**

28.4 Microbiota normal del tracto gastrointestinal **909**

28.5 Microbiota normal de otras regiones del cuerpo **912**

II INTERACCIONES DAÑINAS DE MICROORGANISMOS CON SERES HUMANOS 915

28.6 Entrada del patógeno en el hospedador **915**

28.7 Colonización y crecimiento **918**

28.8 Virulencia **198**

III FACTORES DE VIRULENCIA Y TOXINAS 922

28.9 Factores de virulencia **922**

28.10 Las exotoxinas **922**

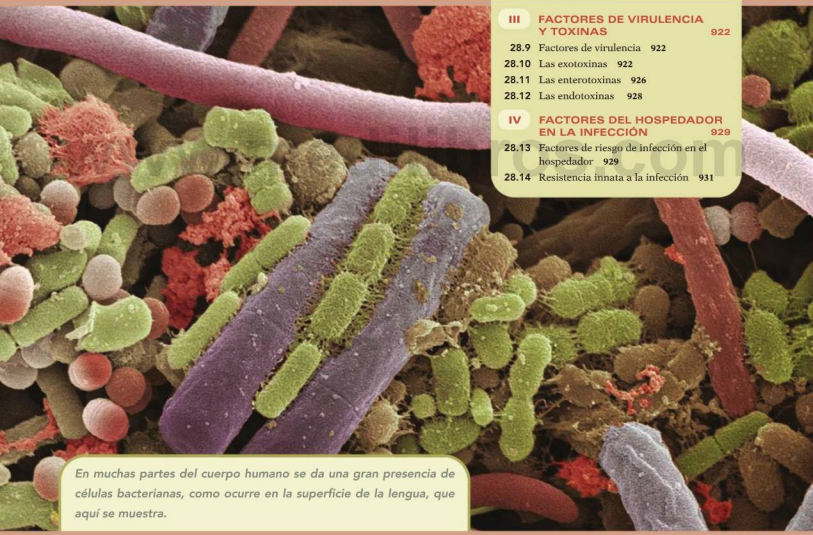
28.11 Las enterotoxinas **926**

28.12 Las endotoxinas **928**

IV FACTORES DEL HOSPEDADOR EN LA INFECCIÓN 929

28.13 Factores de riesgo de infección en el hospedador **929**

28.14 Resistencia innata a la infección **931**



En muchas partes del cuerpo humano se da una gran presencia de células bacterianas, como ocurre en la superficie de la lengua, que aquí se muestra.

En el cuerpo humano existe una gran población de microorganismos, principalmente bacterias, que se concentran en la piel y en las membranas mucosas que recubren la boca, el intestino y los aparatos excretor y reproductor. Dichos microorganismos son en su mayoría beneficiosos y, en ocasiones, son incluso necesarios para mantener un buen estado de salud. Sin embargo, existen otros microorganismos denominados *patógenos* que colonizan, invaden y dañan el cuerpo humano a través de mecanismos directos o indirectos, en un proceso que desemboca en enfermedades infecciosas. Para acceder a los nutrientes que se hallan en el hospedador, los patógenos emplean diversas estrategias, tales como la producción de estructuras de adhesión especializadas, de factores del crecimiento específicos, de enzimas invasivas y de potentes toxinas biológicas. Generalmente, todos estos factores dañan al hospedador y, en ocasiones, llegan a causar su muerte.

En el Capítulo 27 estudiamos las medidas que se utilizan para destruir o inhibir el crecimiento de los microorganismos. En este capítulo examinaremos las defensas no específicas que desarrolla nuestro cuerpo para suprimir o destruir la mayoría de los microorganismos invasores. Los mecanismos de defensa inespecíficos físicos, anatómicos y bioquímicos hacen que las infecciones microbianas sean relativamente poco frecuentes en la vida de un ser humano.

www.medil

I INTERACCIONES BENEFICIOSAS DE MICROORGANISMOS CON SERES HUMANOS

Tras un breve repaso de las interacciones de los microorganismos con seres humanos, examinaremos los microorganismos que habitan un cuerpo humano sano y que contribuyen a mantener un buen estado de salud general en circunstancias normales.

28.1 Principios básicos de las interacciones de microorganismos con la especie humana

Durante las actividades cotidianas, el cuerpo humano está expuesto a innumerables microorganismos que se encuentran en el ambiente. Además, en el interior y en la superficie del cuerpo humano crecen cientos de especies e incontables células microbianas individuales, que constituyen lo que se conoce como **microbiota normal**. La mayoría de estos microorganismos, aunque no todos, son benignos. Algunos de ellos benefician directamente nuestra salud, y sólo unos pocos suponen una amenaza directa para ésta.

Colonización de los microorganismos

Dentro del útero materno, los mamíferos se desarrollan en un ambiente estéril y no están expuestos a los microorganismos. A partir de su nacimiento, los animales se ven expuestos a los microorganismos, y comienza la **colonización** o crecimiento de un microorganismo tras lograr acceder a los tejidos del hospedador. Las superficies cutáneas son colonizadas rápidamente por numerosas especies. Asimismo, la cavidad bucal y el tracto gastrointestinal adquieren microorganismos a través de la alimentación y la exposición al cuerpo de la madre, que, junto con otras fuentes ambientales, inicia la colonización de la piel, la cavidad bucal, el tracto respiratorio superior y el tracto gastrointestinal del bebé. Las poblaciones de microorganismos que colonizan al individuo difieren en función de la situación geográfica de éste y de su tiempo de vida. Por ejemplo, *Escherichia coli*, un habitante normal del intestino humano y animal, coloniza los intestinos de los bebés de países en vías de desarrollo a los pocos días del nacimiento, mientras que los bebés de países desarrollados no suelen adquirir *Escherichia coli* hasta pasados unos meses. En su lugar, los primeros microorganismos que colonizan el intestino de estos bebés suelen ser *Staphylococcus aureus* y otros microorganismos asociados a la piel. Los factores genéticos también desempeñan un papel importante, de manera que la microbiota normal depende en buena parte de las condiciones a las que se vea expuesto el individuo. La microbiota normal presenta una gran diversidad en cada ser humano, y puede variar de forma significativa de un individuo a otro, aunque éstos pertenezcan a una misma población.

Patógenos

Un **hospedador** es un organismo que alberga un segundo organismo llamado **parásito**, el cual vive sobre la superficie o en el interior del hospedador causándole daño. Dichos parásitos microbianos se denominan **patógenos**. El resultado de una relación hospedador-parásito depende de la **patogenicidad**, o capacidad del parásito para causar daño al hospedador. La patogenicidad varía considerablemente entre los patógenos potenciales, como también varía la resistencia y susceptibilidad del hospedador al patógeno. Un **microorganismo oportunista** sólo puede causar enfermedad si el hospedador carece de mecanismos de resistencia normales.

La patogenicidad varía considerablemente según el patógeno individual. La cuantificación del grado de patogenicidad se denomina **virulencia**, y ésta se puede expresar cuantitativamente como el número de células que provocarán una enfermedad en el individuo en un período de tiempo determinado. Ni la virulencia del patógeno ni la resistencia relativa del hospedador son factores constantes, puesto que la interacción hospedador-parásito es una relación dinámica entre los dos organismos que varía en función de las condiciones del patógeno, del hospedador y del ambiente.

Infección y enfermedad

El término **infección** se refiere a cualquier situación en la que un microorganismo se haya establecido y esté creciendo en un hospedador, causándole o no un daño. Por **enfermedad** se entiende un daño o una lesión causada al hospedador que impide que éste opere con normalidad. Infección no es sinónimo de enfermedad, porque el crecimiento de un microorganismo en un hospedador no siempre causa un daño en éste. Así pues, el hospedador está infectado por algunas especies de la microbiota normal, pero éstas raramente provocan una enfermedad. Sin embargo, la microbiota normal a veces provoca enfermedades en pacientes comprometidos, como ocurre con el cáncer y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (*véase* Sección 34.15).

Interacciones hospedador-parásito

Los hospedadores animales proporcionan entornos favorables para el crecimiento de numerosos microorganismos. Los animales son ricos en nutrientes orgánicos y factores de crecimiento requeridos por los microorganismos quimioorganótrofos, y proporcionan condiciones de pH, presión osmótica y temperatura relativamente constantes. Sin embargo, el cuerpo animal no es un entorno uniforme, sino que cada región u órgano difiere química y físicamente de los demás, y proporciona así un entorno selectivo que favorece el crecimiento de ciertos microorganismos. Por ejemplo, la piel, el tracto respiratorio y el tracto gastrointestinal proporcionan entornos químicos y físicos selectivos que favorecen el crecimiento de una gran variedad de microbiota. Por otra parte, el entorno relativamente seco de la piel favorece el crecimiento de microorganismos resistentes a la deshidratación, como la bacteria grampositiva *Staphylococcus aureus* (*véase* Sección 34.10); el entorno altamente oxigenado de los pulmones favorece el crecimiento del aerobio obligado *Mycobacterium tuberculosis* (*véase* Sección 34.5), y el entorno anóxico del intestino grueso favorece el crecimiento de anaerobios obligados, como *Clostridium* y *Bacteroides* (*véanse* Secciones 16.2 y 16.12). Además, los animales también poseen mecanismos de defensa que actúan de forma conjunta para prevenir o inhibir la invasión y el crecimiento microbianos. Los microorganismos que logran colonizar al hospedador con éxito son aquéllos que han conseguido sortear estos mecanismos de defensa.

El proceso de infección

Las infecciones comienzan a menudo en las **membranas mucosas** del animal. Dichas membranas constan de una o varias capas de *células epiteliales*, unas células estrechamente agrupadas que están en contacto directo con el entorno exterior. Las membranas mucosas se localizan en diferentes partes del cuerpo, recubriendo los tractos urogenital, respiratorio y gastrointestinal. Estas membranas suelen estar revestidas de una capa protectora de glicoproteínas solubles viscosas, denominada **moco**. Los microorganismos que entran en contacto con los tejidos del hospedador en las membranas mucosas pueden asociarse a la superficie mucosa de una manera débil o laxa, y habitualmente son arrastradas por diversos procesos físicos. No obstante, los microorganismos también pueden adherirse fuertemente a la superficie epitelial como resultado de un reconocimiento específico célula-célula entre el patógeno y el hospedador. A continuación, puede producirse una infección tisular que rompa la barrera mucosa, permitiendo que el microorganismo penetre más e invada los tejidos submucosos (**Figura 28.1**).

Los microorganismos se encuentran casi siempre en aquellas superficies del cuerpo que se hallan expuestas al ambiente exterior, como la piel, o incluso en superficies mucosas de la cavidad bucal, el tracto respiratorio, el tracto intestinal y el tracto urogenital. Generalmente, dichos microorganismos no se encuentran en la superficie ni en el interior de los órganos internos, y tampoco en los sistemas circulatorio, linfático y nervioso. Cuando el crecimiento microbiano se produce en estos entornos habitualmente estériles, este hecho indica la existencia de una enfermedad infecciosa grave.

La **Tabla 28.1** muestra algunos de los tipos principales de microorganismos que se asocian habitualmente a las superficies corporales. Las superficies mucosas presentan una microbiota diversa porque ofrecen un entorno protegido y húmedo, y una gran área de superficie global. Por ejemplo, un órgano mucoso como el intestino delgado dispone de un área de superficie de aproximadamente 400 m^2 para realizar la función especializada del transporte de nutrientes, y toda esta superficie es un lugar potencial para el crecimiento microbiano.

28.1 Minirrevisión

El cuerpo animal constituye un entorno favorable para el crecimiento de microorganismos, la mayoría de los cuales no son dañinos. Los microorganismos que causan daño al hospedador se denominan patógenos. El crecimiento de patógenos iniciado en ciertas superficies del hospedador, como las membranas mucosas, puede provocar infección y enfermedad. La capacidad de un microorganismo para causar o prevenir una enfermedad

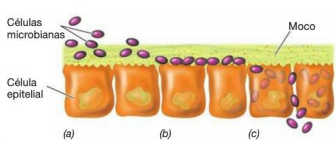


Figura 28.1 Interacciones bacterianas con membranas mucosas. *(a)* Asociación débil. *(b)* Adhesión. *(c)* Invasión de las células epiteliales de la submucosa.

Tabla 28.1 Géneros de microorganismos representativos de la micobiota normal de los seres humanos

Lugar anatómico	*Géneros o grupos principales de microorganismos*[a]
Piel	*Acinetobacter, Corynebacterium, Enterobacter, Klebsiella, Malassezia (h), Micrococcus, Pityrosporum (h), Propionibacterium, Proteus, Pseudomonas, Staphylococcus, Streptococcus*
Boca	*Streptococcus, Lactobacillus, Fusobacterium,Veillonella, Corynebacterium, Neisseria, Actinomyces, Geotrichum (h), Candida (h), Capnocytophaga, Eikenella, Prevotella, Espiroquetas* (varios géneros)
Tracto respiratorio	*Streptococcus, Staphylococcus, Corynebacterium, Neisseria, Haemophilus*
Tracto gastrointestinal	*Lactobacillus, Streptococcus, Bacteroides, Bifidobacterium, Eubacterium, Peptococcus, Peptostreptococcus, Ruminococcus, Clostridium, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Enterococcus, Staphylococcus Methanobrevibacter,* bacterias gramnegativas, *Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria*
Tracto urogenital	*Escherichia, Klebsiella, Proteus, Neisseria, Lactobacillus, Corynebacterium, Staphylococcus, Candida (h), Prevotella, Clostridium, Peptostreptococcus, Ureaplasma, Mycoplasma, Mycobacterium, Streptococcus, Torulopsis (h)*

[a]Esta lista no pretende ser exhaustiva, y no todos los microorganismos mencionados se encuentran en todos los individuos. Algunos microorganismos tienen una mayor presencia a ciertas edades (individuos adultos frente a población infantil). La distribución también puede variar según el sexo del individuo. La mayoría de estos microorganismos pueden ser patógenos oportunistas en determinadas circunstacias. Muchos de estos géneros se pueden encontrar en más de un área del cuerpo humano. (h), hongo.

www.medil

está influenciada por una compleja red de interacciones entre el microorganismo y el hospedador.

- Explique la diferencia entre infección y enfermedad.
- ¿Por qué determinadas áreas del cuerpo pueden ser más adecuadas que otras para el crecimiento microbiano?

28.2 Microbiota normal de la piel

Un ser humano adulto tiene aproximadamente 2 m^2 de superficie de piel que puede variar enormemente en cuanto a composición química y humedad. La **Figura 28.2** muestra la anatomía de la piel y las zonas en las que pueden vivir microorganismos. La superficie cutánea (epidermis) no es un lugar favorable para el crecimiento microbiano, puesto que se halla sometida a una desecación periódica.

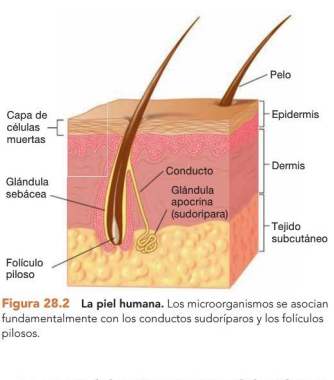


Figura 28.2 La piel humana. Los microorganismos se asocian fundamentalmente con los conductos sudoríparos y los folículos pilosos.

La mayoría de los microorganismos de la piel se asocia directa o inderectamente con las glándulas apocrinas (sudoríparas). Estas glándulas son secretoras, y se encuentran principalmente en las regiones axilar y genital, los pezones y el ombligo. Dichas glándulas permanecen inactivas durante la infancia, y no comienzan a ser plenamente funcionales hasta la pubertad. Las poblaciones microbianas son relativamente elevadas en estas localizaciones calientes y húmedas de la superficie cutánea, a diferencia de lo que ocurre en la superficie cutánea lisa y seca. El olor axilar se desarrolla como resultado de la actividad bacteriana sobre las secreciones apocrinas: la secreción apocrina recogida de forma aséptica es inodora, pero desarrolla dicho olor al ser inoculada con bacterias. Asimismo, cada folículo piloso se asocia con una glándula sebácea que segrega un fluido lubricante. Los folículos pilosos proporcionan un hábitat atractivo para los microorganismos; especialmente la zona que está situada justo debajo de la superficie cutánea. Las secreciones de las glándulas de la piel son ricas en nutrientes microbianos, como urea, aminoácidos, sales, ácido láctico y lípidos. El pH de las secreciones humanas, que es casi siempre ácido, tiene un rango que suele oscilar entre 4 y 6.

Microbiota de la piel

La microbiota normal de la piel está constituida por poblaciones residentes o transitorias de bacterias y hongos, principalmente levaduras. Algunos géneros se conservan muy bien en individuos sanos, mientras que otros cambian con el paso del tiempo. Si se examinan muestras de piel procedentes de numerosos individuos, se pueden encontrar, en total, alrededor de 180 especies diferentes de *Bacteria* y diversas especies de hongos. Las muestras obtenidas varios meses después indican que algunos miem-

UNIDAD 6

bros de la microbiota normal son extremadamente estables. Los microorganismos residentes más habituales y estables se limitan a algunos géneros de *Bacteria* grampositivas, entre los que se hallan ciertas especies de *Streptococcus* y *Staphylococcus*, y diversas especies de *Corynebacterium* y de *Propionibacterium*, como *Propionibacterium acnes*, que provoca una afección cutánea llamada acné (Tabla 28.1). Estos cuatro géneros constituyen aproximadamente la mitad de las especies halladas. Los demás grupos de bacterias que se hallan en la piel son mucho más transitorios, ya que alrededor del 70% sufren modificaciones debidas al paso del tiempo y las circunstancias del individuo.

Las *Bacteria* gramnegativas son constituyentes ocasionales de la microbiota normal de la piel, aunque los microorganismos intestinales como *Escherichia coli* se estén inoculando continuamente en la superficie cutánea por contaminación fecal. Estas *Bacteria* gramnegativas raramente crecen en la piel debido a su incapacidad para competir con los organismos grampositivos, que están mejor adaptados a las condiciones de sequedad de la piel. No obstante, la bacteria gramnegativa *Acinetobacter* es una excepción, ya que coloniza la piel de forma habitual.

Por su parte, *Malassezia* spp. son los hongos más habituales que se encuentran en la piel. En individuos sanos, es normal encontrar por lo menos cinco especies de esta levadura. La levadura lipofílica *Pityrosporum ovalis* se encuentra de forma ocasional en el cuero cabelludo. Sin embargo, la ausencia de resistencia del hospedador —en pacientes de SIDA— o la ausencia de microbiota normal bacteriana pueden provocar el crecimiento de levaduras como *Candida* y también de otros hongos, lo que da lugar a serias infecciones cutáneas.

Pese a que la microbiota residente permanece más o menos constante, su composición se puede ver afectada por diversos factores, tanto ambientales como del hospedador: (1) el *clima* puede originar un incremento de la temperatura y la humedad de la piel, causando un aumento de la densidad de microbiota cutánea; (2) la *edad* del hospedador también influye, ya que los individuos jóvenes poseen una mirobiota más variada y portan más *Bacteria* gramnegativas potencialmente patógenas que los individuos adultos; (3) la *higiene personal* influye en la microbiota residente, puesto que los individuos que no cuidan su higiene generalmente presentan en la piel densidades de población microbiana más altas. Los microorganismos que no pueden sobrevivir en la piel generalmente mueren, ya sea a consecuencia de la baja humedad o del bajo pH —debido al contenido de ácido orgánico— de la piel.

28.2 Minirrevisión

Por lo general, la piel es un entorno seco y ácido que no contribuye al crecimiento de la mayor parte de los microorganismos. Sin embargo, las zonas húmedas, especialmente las que se encuentran alrededor de las glándulas sudoríparas, son colonizadas por *Bacteria* grampositivas y por otros miembros de la microbiota normal de la piel. Los factores ambientales y del hospedador influyen en la cantidad y composición de la microbiota de la piel.

- Compare el área de superficie de la piel con la de los tejidos mucosos.
- Describa las propiedades de los microorganismos que crecen bien en la piel.

28.3 Microbiota normal de la cavidad bucal

La cavidad bucal es un hábitat microbiano complejo y heterogéneo. La saliva contiene nutrientes microbianos, pero no es un buen medio de cultivo, puesto que dichos nutrientes sólo se hallan en concentraciones bajas y, por otra parte, la saliva contiene sustancias antibacterianas. Una de estas sustancias es la lisozima, una enzima que escinde los enlaces glicosídicos del péptidoglicano presente en la pared celular bacteriana, produciendo el debilitamiento de la pared y la lisis celular (*véase* Sección 4.6). La lactoperoxidasa, una enzima presente en la leche y la saliva, destruye las bacterias mediante una reacción en la que se genera oxígeno singlete (*véase* Sección 6.18). Pese a la acción de estas sustancias antibacterianas, las partículas alimenticias y restos de células acumulados cerca de superficies como los dientes y las encías proporcionan altas concentraciones de nutrientes, creando condiciones favorables para el crecimiento microbiano, el daño tisular y las enfermedades.

Los dientes y la placa dental

El diente está compuesto de una matriz mineral de cristales de fosfato cálcico (el esmalte) que rodea el tejido vivo del diente (la dentina y la pulpa) (**Figura 28.3**). Durante el primer año de vida —cuando todavía no hay dientes—, en la boca del bebé predominan las bacterias anaeróbicas aerotolerantes, tales como estreptococos y lactobacilos, si bien otras bacterias, incluidos algunos aerobios, aparecen en un número reducido. Cuando aparecen los dientes se produce un cambio en el equilibrio de la microbiota hacia los anaerobios que están específicamente adaptados al crecimiento sobre la superficie de los dientes y sobre el surco gingival.

La colonización bacteriana de la superficie de los dientes comienza con la fijación de células bacterianas individuales. Incluso en una superficie dentaria recién limpiada, las glicoproteínas ácidas de la saliva forman una fina película orgánica de varios micrómetros de espesor que proporciona un sitio de anclaje a las microcolonias bacterianas (**Figura 28.4**). A partir de este momento, los estreptococos (fundamentalmente, *Streptococcus san-*

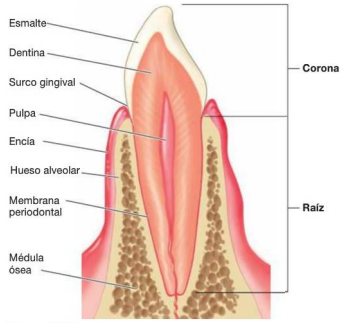


Figura 28.3 **Sección de un diente.** El esquema muestra la estructura del diente y los tejidos circundantes que fijan el diente a la encía.

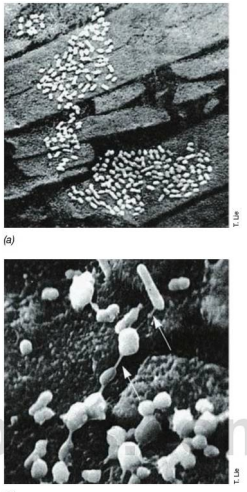


Figura 28.4 **Microcolonias bacterianas.** *(a)* Estas colonias crecen sobre una superficie dentaria artificial insertada en una boca durante 6 h. *(b)* Visión aumentada de la preparación que se muestra en *(a)*. Obsérvese la diferente morfología de los microorganismos presentes y la capa mucosa (indicado por las flechas) que los mantiene unidos.

guis, *S. sobrinus*, *S. mutans* y *S. mitis*) pueden colonizar la película glicoproteica. Como consecuencia del crecimiento intensivo de estos microorganismos, se forma una gruesa capa bacteriana llamada **placa dental** (**Figuras 28.5** y **28.6**).

Si la placa continúa formándose, comienzan a desarrollarse anaerobios obligados filamentosos como las especies de *Fusobacterium*. Las bacterias filamentosas se incrustan en la matriz formada por los estreptococos y se extienden en perpendicular a la superficie dentaria, formando una capa bacteriana más gruesa. En asociación con las bacterias filamentosas se hallan espiroquetas como las especies de *Borrelia* (*véase* Sección 16.16), bacilos grampositivos y cocos gramnegativos. En una placa gruesa pueden predominar anaerobios filamentosos como los *Actinomyces*. Así pues, la placa dental se puede considerar como una biopelícula formada por cultivos mixtos (*véanse* Secciones 23.4 y 23.5), consistente en una capa relativamente gruesa de bacterias de distintos géneros y de productos bacterianos acumulados.

La naturaleza anaeróbica de la microbiota bucal puede parecer sorprendente teniendo en cuenta la entrada de oxígeno en el cuerpo a través de la boca. No obstante, la anoxia se desarrolla como resultado de la acción metabólica de las bacterias facultativas que crecen en los materiales orgánicos de la superficie dentaria. La formación de placa produce una matriz densa que disminuye la difusión del oxígeno en la superficie del diente, formando así un microambiente anóxico. Las poblaciones microbianas de la placa dental viven en un microambiente creado por ellas mismas, haciendo frente a las grandes variaciones que se producen en el microambiente de la cavidad bucal.

La caries dental

A medida que se va acumulando la placa dental, la microbiota residente produce concentraciones localmente altas de ácidos orgánicos que causan la descalcificación del esmalte de los dientes (Figura 28.3), lo cual da lugar a la aparición de una enfermedad infecciosa denominada **caries dental** (deterioro dental). Las superficies lisas de los dientes son relativamente fáciles de limpiar y, por tanto, son resistentes al deterioro. Sin embargo, las superficies que se encuentran dentro o cerca del surco gingival pueden retener partículas de alimentos, y son los lugares donde frecuentemente comienza la caries dental.

Las dietas ricas en sacarosa (azúcar) favorecen la aparición de caries dental. Las bacterias acidolácticas fer-

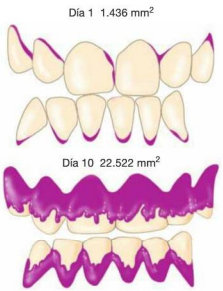


Figura 28.5 **Distribución de la placa dental.** La placa se hace visible mediante la utilización de un agente de revelado, en un diente sin cepillar después de un día (arriba) y después de 10 días (abajo). Las zonas coloreadas representan la placa. La formación de la placa comienza cerca de la línea gingival, directamente adyacente a las membranas mucosas de las encías.

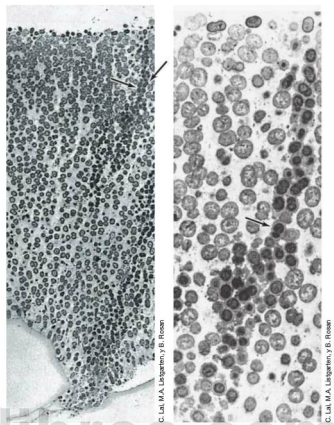


Figura 28.6 **Micrografías electrónicas de secciones finas de una placa dental.** La parte inferior de la fotografía muestra la base de la placa, mientras que la parte superior muestra la porción expuesta a la cavidad bucal. El grosor total de la capa de la placa es de unos 50 μm. *(a)* Micrografía electrónica de bajo aumento. Los microorganismos que aparecen son predominantemente estreptococos. La especie *Streptococcus sobrinus*, que ha sido marcada mediante una técnica microquímica de anticuerpos, aparece en un tono más oscuro. Las células de *Streptococcus sobrinus* aparecen como dos cadenas diferentes (*véase* flechas). *(b)* Micrografía electrónica de gran aumento que muestra la región afectada por células de *Streptococcus sobrinus* (oscura, indicada por la flecha). Obsérvese la extensa capa viscosa que rodea las células de *Streptococcus sobrinus*. Cada una de estas células tiene un diámetro aproximado de 1 μm.

www.medilibros.com

mentan los azúcares y los convierten en ácido láctico, que disuelve parte del fosfato cálcico de zonas específicas. A continuación, tiene lugar la proteólisis de la matriz del esmalte dentario bajo la acción de las enzimas proteolíticas liberadas por la bacteria. Las células bacterianas penetran lentamente en la matriz en descomposición. La estructura del tejido calcificado también desempeña un papel importante en la extensión de la caries dental. Por ejemplo, la incorporación del fluoruro en la matriz de cristales de fosfato cálcico incrementa la resistencia a la descalcificación por ácido. Por este motivo, tanto el agua potable como los dentífricos contienen fluoruros que inhiben el deterioro de los dientes.

Dos microorganismos implicados en la caries dental son las bacterias acidolácticas *Streptococcus sobrinus* y *Streptococcus mutans*. *Streptococcus sobrinus* es probablemente el principal responsable del deterioro de las superficies dentales lisas, debido a su afinidad específica con las glicoproteínas salivales que se encuentran en dichas superficies (Figura 28.6). *Streptococcus mutans*, que se encuentra principalmente en los surcos y pequeñas fisuras, produce dextrano, un polisacárido extraordinariamente adherente que utiliza para fijarse a la superficie de los dientes (**Figura 28.7**). *Streptococcus mutans* produce dextrano solamente cuando existe sacarosa debido a la acción de la enzima dextransucrasa:

$$n\ \text{Sacarosa} \xrightarrow{\text{Dextransucrasa}} \text{Dextrano}\ (n\ \text{Glucosa}) + n\ \text{Fructosa}$$

La susceptibilidad a la caries dental varía de un individuo a otro, y está influenciada tanto por los rasgos genéticos del individuo, como por la dieta y otros factores externos. La sacarosa, por ejemplo, es muy cariogénica porque sirve como sustrato de la dextransucrasa, y forma parte de la dieta de la mayoría de los individuos de los países desarrollados. Diversos estudios sobre la distribución de los estreptococos cariogénicos bucales han demostrado una correlación directa entre la presencia de *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, y la extensión de la caries dental. En los Estados Unidos y Europa Occidental, entre el 80% y el 90% de todos los individuos están infectados por *Streptococcus mutans*, y la

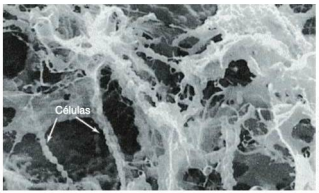


Figura 28.7 Micrografía electrónica de barrido de la bacteria cariogénica *Streptococcus mutans*. El material viscoso de dextrano mantiene unidas las células bacterianas formando filamentos. Cada célula de *Streptococcus mutans* tiene un diámetro aproximado de 1 μm.

caries dental es un fenómeno casi universal. Por el contrario, *Streptococcus mutans* no se halla en la placa de la población infantil de Tanzania, que no presenta casos de caries dental supuestamente debido a que su dieta apenas incluye sacarosa.

Los microorganismos bucales también pueden causar otras infecciones. Las zonas que se extienden a lo largo de la membrana periodontal o debajo del surco gingival (bolsas periodontales) (Figura 28.3) pueden infectarse con microorganismos, causando una inflamación de los tejidos gingivales (gingivitis) que puede desembocar en enfermedad periodontal y, finalmente, provocar la destrucción del hueso y los tejidos. Entre los géneros de microorganismos implicados en este proceso se encuentran algunas bacterias fusiformes, que son bacilos gramnegativos de forma alargada y delgada con extremos puntiagudos, como el aerobio facultativo *Capnocytophaga*; el aerobio *Rothia*, e incluso algunos metanógenos anaerobios estrictos, como *Methanobrevibacter* (*Archaea*).

28.3 Minirrevisión

Las bacterias pueden producir sustancias adherentes y crecer sobre las superficies dentarias, formando biopelículas de cultivos mixtos denominadas placa dental. El ácido producido por los microorganismos de la placa daña la superficie de los dientes y provoca así la caries dental. Si la infección persiste puede acabar causando enfermedad periodontal.

- ¿Cómo llegan a establecerse en la boca los microorganismos anaerobios?
- La caries dental, ¿es una enfermedad infecciosa? Ofrece al menos una razón que justifique tu respuesta.
- Explica cómo contribuyen las bacterias acidolácticas a la formación de la caries.

28.4 Microbiota normal del tracto gastrointestinal

El tracto gastrointestinal humano consta de estómago, intestino delgado e intestino grueso (**Figura 28.8**), y en él tienen lugar la digestión de los alimentos, la absorción de nutrientes y la producción de nutrientes por parte de la microbiota normal residente. A partir del estómago, el tracto digestivo constituye una columna de nutrientes mezclados con microorganismos. Los nutrientes se mueven en una dirección a través de esta columna, encontrando a su paso poblaciones de microorganismos cambiantes. En esta sección examinaremos los microorganismos, sus funciones y sus propiedades especiales.

En total, existen alrededor de 10^{13} a 10^{14} por gramo de células microbianas en todo el tracto gastrointestinal. Nuestro conocimiento actual de la diversidad y la cantidad de microorganismos que residen en el tracto intestinal ha sido posible gracias a la utilización de métodos de cultivo estándar y de métodos moleculares independientes del cultivo, tales como los análisis de comunidades microbianas (*véanse* Secciones 14.9 y 22.3-22.6).

El estómago

Debido a la extrema acidez de los fluidos estomacales (aproximadamente, pH 2), el estómago constituye una barrera química contra la entrada de microorganismos en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, existen microorganismos que viven en este entorno aparentemente hostil. Algunos estudios que han utilizado secuencias del RNA ribosómico 16S procedentes de biopsias de estómagos humanos indican que la población microbiana del estómago comprende diferentes filos y una gran cantidad de taxones microbianos. Cada individuo posee una población claramente diferenciada, pero todos contienen especies de bacterias grampositivas, *Proteobacteria*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* y *Fusobacteria* (Figura 28.8). *Helicobacter pylori*, el microorganismo más habitual, coloniza la pared estomacal de muchos individuos —pero no todos—, y puede llegar a causar úlceras en hospedadores susceptibles (*véase* Sección 24.11). Algunas de las bacterias que se hallan en el estómago son microorganismos que también se encuentran en la cavidad bucal, y han llegado al estómago con el paso de los alimentos ingeridos.

El tracto intestinal, distal con respecto al estómago, se divide en intestino *delgado* e intestino *grueso*, y cada uno de ellos se subdivide a su vez en diferentes estructuras anatómicas. La composición de la microbiota normal intestinal de los seres humanos varía considerablemente y depende en parte de su dieta. Por ejemplo, las personas que consumen grandes cantidades de carne presentan un gran número de *Bacteroides* y menor cantidad de coliformes y bacterias acidolácticas que aquéllas que tienen una dieta vegetariana. En la Figura 28.8 aparecen los microorganismos representativos que se encuentran en el tracto gastrointestinal.

UNIDAD 6

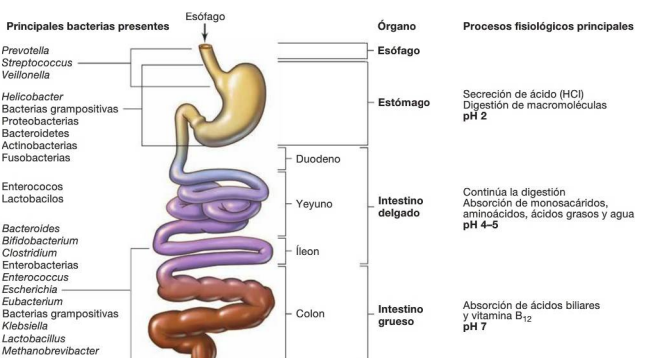


Figura 28.8 El tracto gastrointestinal humano. Distribución de los microorganismos no patógenos más representativos en individuos adultos sanos.

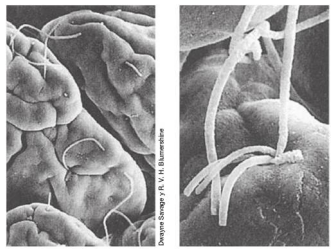
www.medilibros.com

El intestino delgado

El intestino delgado se divide en dos partes, el *duodeno* y el *íleon*, que están conectadas por el *yeyuno*. El duodeno, adyacente al estómago, es ligeramente ácido y su microbiota normal es similar a la del estómago. Desde el duodeno al íleon, el pH se vuelve progresivamente menos ácido, y aumenta el número de bacterias. En el íleon inferior, son habituales los recuentos celulares de 10^5 a 10^7 por gramo de contenido intestinal, pese a que el ambiente se vuelve progresivamente anóxico. En esta parte del tracto intestinal se hallan normalmente bacterias anaerobias fusiformes fijadas a la pared intestinal por uno de sus extremos (**Figura 28.9**).

El intestino grueso

El íleon conecta con el *ciego*, la primera parte del intestino grueso, y el *colon* completa el intestino grueso. En el colon, las bacterias están presentes en grandes cantidades, y esta región puede considerarse como un recipiente de fermentación en la que viven numerosas bacterias que utilizan los nutrientes derivados de la digestión de los alimentos (Tabla 28.1). Los aerobios facultativos como *Escherichia coli* se encuentran en cantidades más pequeñas que el resto de bacterias, y los recuentos totales de aerobios facultativos suelen ser inferiores a 10^7 por



(a) (b)

Figura 28.9 Micrografías electrónicas de barrido de la comunidad microbiana sobre la superficie de las células epiteliales en el íleon del ratón. *(a)* Una panorámica a bajo aumento. Obsérvense las bacterias fusiformes, largas y filamentosas, localizadas sobre la superficie. *(b)* A mayor aumento se observan distintos filamentos fijados a una única depresión. Obsérvese que el anclaje se produce sólo en el extremo de los filamentos. Cada una de estas células tiene una longitud de 10-15 μm.

gramo de contenido intestinal. Los aerobios facultativos consumen todo el oxígeno presente, y convierten así el intestino grueso en un ambiente estrictamente anóxico que favorece el crecimiento de anaerobios obligados, como algunas especies de *Clostridium* y *Bacteroides*. El número total de anaerobios obligados presentes en el colon es muy elevado. Son habituales los recuentos bacterianos de 10^{10} a 10^{11} células por gramo de materia fecal en el intestino distal, de los cuales el 99% son especies de *Bacteroidetes* y algunas especies grampositivas. El metanógeno *Methanobrevibacter smitthii* también puede estar presente en candidades significativas. Los protistas no se encuentran de forma normal en el tracto gastrointestinal de seres humanos sanos, aunque algunos protistas pueden causar infecciones oportunistas si se ingieren en agua o alimentos contaminados (*véanse* Secciones 36.6 y 37.11).

Funciones y productos de la microbiota normal intestinal

Los microorganismos intestinales llevan a cabo una amplia variedad de reacciones metabólicas que producen diversos compuestos (**Tabla 8.2**). Tanto la composición de la microbiota intestinal como la dieta influyen en el tipo y cantidad de compuestos que se producen en el intestino. Entre estos productos se encuentran las vitaminas B_{12} y K. Estas vitaminas esenciales no son sintetizadas por los seres humanos, sino que son producidas por la microbiota intestinal y absorbidas por el intestino. Los esteroides producidos en el hígado y liberados al intestino por la vesícula biliar en forma de ácidos biliares son modificados en el intestino por la microbiota normal. Una vez modificados y activados, los compuestos de esteroides son absorbidos por el intestino.

Otros productos generados por la acción de las bacterias fermentadoras son el gas (flato) y las sustancias productoras de olor que aparecen en la Tabla 28.2. Los individuos adultos expelen por el intestino un promedio de cientos de mililitros diarios de gas, de los cuales aproximadamente la mitad es N_2 procedente de aire ingerido. Algunos alimentos metabolizados por bacterias fermentadoras en los intestinos producen hidrógeno (H_2) y dióxido de carbono (CO_2). Los metanógenos, que se encuentran en los intestinos de aproximadamente un tercio de los individuos adultos, convierten el hidrógeno y el dióxido de carbono producidos por las bacterias fermentadoras en metano (CH_4). Los metanógenos presentes en el rumen del ganado producen cantidades significativas de metano: hasta un cuarto de la producción mundial total (*véase* Sección 24.2).

Durante el paso de los alimentos por el tracto intestinal, se absorbe el agua del material digerido, que se va haciendo cada vez más concentrado y acaba transformado en heces. Las bacterias constituyen cerca de un tercio del peso de la materia fecal. Los microorganismos que viven en la luz del intestino grueso son arrastrados continuamente hacia abajo por el trasiego del material, y las bacterias que se pierden son constantemente sustituidas por un nuevo cultivo. Así pues, la acción del intestino grueso hace que éste se asemeje a un quimiostato. El tiempo que se necesita para completar el paso de material por todo el tracto intestinal es de aproximadamente 24 h en los seres humanos. La velocidad de crecimiento de las bacterias en la luz del intestino hace que la población bacteriana se duplique una o dos veces diarias.

Tabla 28.2 Contribuciones bioquímicas/metabólicas de los microorganismos intestinales

Proceso	*Producto*
Síntesis de vitaminas	Tiamina, riboflavina, piridoxina, B12, K
Producción de gas	CO_2, CH_4, H_2
Producción de olor	H_2S, NH_3, aminas, indol, escatol, ácido butírico
Producción de ácido orgánico	Ácidos acético, propiónico, butírico
Reacciones de glicosidasa	β-glucoronidasa, β-galactosidasa, β-glucosidasa, α-glucosidasa, α-galactosidasa
Metabolismo esteroide	Esteroides esterificados, deshidroxilados, oxidados o reducidos

Alteración de la microbiota normal

Cuando se administra un antibiótico por vía oral, éste inhibe tanto el crecimiento de la microbiota normal como el de los patógenos, lo que provoca la pérdida de las bacterias sensibles al antibiótico en el tracto intestinal. Esto se puede apreciar por la aparición de heces blandas o diarrea. En ausencia de microbiota normal pueden establecerse microorganismos oportunistas como las especies resistentes a los antibióticos de *Staphylococcus*, *Proteus*, *Clostridium difficile*, o la levadura *Candida albicans*. La retención de patógenos oportunistas puede provocar una alteración perjudicial de la función digestiva, o incluso una enfermedad. Por ejemplo, la terapia antibiótica permite el florecimiento de microorganismos con menor sensibilidad a los antibióticos, como *Clostridium difficile*, y esto puede causar una infección y colitis. Sin embargo, tras la supresión de la terapia antibiótica, la microbiota normal intestinal se reestablece de forma relativamente rápida en individuos adultos. Se puede conseguir que la microbiota intestinal recolonice el intestino más rápidamente mediante la administración de **probióticos**, unos cultivos vivos de bacterias intestinales que resultan beneficiosos para la salud del hospedador. Esto se debe a que una recolonización rápida del intestino puede reestablecer una microbiota local competitiva y proporcionar los productos metabólicos microbianos deseados (*véase* Información adicional: «Los probióticos»).

www.libros.com

Información adicional

Los probióticos[1]

El crecimiento de microorganismos tanto en el interior como en la superficie del cuerpo humano es importante para el desarrollo normal del individuo. Estos microorganismos, denominados comensales (*véase* Sección 23.1), crecen en el interior y en la superficie del cuerpo, y probablemente son esenciales para el bienestar de todos los macroorganismos.

Los microorganismos que adquirimos y retenemos constituyen nuestra microbiota normal y compiten en distintos sitios del cuerpo con los patógenos, impidendo que éstos colonicen nuestro organismo. Los comensales que residen en el intestino participan de forma activa en la digestión de los alimentos y producen nutrientes esenciales. En teoría, la ingesta de determinados microorganismos puede utilizarse para cambiar o reestabilizar nuestra microbiota normal del intestino con fines beneficiosos, especialmente en aquéllos individuos cuya microbiota ha experimentado cambios fundamentales debido a una enfermedad, una operación quirúrgica u otros tratamientos terapéuticos, o en aquéllos individuos cuya microbiota normal se ha visto alterada por otros motivos, como una mala dieta. Los microorganismos ingeridos de forma intencionada que se utilizan con este fin se denominan probióticos (**Figura 1**).

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO, por sus siglas en inglés) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) definen los probióticos como suspensiones de microorganismos vivos que, al administrarse en las cantidades adecuadas, benefician de forma perceptible la salud del hospedador. Esta definición también ha sido adoptada por la American Academy of Microbiology.

¿Son realmente eficaces los probióticos? No existen pruebas científicas determinantes que demuestren que la modificación de las poblaciones de comensales en individuos adultos normales y sanos tenga importantes efectos positivos para la salud a largo plazo. Por ejemplo, los productos que aparecen en la Figura 1 tienen como objetivo reemplazar o reconstituir la microbiota normal del intestino de los seres humanos mediante la ingesta del equivalente a cultivos microbianos concentrados. Como ocurre con las aplicaciones animales que examinaremos más adelante, estos productos están dirigidos a prevenir o corregir problemas digestivos y, si bien pueden proporcionar beneficios a corto plazo, no existen pruebas concluyentes de que puedan establecer o reestablecer de forma duradera la microbiota normal que ha sido modificada.

Sin embargo, los probióticos se utilizan de forma rutinaria en animales de granja para prevenir problemas digestivos. Por ejemplo, se han utilizado cepas de *Lactobacillus*,

[1] Fuente: Walker, R. y Bucley, M. 2006. *Probiotic Microbes: The Scientific Basis*. American Academy of Microbiology.

www.mimbres.com

28.4 Minirrevisión

El estómago y el tracto intestinal alojan una población de microorganismos variada en condiciones nutricionales y ambientales muy diversas. Las poblaciones de microorganismos están influenciadas por la dieta del individuo y por las condiciones físicas específicas de cada área anatómica.

- ¿Por qué el intestino delgado es más adecuado para el crecimiento de aerobios facultativos que el intestino grueso?
- Identifique varios componentes esenciales producidos por la microbiota normal intestinal. ¿Qué sucedería si todos los microorganismos fueran eliminados del cuerpo por el uso de antibióticos?

28.5 Microbiota normal de otras regiones del cuerpo

Todas las membranas mucosas favorecen el crecimiento de un grupo especializado de microorganismos. Estos organismos forman parte del ambiente local normal y son característicos del tejido sano. En muchos casos, los microorganismos patógenos no pueden colonizar las membranas mucosas debido a que no pueden competir con la microbiota normal. En esta sección, estudiaremos dos ambientes mucosos del cuerpo humano y sus microorganismos residentes.

El tracto respiratorio

La anatomía del tracto respiratorio se muestra en la **Figura 28.10**. En el **tracto respiratorio superior** (nasofaringe, cavidad bucal, laringe y faringe), los microorganismos

Laboratorio O. Jung and John Kluehno

Figura 1 **Algunos de los preparados de probióticos que se comercializan.** *Los ejemplos que se muestran se comercializan para consumo humano.*

Propionibacterium, *Bacillus* y *Saccharomyces* con este fin de forma satisfactoria, por lo que cabe esperar que un tratamiento similar en seres humanos pueda tener efectos semejantes.

Diversas dolencias humanas han respondido positivamente a la administración de probióticos, aunque se desconocen los mecanismos de estas sustancias. Por ejemplo, el período de diarrea aguda producido por infección de rotavirus en la población infantil puede acortarse mediante la administración de distintos preparados probióticos. La levadura *Saccharomyces* puede reducir la recurrencia de la diarrea y acortar las infecciones provocadas por *Clostridium difficile*. Los lactobacilos probióticos también se han utilizado para tratar infecciones urogenitales en seres humanos.

Hasta el momento, se han hallado pruebas que sugieren que la composición de la microbiota normal del intestino puede cambiar rápidamente mediante la administración de probióticos. Sin embargo, a largo plazo, la microbiota intestinal regresa a su estado original, lo cual indica que, con toda probabilidad, los probióticos sólo surten efecto a corto plazo. Así pues, pese a que los probióticos pueden ser beneficiosos para la salud —especialmente en el reestablecimiento de la microbiota normal del intestino después de que ésta experimente cambios drásticos—, no existen pruebas sólidas que demuestren que estos beneficios sean definitivos ni duraderos. En este sentido, es necesario realizar estudios con un diseño y un control científico estrictos, que documenten los resultados del tratamiento con preparados probióticos estandarizados que contengan microorganismos conocidos, y sean administrados en dosis precisas.

viven en zonas bañadas por las secreciones de las membranas mucosas. Las bacterias penetran continuamente con el aire por el tracto respiratorio superior durante la respiración, pero la mayor parte de ellas queda atrapada en las vías nasales y es expelida nuevamente con las secreciones nasales. No obstante, existe un grupo restringido de microorganismos que coloniza las superficies mucosas respiratorias de todos los individuos. Los microorganismos residentes más habituales son estafilococos, estreptococos, bacilos diftéricos y cocos gramnegativos. A menudo, en la microbiota normal nasofaríngea de los individuos sanos se pueden hallar incluso microorganismos potencialmente patógenos, como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* (Tabla 28.1). Estos individuos son *portadores* de los patógenos, pero por lo general, no adquieren la enfermedad, supuestamente debido a que los otros microorganismos residentes compiten con éxito por los recursos y limitan el crecimiento del patógeno. El sistema inmunitario innato y los componentes del sistema inmunitario adaptativo, como IgA (*véase* Capítulo 29), son especialmente activos en las superficies mucosas, y pueden inhibir también el crecimiento de los patógenos.

El **tracto respiratorio inferior** (tráquea, bronquios y pulmones) de los individuos adultos sanos carece de una microbiota normal residente, a pesar del gran número de microorganismos potencialmente capaces de alcanzar esta región durante la respiración. Las partículas de polvo, que son bastantes grandes, se retienen en el tracto respiratorio superior. A medida que el aire circula por el tracto respiratorio inferior, su intensidad de flujo disminuye notablemente, y los microorganismos se asientan sobre las paredes de las vías. Las paredes de todo el tracto respiratorio están revestidas de un epitelio ciliado, y

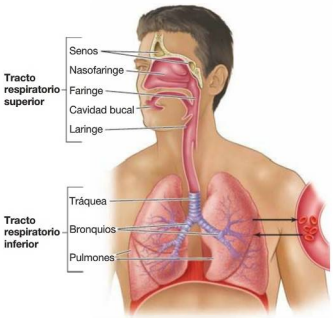


Figura 28.10 **El tracto respiratorio.** En individuos sanos, el tracto respiratorio superior presenta una gran variedad y número de microorganismos. Por el contrario, el tracto respiratorio inferior de un individuo sano apenas alberga microorganismos.

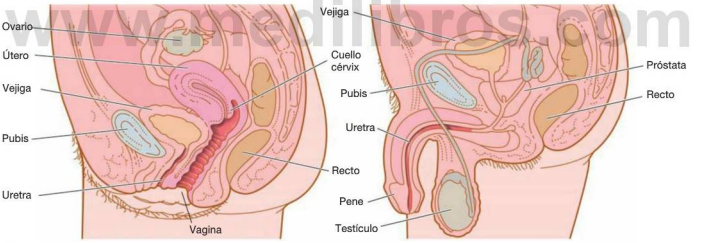
los cilios, que baten en sentido ascendente, empujan a las bacterias y otras partículas hacia el tracto respiratorio superior, donde finalmente son expelidas con la saliva y las secreciones nasales. Sólo las partículas de un tamaño inferior a 10 μm alcanzan los pulmones. No obstante, algunos patógenos pueden alcanzar esta región y causar enfermedades, principalmente neumonías causadas por ciertas bacterias o virus (*véanse* Secciones 34.2 y 34.7).

El tracto urogenital

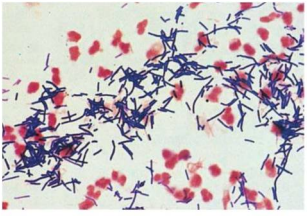
En los tractos urogenitales femenino y masculino (**Figura 28.11**), la vejiga suele ser estéril, pero las células epiteliales que revisten la uretra son colonizadas por bacilos y cocos gramnegativos aerobios facultativos (Tabla 28.1). Los patógenos potenciales como *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis*, que normalmente están presentes en pequeñas cantidades en el cuerpo y en el medio ambiente, pueden multiplicarse en la uretra y convertirse en patógenos si se producen cambios en su entorno, como modificaciones en el pH. Dichos organismos son una causa frecuente de infecciones del tracto urinario, especialmente en las mujeres.

La vagina de la mujer adulta es débilmente ácida y contiene cantidades significativas de glucógeno. *Lactoba-*

www.edilibros.com



(a)



(b)

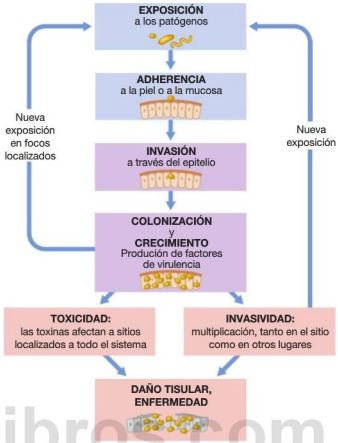
Figura 28.11 **Crecimiento microbiano en el tracto genitourinario.** *(a)* Los tractos genitourinarios femenino y masculino, mostrando las zonas (en color rojo) donde suelen crecer los microorganismos. Las regiones superiores de ambos tractos genitourinarios son estériles en individuos sanos. *(b)* Tinción de Gram de *Lactobacillus acidophilus*, el microorganismo predominante en la vagina de la mujer desde el inicio de la pubertad hasta el fin de la menopausia. Cada bacilo tiene una longitud de 3-4 μm.

cillus acidophilus, un microorganismo residente en la vagina, fermenta el glucógeno y produce ácido láctico, manteniendo así un entorno local ácido (Figura 28.11*b*). También pueden estar presentes otros microorganismos, como levaduras (especies de *Torulopsis* y de *Candida*), estreptococos y *Escherichia coli*. Antes de la pubertad, la vagina de la mujer es alcalina, no produce glucógeno ni está presente *Lactobacillus acidophilus*, y en la microbiota normal predominan los estafilococos, estreptococos, difteroides y *Escherichia coli*. Después de la menopausia, la producción de glucógeno cesa, el pH aumenta y la microbiota de la vagina se asemeja otra vez a la que se encuentra antes de la pubertad.

28.5 Minirrevisión

La presencia de una población normal de microorganismos no patógenos en los tractos respiratorio y urogenital es esencial para el funcionamiento normal de los órganos, y con frecuencia impide la colonización de los patógenos.

- A menudo se encuentran patógenos potenciales en la microbiota normal del tracto respiratorio superior. ¿Por qué en la mayoría de los casos no causan enfermedades?
- ¿Qué importancia tiene el *Lactobacillus* que se encuentra en el tracto urogenital de las mujeres adultas normales?



www.medilibros.com

Figura 28.12 Microorganismos y mecanismos de patogénesis. Tras la exposición al patógeno, la patogénesis comienza con la adherencia específica.

II INTERACCIONES DAÑINAS DE MICROORGANISMOS CON SERES HUMANOS

Las interacciones microbianas pueden ser dañinas para el hospedador y causar enfermedades. En este apartado revisaremos los mecanismos de *patogénesis*, esto es, la capacidad de los microorganismos para causar enfermedades. La patogénesis microbiana empieza por la exposición y adherencia de los microorganismos a las células del hospedador, seguidas de la invasión, colonización y crecimiento en dichas células. El crecimiento incontrolado de un patógeno produce daños en el hospedador. Los patógenos utilizan diversas estrategias para provocar *virulencia*, que es la capacidad relativa de un patógeno para causar enfermedades (**Figura 28.12**). A continuación, examinaremos cuáles son los factores que provocan virulencia.

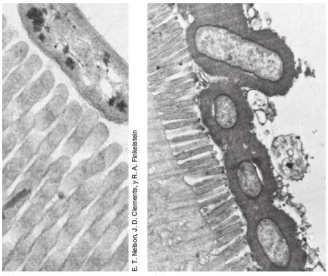
28.6 Entrada del patógeno en el hospedador

Por lo general, un patógeno debe alcanzar los tejidos del hospedador y multiplicarse antes de ocasionar un perjuicio. En la mayoría de los casos, eso requiere que el microorganismo penetre la piel, las membranas mucosas o el epitelio intestinal, superficies que normalmente actúan como barreras microbianas.

Adherencia específica

La mayoría de las infecciones microbianas comienzan por cortes o heridas, ya sea en la piel o en las membranas mucosas de los tractos respiratorio, digestivo o genitourinario. Las bacterias o virus capaces de iniciar una infección suelen adherirse específicamente a las células epiteliales (**Figura 28.13**), mediante interacciones macromoleculares entre las superficies del patógeno y de la célula del hospedador.

La mayor parte de los patógenos no se adhiere a todas las células epiteliales por igual, sino que se adhiere selectivamente a las células de una región concreta del cuerpo. Por ejemplo, *Neisseria gonorrhoeae*, el patógeno que causa la enfermedad de transmisión sexual gonorrea, se adhiere más fuertemente al epitelio urogenital que a otros tejidos. Este patógeno tiene una proteína de superficie denominada Opa (del inglés *opacity associated protein*) que se une específicamente a una proteína del hospedador llamada CD66. CD66 es una proteína que sólo se halla en la superficie de las células epiteliales de los seres humanos. Así, *Neisseria gonorrhoeae* interacciona exclusi-



(a) (b)

Figura 28.13 **Adherencia de patógenos a tejidos animales.** *(a)* Micrografía electrónica de transmisión de una sección fina de *Vibrio cholerae* adhiriéndose al borde en cepillo de las vellosidades intestinales del conejo. Obsérvese la ausencia de cápsula. *(b) Escherichia coli* enteropatógena en un modelo de infección letal en una ternera recién nacida. Las células bacterianas están unidas al borde en cepillo de las vellosidades intestinales de la ternera mediante una cápsula bien diferenciada. Los bacilos tienen un diámetro aproximado de 0,5 μm.

vamente con las células del hospedador uniéndose a una proteína específica de la superficie celular. En muchos casos, una cepa bacteriana que normalmente infecta al ser humano se adhiere más fuertemente a las células humanas adecuadas que a células semejantes en otro animal —por ejemplo, la rata—, y viceversa.

Algunas macromoléculas responsables de la adhesión bacteriana no están unidas covalentemente a la bacteria. Normalmente, estos casos se dan en polisacáridos, proteínas o mezclas de proteínas y carbohidratos sintetizados y secretados por la bacteria (*véase* Sección 4.9). Una masa difusa de fibras de polímeros que se extiende hacia el exterior de la célula se denomina **capa mucosa** (Figura 28.4*b*), mientras que una cubierta formada por una capa densa y bien definida de polímeros que rodea la célula se denomina **cápsula** (**Figuras** 28.13 y **28.14**). Estas estructuras pueden ser importantes para la adherencia no sólo a los tejidos del hospedador, sino también a otras bacterias. En algunos casos, estas estructuras pueden proteger a la bacterias de mecanismos de defensa del hospedador, como puede ser la fagocitosis (*véase* Sección 29.2).

Las *fimbrias* y los pelos (*pili*) (*véase* Sección 4.9) son estructuras proteicas de la superficie bacteriana que también pueden interaccionar en el proceso de anclaje. Por ejemplo, los pelos de *Neisseria gonorrhoeae* desempeñan un papel fundamental en la fijación de este microorganismo al epitelio urogenital, mientras que las cepas fimbria-

www.medilibros.com

(a) (b)

Figura 28.14 **Cápsulas de *Bacillus anthracis*.** *(a)* Cápsulas de *Bacillus anthracis* en un medio de agar con bicarbonato. Las colonias capsuladas suelen ser muy grandes y tienen un aspecto mucoide. Cada colonia capsulada tiene un diámetro de 0,5 μm. *(b)* Tinción inmunofluorescente directa de cápsulas de *Bacillus anthracis*. Los anticuerpos emparejados con isotiocianato de fluoresceína (FITC) tiñen la cápsula de un color verde brillante, dejando ver una cápsula de 1 μm de grosor alrededor de la célula, que tiene un diámetro aproximado de 0,5 μm.

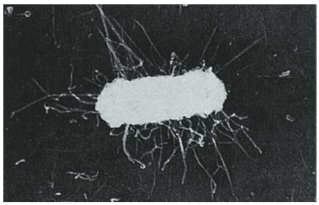


Figura 28.15 **Fimbrias.** Micrografía electrónica con sombreado de la bacteria *Escherichia coli* en la que se pueden apreciar fimbrias de tipo P, que se asemejan a las fimbrias de tipo I, aunque son algo más largas que éstas. La célula que se muestra tiene una anchura aproximada de 0,5 μm.

das de *Escherichia coli* (**Figura 28.15**) causan infecciones del tracto urinario con más frecuencia que las cepas que carecen de fimbrias. Entre las fimbrias mejor caracterizadas están las fimbrias de tipo I de enterobacterias (*Escherichia*, *Klebsiella*, *Salmonella* y *Shigella*). Las fimbrias de tipo I se distribuyen uniformemente por la superficie de las células, mientras que los pelos suelen ser más largos y menos abundantes que las fimbrias. Tanto los pelos como las fimbrias actúan uniéndose a glicoproteínas que se hallan en la superficie de la célula del hospedador, iniciando así el anclaje. Los flagelos son otro tipo de estructuras que también pueden incrementar la adherencia a las células del hospedador (Figura 28.17).

Según algunos estudios de diarreas causadas por cepas enterotóxicas de *Escherichia coli*, parece evidente que existen interacciones específicas entre el epitelio de las mucosas y los patógenos. La mayor parte de las cepas de *Escherichia coli* no son patógenas, y forman parte de la microbiota normal del ciego, la primera porción del intestino grueso y el colon (Figura 28.8). Varias cepas de *Escherichia coli* están presentes en el cuerpo humano al mismo tiempo de forma habitual, y una gran cantidad de estos microorganismos no patógenos pasan rutinariamente a través del cuerpo y se eliminan con las heces. No obstante, algunas cepas enterotóxicas de *Escherichia coli* contienen genes que codifican antígenos del factor de colonización (CFA) fímbricos. Estas proteínas se adhieren específicamente a las células del intestino delgado, y pueden colonizar y producir enterotoxinas que causan diarrea y otras enfermedades (Sección 28.11). Las cepas no patógenas de *Escherichia coli* raramente expresan proteínas CFA. Algunos factores importantes para la adherencia bacteriana se muestran en la **Tabla 28.3**.

Tabla 28.3 **Principales factores de adherencia que facilitan la fijación de patógenos microbianos a los tejidos del hospedador***

Factor	*Ejemplo*
Cápsula/capa mucosa (Figuras 28.4, 28.13 y 28.14)	*Patógenos de Esherichia coli:* la cápsula promueve la adherencia al borde en cepillo de las vellosidades intestinales. *Streptococcus mutans:* la capa mucosa de dextrano promueve la unión a la superficie dental.
Proteínas de adherencia	*Streptococcus pyogenes:* la proteína M de la superficie de la célula se une a los receptores de la mucosa respiratoria. *Neisseria gonorrhoeae:* la proteína Opa de la superficie de la célula se une a los receptores del epitelio.
Ácido lipoteicoico (*véase* Figura 4.20)	*Streptococcus pyogenes:* junto con la proteína M, facilita la unión al receptor de la mucosa respiratoria.
Fimbrias (pili) (Figura 28.15)	*Neisseria gonorrhoeae:* los pili facilitan la unión al epitelio. *Especies de Salmonella:* las fimbrias de tipo I facilitan la unión al epitelio del intestino delgado. *Patógenos de Escherichia coli:* los antígenos del factor de colonización (CFA) facilitan la unión al epitelio del intestino delgado.

* En la mayoría de los casos, los receptores en los tejidos del hospedador son glicoproteínas o lípidos complejos, tales como gangliósidos o globósidos.

www.elibros.com

Invasión

Algunos microorganismos son patógenos solamente por las toxinas que producen. Estos microorganismos no necesitan llegar a los tejidos del hospedador, y los expondremos por separado en las Secciones 28.10 y 28.11. Sin embargo, la mayor parte de los patógenos deben penetrar el epitelio para iniciar el proceso patogénico denominado *invasión*. En el sitio de entrada, normalmente pequeñas heridas o lesiones de la piel o de las superficies mucosas, es donde se establecen y desarrollan estos patógenos. El crecimiento también puede comenzar en superficies mucosas intactas, especialmente si la microbiota normal ha sido alterada o eliminada, por ejemplo, por terapia antibiótica. Los patógenos pueden entonces colonizar con mayor rapidez el tejido e iniciar el proceso invasivo. El crecimiento del patógeno también se puede producir en lugares alejados del sitio original de entrada. El acceso a estos lugares distantes, generalmente interiores, se realiza a través de la sangre o del sistema linfático.

28.6 Minirrevisión

Los patógenos acceden a los tejidos del hospedador adhiriéndose a las superficies mucosas. Esta adhesión se realiza mediante interacciones entre las macromoléculas del patógeno y las del hospedador. La invasión del patógeno se inicia en el lugar de la adherencia y se puede extender por todo el hospedador a través de los sistemas circulatorio y linfático.

▮ ¿Qué influencia tienen las moléculas CFA de *Escherichia coli* y las proteínas Opa de *Neisseria*

gonorrhoeae en la adherencia de estos patógenos a los tejidos mucosos?

- ¿Cómo inicia la invasión la adherencia?

28.7 Colonización y crecimiento

Cuando un patógeno logra acceder a un tejido, puede multiplicarse y colonizar dicho tejido. Generalmente, el inóculo inicial es insuficiente para producir daño al hospedador, por lo que el patógeno debe encontrar los nutrientes y las condiciones ambientales adecuados para crecer en el hospedador. La temperatura, el pH y la presencia o ausencia de oxígeno son factores que influyen en el crecimiento del patógeno, pero el más importante es la disponibilidad de nutrientes microbianos en los tejidos del hospedador.

No todas las vitaminas ni factores del crecimiento son igual de abundantes en todos los tejidos y al mismo tiempo, ni siquiera en un hospedador vertebrado. Los nutrientes solubles —tales como azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos y factores del crecimiento— son escasos, y esto hace que se vean favorecidos aquellos microorganismos capaces de utilizar nutrientes específicos del hospedador. Por ejemplo, *Brucella abortus* crece muy lentamente en la mayor parte de los tejidos de vacas infectadas, pero el crecimiento es muy rápido en la placenta debido a que éste es el único tejido que presenta una elevada concentración de eritritol, un azúcar que es rápidamente metabolizado por *Brucella abortus*. El eritritol estimula el crecimiento de *Brucella abortus*, lo cual provoca abortos en las vacas (*véase* Tabla 28.6).

Los elementos traza también pueden ser escasos, y esto puede afectar al asentamiento de los patógenos. Por ejemplo, la concentración de hierro afecta de manera notable al crecimieno microbiano (*véase* Sección 5.1). La proteínas específicas del hospedador denominadas *transferrina* y *lactoferrina* se unen fuertemente al hierro y lo transportan por todo el cuerpo. Dichas proteínas presentan tal afinidad por el hierro, que el déficit de hierro en los microorganismos puede limitar la infección provocada por muchos patógenos. De hecho, si se administra una solución de hierro a un animal infectado, puede aumentar considerablemente la virulencia de algunos patógenos.

Como ya señalamos en la Sección 5.1, muchas bacterias producen compuestos quelantes del hierro, llamados *sideróforos*, que les ayudan a obtener del ambiente hierro, un micronutriente que limita el crecimiento. Los sideróforos de algunos patógenos son tan eficaces, que sustraen el hierro de las proteínas animales fijadoras de hierro. Por ejemplo, un sideróforo codificado por plásmidos denominado *aerobactina*, producido por determinadas cepas de *Escherichia coli*, sustrae con facilidad el hierro unido a la transferrina. Asimismo, existen especies de *Neisseria* que producen un receptor específico para la transferrina, el cual se une al hierro de la transferrina para sustraerlo.

Localización en el cuerpo

Tras su entrada inicial, algunos patógenos permanecen localizados, multiplicándose y produciendo un pequeño foco de infección como ocurre con el furúnculo que aparece en infecciones cutáneas causadas por *Staphylococcus* (*véase* Sección 34.10). Otros patógenos pueden penetrar los vasos linfáticos y llegar a depositarse en los ganglios linfáticos, donde se incorporan al sistema inmunitario. Si un patógeno alcanza la sangre, ya sea por infección directa o a través de los vasos linfáticos, llegará a distribuirse por todo el cuerpo y, generalmente, se concentrará en el hígado o en el bazo. La difusión del patógeno a través de los sistemas circulatorio y linfático puede producir una infección generalizada o sistémica del cuerpo, acompañada de un crecimiento del microorganismo en diversos tejidos. Si se produce en los tejidos un crecimiento bacteriano masivo, generalmente algunos de los microorganismos pasan a la sangre en grandes cantidades. Esta situación se denomina **bacteriemia**. Las infecciones generalizadas de este tipo comienzan casi siempre como una infección localizada en una zona de un órgano específico, como el riñón, el intestino o el pulmón.

28.7 Minirrevisión

Un patógeno debe acceder a los nutrientes necesarios y a las condiciones de crecimiento adecuadas para poder colonizar y crecer en cantidades suficientes en el tejido del hospedador. Los patógenos pueden crecer localmente en el sitio de invasión, o pueden extenderse por todo el cuerpo.

- ¿Por qué la colonización y el crecimiento son pasos necesarios para el éxito de la mayoría de los patógenos?
- Identifique los factores del hospedador que limitan o aceleran la colonización y el crecimiento de un microorganismo en sitios localizados.

28.8 Virulencia

La virulencia es la capacidad relativa de un patógeno para causar enfermedad. En este apartado estudiaremos algunos métodos básicos para medir la virulencia, y a continuación, proporcionaremos ejemplos específicos de microorganismos especialmente virulentos, mencionando las propiedades que potencian la virulencia de dichos patógenos.

Cuantificación de la virulencia

La virulencia de un patógeno se puede estimar a partir de estudios experimentales de la DL_{50} (dosis letal$_{50}$), la dosis de un agente que mata al 50% de los animales de

experimentación. Los patógenos que son muy virulentos normalmente presentan pocas diferencias entre las dosis que se necesitan para matar al 100% y al 50% de los animales, respectivamente. Esto se ilustra en la **Figura 28.16**, que muestra la infección de ratones por *Streptococcus* y *Salmonella*. Se necesitan muy pocas células de cepas virulentas de *Streptococcus pneumoniae* para establecer una infección letal que mate a todos los ratones de un grupo de experimentación. De hecho, la DL_{50} para *Streptococcus pneumoniae* es difícil de determinar en ratones, porque se necesitan muy pocos microorganismos de esta especie para producir una infección letal. Por el contrario, un patógeno mucho menos virulento como es la *Salmonella typhimurium* presenta una DL_{50} mucho mayor: de hecho, el número de células de *Salmonella typhimurium* necesarias para matar al 100% de la población es más de 100 veces mayor que el número de células que se necesita para alcanzar la DL_{50}.

Cuando los patógenos se mantienen en un cultivo de laboratorio en lugar de ser aislados a partir de animales infectados, su virulencia suele disminuir, e incluso puede llegar a perderse por completo. En tales casos, se dice que los microorganismos están *atenuados*. La **atenuación** probablemente tiene lugar debido a que los mutantes no virulentos o con una virulencia débil crecen más rápido y, tras ser transferidos reiteradamente a un medio fresco, dichos mutantes se van seleccionando favorablemente. La atenuación tiene lugar con más frecuencia cuando las condiciones no son favorables para el patógeno. Si se reinocula un cultivo atenuado en un animal, el microorganismo puede recobrar su virulencia original, pero en muchos casos la pérdida de virulencia es definitiva. La cepas atenuadas se utilizan a menudo para producir vacunas, especialmente vacunas víricas (*véase* Sección 30.5). Las vacunas de las paperas, el sarampión y la rubéola, por ejemplo, se componen de virus atenuados.

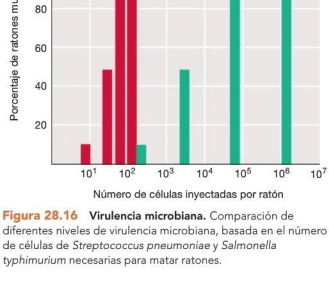


Figura 28.16 Virulencia microbiana. Comparación de diferentes niveles de virulencia microbiana, basada en el número de células de *Streptococcus pneumoniae* y *Salmonella typhimurium* necesarias para matar ratones.

Toxicidad e invasividad

La virulencia está causada por la capacidad del patógeno de producir daño en el hospedador a través de la toxicidad y la invasividad. Todos los patógenos utilizan estas propiedades para causar enfermedad.

La **toxicidad** es la capacidad de un microorganismo para causar enfermedad mediante una toxina ya sintetizada que inhibe las funciones del hospedador o mata las células de éste. Por ejemplo, el tétanos está causado por una exotoxina producida por *Clostridium tetani* (Sección 28.10), un patógeno que raramente abandona la herida por la que penetró en el cuerpo, y que crece de forma relativamente lenta en el lugar de la herida. Aun así, *Clostridium tetani* es capaz de causar enfermedad porque produce una toxina que se traslada a otras partes del cuerpo, e inicia una contracción muscular irreversible que habitualmente provoca la muerte del hospedador.

La **invasividad** es la capacidad de un patógeno para crecer en los tejidos del hospedador en cantidades tan grandes, que inhiben las funciones del hospedador. Un microorganismo puede ser capaz de producir enfermedad mediante la invasividad aunque no produzca toxinas. Por ejemplo, el principal factor de virulencia de *Streptococcus pneumoniae* es la cápsula de polisacárido que impide la fagocitosis de las cepas patógenas (*véase* Figura 34.3), derrotando así al principal mecanismo de defensa utilizado por el hospedador para prevenir la invasión. Las cepas capsuladas de *Streptococcus pneumoniae* crecen en el tejido pulmonar en grandes cantidades, provocando respuestas por parte del hospedador que conducen a la neumonía, interfieren en la función pulmonar y causan un daño generalizado al hospedador. Las cepas no capsuladas son menos invasivas, y son destruidas de forma rápida y eficaz por los fagocitos o leucocitos, que ingieren y matan las bacterias mediante el proceso llamado *fagocitosis* (*véase* Sección 29.2).

Clostridium tetani y *Streptococcus pneumoniae* son dos ejemplos extremos de toxicidad e invasividad, respectivamente. No obstante, la mayoría de los patógenos se encuentra entre estos dos extremos, y su virulencia consiste en una combinación de toxicidad e invasividad.

Virulencia en *Salmonella*

Las especies de *Salmonella* emplean una mezcla de toxinas, invasividad y otros factores de virulencia para potenciar su patogenicidad (**Figura 28.17**). Existen por lo menos tres toxinas que contribuyen a su virulencia: *enterotoxina*, *endotoxina* y *citotoxina* (**Tabla 28.4**). Más adelante examinaremos con más detalle las enterotoxinas y las endotoxinas. La citotoxina de *Salmonella* inhibe la síntesis de las proteínas, y permite que el calcio escape de la célula hospedadora y mate así a las demás células.

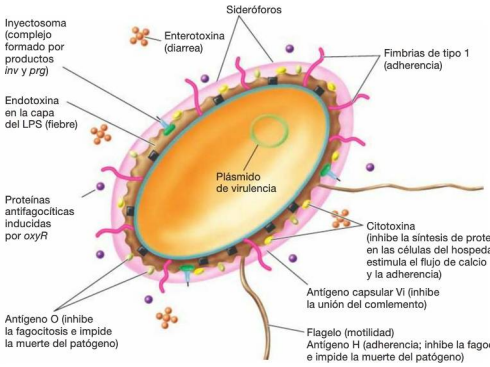


Figura 28.17 **Factores de virulencia en la patogénesis por *Salmonella*.** En la ilustración se muestran los elementos estructurales identificados que son importantes en la patogénesis.

www.medilibros.com

Además, existen numerosos factores de virulencia que contribuyen a la invasividad de *Salmonella*. Como ya hemos mencionado anteriormente, muchos patógenos, entre los que se encuentra *Salmonella*, producen sideróforos quelantes del hierro que sustraen el hierro necesario para el crecimiento del microorganismo. El antígeno polisacárido O (*véase* Figura 4.22), el antígeno flagelar H y las fimbrias potencian la adherencia del patógeno. El polisacárido capsular Vi inhibe la unión del complemento y la muerte por anticuerpos (*véase* Sección 29.11). Los genes *inv* (de invasión) de *Salmonella* codifican por lo menos diez proteínas diferentes que promueven la invasión. Por ejemplo, *invH* codifica una adhesina de superficie, mientras que otros genes *inv* codifican proteínas importantes para el tráfico de proteínas de virulencia. La proteína reguladora InvJ controla el ensamblado de las proteínas estructurales InvG, PrgH, PrgI, PrgJ y PrgK, que forman un complejo de inyección denominado *inyectosoma*. Este orgánulo de la envoltura bacteriana permite introducir proteínas de virulencia en las células del hospedador a través de un mecanismo de ensamblaje con forma de aguja.

Las especies de *Salmonella* provocan infecciones con facilidad mediante parasitismo intracelular. Las infecciones por *Salmonella* comienzan con la ingesta y el paso de células bacterianas por el estómago, hasta alcanzar el intestino. Desde aquí, *Salmonella* invade y replica en el interior de las células que tapizan el intestino, y en los fagocitos denominados *macrófagos*. Los genes que inician el proceso de invasión se encuentran en la isla de patogenicidad-1 (SPI-1) cromosómica de *Salmonella*. Al igual que otras islas de patogenicidad, SPI-1 es un conjunto de genes de virulencia flanqueados por secuencias que sugieren un elemento genético móvil, también llamado transposón. Otra isla de patogenicidad de *Salmonella* diferente, SPI-2, contiene genes causantes de enfermedad sistémica (*véase* Sección 13.12).

Las especies patógenas de *Salmonella* también tienen otros factores de virulencia. Por ejemplo, los productos de oxígeno tóxicos producidos por los macrófagos del hospedador como mecanismo de defensa antibacteriano pueden ser neutralizados por las proteínas codificadas por el gen *oxyR* de *Salmonella*. Además, las moléculas antibacterianas producidas por los macrófagos, denominadas *defensinas*, pueden ser neutralizadas por los productos de los genes *phoP* y *phoQ*. Así pues, los productos de los genes *oxy* y *pho* potencian la patogenicidad de *Salmonella* promoviendo la invasión intracelular y neutralizando los mecanismos de defensa del hospedador que normalmente inhiben el crecimiento bacteriano intracelular.

Por último, se pueden encontrar diversos plásmidos de virulencia en la mayoría de especies de *Salmonella* y en otras enterobacterias. Por ejemplo, la resistencia a los antibióticos está codificada en un plásmido R (*véase* Sección 11.3). Así pues, tanto *Salmonella* como la mayoría de los otros patógenos utilizan una gran variedad de factores y mecanismos de virulencia y patogénesis.

Tabla 28.4 Exotoxinas y factores de virulencia extracelulares producidos por microorganismos patógenos para el ser humano.

Microorganismo	*Enfermedad*	*Toxina o factor*[a]	*Acción*
Bacillus anthracis	Carbunco	Factor letal (FL) Factor de edema (FE) Antígeno protector (AP) (AB)	AP induce la unión del factor B, FE causa edema y FL causa muerte celular
Bacillus cereus	Intoxicación alimentaria	Compuesto de enterotoxinas	Induce pérdida de líquidos de las células intestinales
Bordetella pertussis	Tos ferina	Toxina pertusis (AB)	Bloquea la señal de transducción de la proteína G, mata células
Clostridium botulinum	Botulismo	Neurotoxina (AB)	Parálisis flácida (Figura 28.21)
Clostridium tetani	Tétanos	Neurotoxina (AB)	Parálisis espástica (Figura 28.22)
Clostridium perfringens	Gangrena gaseosa, intoxicación alimentaria	α-Toxina (TC) β-Toxina (TC) γ-Toxina (TC) δ-Toxina (TC) κ-Toxina (E) λ-Toxina (E) Enterotoxina (TC)	Hemólisis (lecitinasa, Figura 28.18b) Hemólisis Hemólisis Hemólisis (cardiotoxina) Colagenasa Proteasa Altera la permeabilidad del epitelio intestinal
Corynebacterium diphtheriae	Difteria	Toxina diftérica (AB)	Inhibe la síntesis de proteínas en eucariotas (Figura 28.20)
Escherichia coli (sólo cepas enterotoxigénicas)	Gastroenteritis	Enterotoxina (toxina tipo Shiga) (AB)	Induce la pérdida de líquidos de las células intestinales
Haemophilus ducreyi	Chancro blando	Toxina de distensión citoletal[b] (CDT) (AB)	Genotoxina (las lesiones del DNA causan apoptosis en las células del hospedador)
Pseudomonas aeruginosa	Infecciones por *P. aeruginosa*	Exotoxina A (AB)	Inhibe la síntesis de proteínas
Salmonella spp.	Salmonelosis, fiebre tifoidea, fiebre paratifoidea	Enterotoxina (AB) Cytotoxin (CT)	Inhibe la síntesis de proteínas, lisa células del hospedador Induce la pérdida de líquidos de las células intestinales
Shigella dysenteriae	Disentería bacteriana	Toxina Shiga (AB)	Inhibe la síntesis de proteínas
Staphylococcus aureus	Infecciones piógenas (formadoras de pus) como furúnculos, etc., infecciones respiratorias, intoxicación alimentaria, síndrome del shock tóxico, síndrome de piel escaldada	α-Toxina (TC) Toxina del síndrome del shock tóxico (SA) Toxinas exfoliantes A y B (SA) Leucocidina (TC) β-Toxina (TC) γ-Toxina (TC) δ-Toxina (TC) Enterotoxinas A, B, C, D y E (SA) Coagulasa (E)	Hemólisis Shock sistémico Descamación de la piel, shock Destruye leucocitos Hemólisis Mata células Hemólisis, leucolisis Induce vómitos, diarrea, choque Induce la coagulación de la fibrina
Streptococcus pyogenes	Infecciones piógenas, amigdalitis, escarlatina	Estreptolisina O (TC) Estreptolisina S (TC) Toxina eritrogénica (SA) Estreptoquinasa (E) Hialuronidasa (E)	Hemolisina Hemolisina (Figura 28.18a) Causa escarlatina Disuelve los coágulos de fibrina Disuelve el ácido hialurónico en el tejido conectivo
Vibrio cholerae	Cólera	Enterotoxina (AB)	Induce la pérdida de líquidos de las células intestinales (Figura 28.23)

[a] AB, toxina A-B; TC, toxina citolítica; E, factor de virulencia enzimático; SA, toxina superantígenos.
[b] La toxina de distensión citoletal se encuentra en otros patógenos gramnegativos como *Actinobacillus actinomycetemocomitans, Campylobacter* sp., *Escherichia coli, Helicobacter* sp., *Salmonella typhi* y *Shigella dysenteriae*.

www.medilibros.com

28.8 Minirrevisión

La virulencia está determinada por la invasividad y la toxicidad de un patógeno. En la mayoría de patógenos, numerosos mecanismos y factores contribuyen a potenciar su virulencia. La atenuación es la pérdida de la virulencia. *Salmonella* posee diversos factores que potencian su virulencia.

- Explique la diferencia entre *toxicidad* e *invasividad*. Aporte ejemplos de organismos cuya virulencia se base casi exclusivamente en la toxicidad o en la invasividad.
- En el caso de *Salmonella*, identifique los genes estructurales responsables de su virulencia y relaciónelos con las propiedades tóxicas o invasivas del patógeno.

III FACTORES DE VIRULENCIA Y TOXINAS

Las cápsulas extracelulares, la capa mucosa, la pared celular, el material de la envoltura, las fimbrias y los *pili* son componentes macromoleculares integrales de los microorganismos que pueden contribuir a la patogénesis y actuar como factores de virulencia. Pero, además de dichos componentes, existen numerosos factores microbianos intracelulares y extracelulares cuya única función es la de actuar como factores de virulencia. Aunque estos factores de virulencia especializados son producidos por una gran variedad de patógenos, muchos de ellos tienen características moleculares y mecanismos de acción similares. En esta sección examinaremos algunos de los principales factores de virulencia.

28.9 Factores de virulencia

Como veremos en las siguientes secciones, existen numerosos patógenos que producen toxinas. Otros factores de virulencia son también las enzimas, que potencian la colonización y el crecimiento del patógeno. Por ejemplo, los estreptococos, estafilococos y algunos clostridios producen hialuronidasa (Tabla 28.4), una enzima que promueve la difusión de los microorganismos en los tejidos mediante la rotura del ácido hialurónico, un polisacárido que actúa como un cemento tisular en animales. La hialuronidasa digiere la matriz intercelular, y permite así que estos microorganismos se diseminen desde el foco de infección inicial. Los estreptococos y estafilococos también producen proteasas, nucleasas y lipasas que degradan las proteínas, los ácidos nucleicos y los lípidos del hospedador, respectivamente. Asimismo, los clostridios que causan gangrena gaseosa producen colagenasa, o κ-toxina (Tabla 28.4), que rompe la red de colágeno que sustenta a los tejidos, permitiendo así que los microorganismos se diseminen por todo el cuerpo.

Fibrina, coágulos y virulencia

La fibrina es una proteína que actúa en la coagulación de la sangre. A menudo, el hospedador genera coágulos de fibrina en el sitio de invasión microbiana: así, el mecanismo de coagulación desencadenado por el daño tisular aísla los patógenos, limitando de este modo la infección a una zona concreta. Algunos patógenos contrarrestan este proceso produciendo enzimas fibrinolíticas que disuelven los coágulos y posibilitan la invasión de más tejidos. Una de estas sustancias fibrinolíticas es la *estreptoquinasa*, producida por *Streptococcus pyogenes* (Tabla 28.4).

Por el contrario, otros patógenos producen enzimas que estimulan la formación de coágulos de fibrina, ya que dichos coágulos localizan y protegen el microorganismo. La enzima de este tipo mejor estudiada es la *coagulasa* (Tabla 28.4), producida por el patógeno *Staphylococcus aureus*. La coagulasa hace que la fibrina se deposite sobre las células de *Staphylococcus aureus*, protegiéndolas del ataque de las células del hospedador. La matriz de fibrina formada como resultado de la acción de la coagulasa probablemente podría explicar la localización de muchas infecciones estafilocócicas, como furúnculos y granos (*véase* Figura 34.24). Las cepas de *Staphylococcus aureus* productoras de coagulasa suelen ser más virulentas que las cepas del mismo patógeno que no producen coagulasa.

28.9 Minirrevisión

Los patógenos producen enzimas que potencian su virulencia mediante la rotura o alteración de los tejidos del hospedador, logrando acceder así a otros tejidos y a los nutrientes. Otros factores de virulencia protegen al patógeno interfiriendo con los mecanismos de defensa habituales del hospedador. Estos factores promueven la colonización y el crecimiento del patógeno.

- ¿Qué ventaja supone para un patógeno el producir enzimas que digieren los componentes estructurales de los tejidos del hospedador?
- ¿Qué mecanismo utiliza la estreptoquinasa para potenciar la virulencia de *Streptococcus pyogenes*? ¿Qué mecanismo utiliza la coagulasa para potenciar la virulencia de *Streptococcus aureus*?

28.10 Las exotinas

Las **exotoxinas** son proteínas tóxicas que va liberando el patógeno a medida que crece. Estas toxinas viajan desde el foco de infección y causan daño en zonas muy distantes del lugar de crecimiento microbiano. La Tabla 28.4

resume las propiedades y la acción de algunas exotoxinas conocidas y de otros factores de virulencia extracelular.

Las exotoxinas se dividen en tres categorías: las *toxinas citolíticas*, las *toxinas A-B* y las *toxinas superantígenos*. Las toxinas citolíticas degradan la integridad de la membrana citoplasmática, provocando lisis celular. Las toxinas A-B están compuestas por dos subunidades, A y B. El elemento B generalmente se une a un receptor celular del hospedador, permitiendo que la subunidad A atraviese la membrana de la célula diana y la dañe. Los superantígenos estimulan grandes cantidades de células inmunes, provocando una inflamación generalizada y daño tisular, como veremos más adelante (*véase* Sección 30.8).

Las toxinas citolíticas

Varios patógenos sintetizan proteínas que dañan la membrana citoplasmática del hospedador, lisan las células y, finalmente, provocan la muerte celular. Dado que la acción de estas toxinas se puede observar con más facilidad en ensayos realizados con glóbulos rojos (eritrocitos), estas toxinas son conocidas con el nombre de *hemolisinas* (Tabla 28.4). No obstante, las hemolisinas también lisan otras células además de los eritrocitos. La producción de hemolisina se puede demostrar en el laboratorio haciendo una siembra en estría del patógeno en una placa de agar sangre, un medio rico que contiene un 5% de sangre total. Durante el crecimiento de las colonias, los patógenos liberan hemolisina y producen la lisis de los eritrocitos circundantes, que liberan hemoglobina y originan una zona clara, en un proceso denominado *hemólisis* (**Figura 28.18**).

Algunas hemolisinas atacan a los fosfolípidos de la membrana citoplasmática del hospedador. Debido a que el fosfolípido lecitina (fosfatidilcolina) se emplea habitualmente como sustrato, estas enzimas se denominan *lecitinasas* o *fosfolipasas*. Un ejemplo es la α-toxina de *Clostridium perfringens*, una lecitinasa que disuelve los lípidos de la membrana citoplasmática y causa lisis celular (Tabla 28.4, Figura 28.18*b*; *véase* Figura 21.41). Dado que todas las membranas citoplasmáticas de todos los organismos contienen fosfolípidos, las fosfolipasas destruyen, en ocasiones, tanto las membranas citoplasmáticas de bacterias como las de animales.

Sin embargo, algunas hemolisinas no son fosfolipasas. La estreptolisina O, una hemolisina producida por estreptococos, afecta a los esteroles de la membrana citoplasmática del hospedador. Las *leucocidinas* (Tabla 28.4) lisan los leucocitos y pueden provocar una disminución de la resistencia del hospedador (*véase* Sección 29.2).

La α-toxina estafilocócica (**Figura 28.19** y Tabla 28.4) mata las células nucleadas y provoca la lisis de eritrocitos. Las subunidades de esta toxina comienzan uniéndose a la bicapa lipídica. A continuación, las subunidades oligomerizan en heptámeros no líticos, que se asociarán a la membrana. Tras la oligomerización, la morfología de cada heptámero sufre una serie de cambios que dan lugar a la formación de un poro en la membrana. Este poro permite la liberación del contenido de la célula y la entrada de materiales extracelulares, lo cual provoca la alteración de la función celular y, finalmente, la muerte de la célula.

Las toxinas inhibidoras de la síntesis proteica

Existen diversos patógenos productores de exotoxinas A-B que inhiben la síntesis proteica. La toxina diftérica, producida por *Corynebacterium diphtheriae*, es un

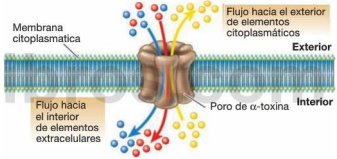


Figura 28.19 **Acción de la α-toxina estafilocócica.** La α-toxina estafilocócica es una citotoxina formadora de poros producida por las células de *Staphylococcus* durante su crecimiento. Liberada inicialmente como un monómero, oligomeriza en siete subunidades proteicas idénticas que se sitúan en la membrana citoplasmática de las células diana. El oligómero forma un poro en la membrana que provoca la liberación de los contenidos de la célula, y permite el flujo al interior de material extracelular y el flujo al exterior de material intracelular. Esto provoca el hinchamiento de las células eucariotas y la lisis posterior. En el caso de los eritrocitos se produce hemólisis, que es un indicador visual de la lisis celular.

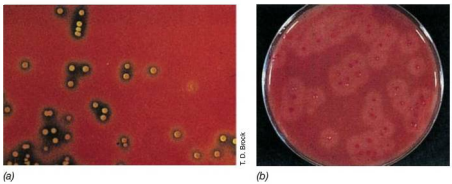


Figura 28.18 **Hemólisis.** *(a)* Zonas de hemólisis alrededor de colonias de *Streptococcus pyogenes* creciendo en una placa de agar sangre. *(b)* Acción de la lecitinasa, una fosfolipasa, alrededor de colonias de *Clostridium perfringens* creciendo en un medio de agar con yema de huevo, una fuente de lecitina. La lecitinasa disuelve la membrana de los eritrocitos, y produce las zonas claras de la hemólisis alrededor de cada colonia.

buen ejemplo de toxina A-B, y constituye un factor de virulencia importante (*véase* Sección 34.3). Las ratas y los ratones son relativamente resistentes a la toxina diftérica, mientras que las células de seres humanos, conejos, cobayas y pájaros son muy susceptibles a ella, ya que sólo se necesita una molécula de la toxina para matar a cada célula. La toxina diftérica es secretada por las células de *Corynebacterium diphtheriae* como un único polipéptido. El fragmento B se une específicamente a un receptor de la célula del hospedador (**Figura 28.20**). Tras la unión, la escisión proteolítica entre los fragmentos A y B permite la entrada del fragmento A en el citoplasma del hospedador. A continuación, el fragmento A interfiere con la síntesis proteica bloqueando la transferencia de un aminoácido desde el RNA de transferencia (tRNA) a la cadena del péptido en crecimiento (*véase* Sección 7.15). La toxina inactiva específicamente al factor de elongación 2, una proteína implicada en el crecimiento de la cadena polipeptídica, al catalizar la fijación de la ribosa del difosfato de adenosina (ADP) del NAD^+. Tras la ADP-ribosilación, la acción del factor 2 de elongación disminuye drásticamente y la síntesis de proteínas se detiene.

La toxina diftérica es producida sólo por cepas de *Corynebacterium diphtheriae* lisogenizadas por un bacteriófago llamado fago β. El gen *tox* del genoma del fago codifica la toxina. Las cepas de *Corynebacterium diphtheriae* no toxigénicas y, por tanto, no patógenas pueden transformarse en cepas patógenas por infección con el fago β en un proceso denominado *conversión fágica* (*véase* Sección 10.10).

La exotoxina A de *Pseudomonas aeruginosa* actúa de manera similar a la toxina diftérica, puesto que también modifica el factor 2 de elongación por ADP-ribosilación (Tabla 28.4). **www.micobiologyplace.com Tutoría online 28.1: Toxina del cólera y toxina diftérica.**

Las toxinas del tétanos y del botulismo

Clostridium tetani y *Clostridium botulinum*, dos bacterias del suelo formadoras de endosporas que ocasionalmente producen enfermedad en animales, producen potentes exotoxinas A-B que afectan a los tejidos nerviosos. Ninguna de estas dos especies es especialmente invasiva, y prácticamente todos sus efectos patogénicos se deben a su neurotoxicidad. En ocasiones, *Clostridium botulinum* crece directamente en el cuerpo y causa botulismo infantil o botulismo por heridas, aunque también puede crecer y producir toxinas en alimentos que están en malas condiciones (*véase* Sección 37.6). La muerte por botulismo se debe generalmente a un fallo respiratorio provocado por una parálisis muscular flácida. Por su parte, *Clostridium tetani* crece en el cuerpo en heridas punzantes profundas que se convierten en anóxicas y, si bien este patógeno no invade el cuerpo a partir del foco inicial de infección, la toxina que produce se puede diseminar a través de las neuronas y provocar parálisis espástica, el

www.medilibros.com

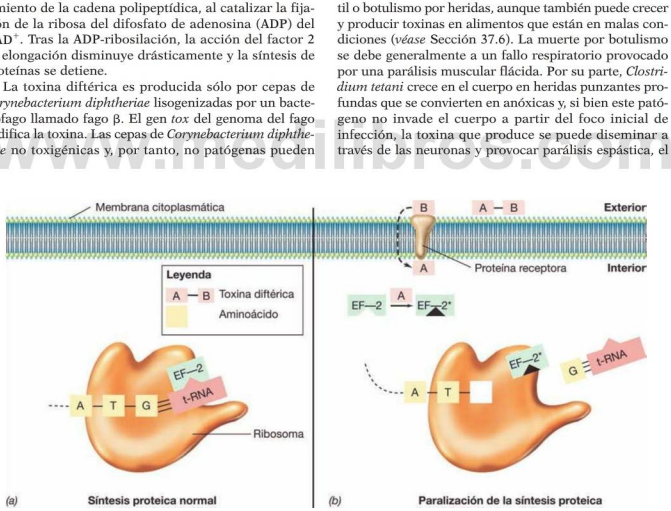


Figura 28.20 **Acción de la toxina diftérica de *Corynebacterium diphtheriae*.** En una célula eucariota normal *(a)*, el factor de elongación 2 (FE-2) se une al ribosoma y le aporta a éste un tRNA cargado de aminoácidos, lo cual provoca la elongación de la proteína. En una célula infectada por la toxina A-B diftérica *(b)*, la toxina se une a la proteína receptora de la membrana citoplasmática mediante el fragmento B. A continuación, se produce una escisión entre los elementos A y B de la toxina, y el péptido A entra en el citoplasma. El péptido A cataliza la ADP-ribosilación del factor de elongación 2 (FE-2*). Este factor de elongación modificado ya no se puede unir al ribosoma, ni ayudar a transferir aminoácidos a la cadena polipeptídica que está creciendo. Como consecuencia, la síntesis proteica se interrumpe y la célula muere.

síndrome característico del tétanos que, con frecuencia, termina por causar la muerte (*véase* Sección 35.9).

La toxina botulínica está compuesta por siete toxinas A-B relacionadas que constituyen las toxinas biológicas más potentes que se conocen. Un miligramo de toxina botulínica es suficiente para matar a más de un millón de cobayas. De las siete toxinas botulínicas diferentes descritas, al menos dos de ellas están codificadas por bacteriófagos lisogénicos específicos de *Clostridium botulinum*. La toxina principal es una proteína que forma complejos con proteínas botulínicas no tóxicas para producir un complejo proteínico bioactivo. A continuación, dicho complejo se fija a las membranas presinápticas que hay en los extremos de las neuronas motrices en la unión neuromuscular, bloqueando así la liberación de acetilcolina. La transmisión del impulso nervioso al músculo requiere la interacción de la acetilcolina con un receptor muscular, y la toxina botulínica impide que el músculo envenenado reciba el estímulo (**Figura 28.21**). Esto impide que se produzca la contracción muscular y provoca la parálisis flácida y la muerte por asfixia, resultado del botulismo.

La toxina tetánica tambien es una neurotoxina proteica A-B. Al entrar en contacto con el sistema nervioso central, esta toxina viaja a través de las neuronas motrices hasta alcanzar la médula espinal, donde se une específicamente a los lípidos gangliósidos que se encuentran en el extremo de las interneuronas inhibidoras. Las interneuronas inhibidoras suelen actuar liberando un neurotransmisor inhibidor, generalmente el aminoácido glicina, que se une a los receptores de las neuronas motrices. Normalmente, la glicina de las interneuronas inhibidoras detiene la liberación de acetilcolina por parte de las neuronas motrices e inhibe la contracción muscular, permitiendo la relajación de las fibras musculares. Sin embargo, si la toxina tetánica bloquea la liberación de glicina, las neuronas motrices no pueden ser inhibidas, lo cual provoca el tétanos, la liberación constante de acetilcolina y la contracción incontrolada de los músculos envenenados (**Figura 28.22**). El resultado es una parálisis espástica, convulsiva, y una contracción permanente de los músculos afectados. Si los músculos de la boca se ven afectados, el espasmo prolongado limita el movimiento de la boca dando lugar a un cuadro conocido como *trismo* o *mandíbula cerrada*. Si se ven afectados los músculos respiratorios, la contracción muscular prolongada puede producir la muerte por asfixia.

Tanto la toxina tetánica como la toxina botulínica bloquean la liberación de neurotransmisores implicados en el control muscular, pero los síntomas de cada enfermedad son muy distintos y dependen de los neurotransmisores que se vean afectados.

www.medilibros.com

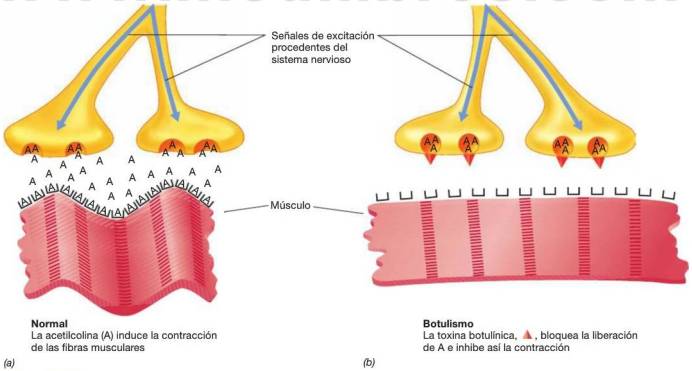


Figura 28.21 **Acción de la toxina botulínica de *Clostridium botulinum*.** *(a)* Mediante la estimulación de los nervios periférico y craneal, las vesículas que se encuentran en la placa neuromotriz liberan acetilcolina (A). La acetilcolina se une entonces a receptores específicos del músculo, induciendo la contracción. *(b)* La toxina botulínica actúa en la placa motriz impidiendo la liberación de acetilcolina (A) de las vesículas. Esto provoca una falta de estímulo de las fibras musculares, la relajación irreversible de los músculos y la parálisis flácida.

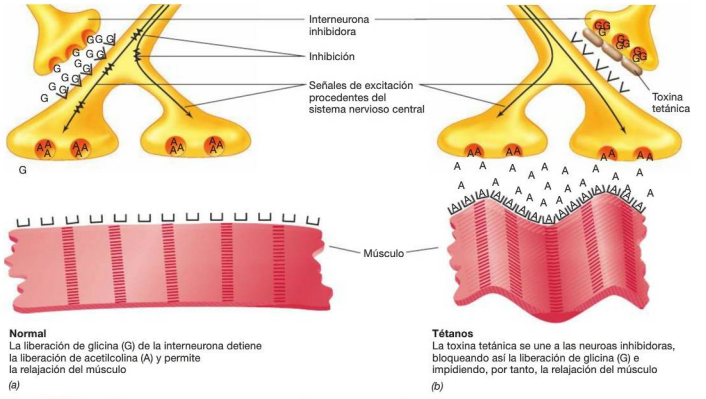


Figura 28.22 **Acción de la toxina tetánica de *Clostridium tetani*.** *(a)* La glicina (G) liberada por las interneuronas inhibitorias induce la relajación del músculo. La glicina actúa sobre las neuronas motrices bloqueando la excitación y la liberación de acetilcolina (A) en la placa motriz. *(b)* La toxina tetánica se une a la interneurona para impedir la liberación de glicina de las vesículas, lo cual provoca una ausencia de señales inhibitorias en las neuronas motrices, una liberación constante de acetilcolina a las fibras musculares, la contracción irreversible de los músculos y la parálisis espástica.

28.10 Minirrevisión

Las exotoxinas contribuyen a la virulencia de los patógenos. Las citotoxinas y las toxinas A-B son exotoxinas muy potentes producidas por microorganismos. Cada exotoxina ataca a una función específica de la célula del hospedador. Entre las exotoxinas bacterianas se encuentran algunas de las toxinas biológicas más potentes que se conocen.

- ¿Qué características fundamentales comparten todas las exotoxinas? ¿Qué características son exclusivas de las exotoxinas A-B?
- ¿Es necesario que las bacterias crezcan y provoquen una infección en el hospedador para que se produzcan las toxinas? Explique y aporte ejemplos de su respuesta.

28.11 Las enterotoxinas

Las **enterotoxinas** son exotoxinas cuya acción afecta al intestino delgado, causando generalmente una secreción masiva de líquidos en la luz intestinal que provoca vómitos y diarrea. Las enterotoxinas normalmente se adquieren por la ingesta de alimentos o agua contaminados, y son producidas por distintas bacterias, tales como los organismos de la intoxicación alimentaria *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* y *Bacillus cereus*, y los patógenos intestinales *Vibrio cholerae*, *Escherichia coli* y *Salmonella enteritidis*.

La toxina del cólera

La enterotoxina producida por *Vibrio cholerae*, el microorganismo causante del cólera (*véase* Sección 36.5), es la toxina mejor estudiada. El cólera se caracteriza por una pérdida de líquidos masiva a través del intestino, lo cual provoca una diarrea aguda que da lugar a deshidratación y pérdida de electrolitos, y pone en peligro la vida del hospedador. La enfermedad comienza con la ingesta de alimentos o agua contaminados con *Vibrio cholerae*. Este microorganismo se desplaza al intestino, donde coloniza y comienza a secretar la toxina colérica. La toxina del cólera es una toxina A-B que contiene una subunidad A y cinco subunidades B. En el intestino, la subunidad B se une específicamente al ganglиósido GM1, un glicolípido complejo presente en la membrana citoplasmática de las células epiteliales del intestino (**Figura 28.23**). La subunidad B une la toxina específicamente al epitelio intestinal,

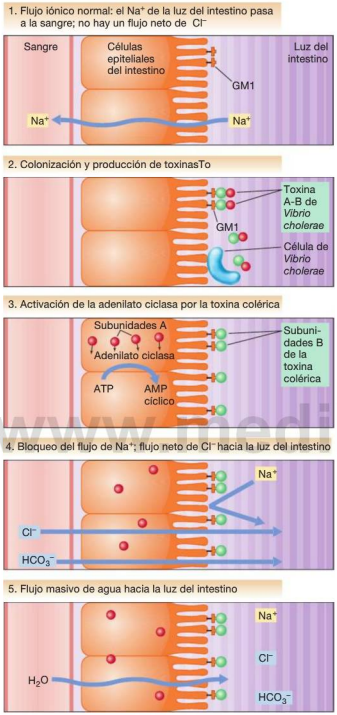


Figura 28.23 **Acción de la enterotoxina del cólera.** La toxina del cólera es una enterotoxina A-B termoestable que activa una ruta mensajera secundaria, alterando el flujo iónico normal del intestino. (1) Flujo iónico normal en el intestino. (2) Adherencia y colonización de las microvellosidades intestinales por *Vibrio cholerae*, seguida de la producción y unión de la enterotoxina A-B por interacción con el ganglIósido GM1 en las células del hospedador. Las subunidades B (en color verde) de la toxina A-B se unen a GM1, permitiendo la penetración de la subunidad A (en color rojo) en el interior de la célula. (3) La subunidad A internalizada activa la adenilato ciclasa, (4) y se produce el bloqueo del flujo normal de sodio (Na^+) hacia el interior. (5) El bloqueo del flujo de sodio causa la pérdida masiva de agua hacia la luz del intestino, lo cual provoca una intensa diarrea. El tratamiento del cólera se basa en la reposicion de iones y la rehidratación. El tratamiento antibiótico puede acortar la enfermedad, al limitar el crecimiento de *Vibrio cholerae*, pero no tiene efecto en la toxina ya liberada.

pero esta subunidad por sí misma no causa ninguna alteración en la permeabilidad de la membrana. En realidad, la acción tóxica corresponde a la cadena A, que atraviesa la membrana celular y activa la adenilato ciclasa, una enzima que convierte el trifosfato de adenosina (ATP) en monofosfato de adenosina cíclico (AMPc).

Como ya vimos en la Sección 9.9, el AMP cíclico es un mediador de diversos sistemas reguladores en las células, entre los que se incluye el equilibrio iónico. El incremento de los niveles de AMP cíclico provocado por la enterotoxina del cólera lleva consigo la secreción en la luz del intestino de iones cloruro y bicarbonato procedentes de las células mucosas. Este cambio en las concentraciones de iones provoca la secreción de grandes cantidades de agua en la luz del intestino (Figura 28.23). En la fase aguda del cólera, la cantidad de agua que se pierde en el intestino delgado es mayor que la cantidad de agua que puede reabsorber el intestino grueso; de ahí que se produzca una pérdida de líquidos masiva. El tratamiento del cólera consiste en la administración por vía oral de soluciones que contienen electrolitos y otros solutos para contrarrestar la deshidratación provocada por el desequilibrio iónico.

La expresión de los genes *ctxA* y *ctxB* de la enterotoxina del cólera está controlada por *toxR*. El producto del gen *toxR* es una proteína transmembrana que, además de controlar la producción de las cadenas A y B de la toxina colérica, controla otros factores de virulencia, como las proteínas y *pili* de la membrana externa responsables de la fijación y colonización de *Vibrio cholerae* en el intestino delgado.

Otras enterotoxinas

Las enterotoxinas producidas por *Escherichia* y *Salmonella* enterotoxigénicas tienen funciones, estructuras y evoluciones similares a las de la toxina del cólera. Estas toxinas también son producidas en el intestino por bacterias colonizadoras. Sin embargo, las enterotoxinas producidas por algunas bacterias responsables de la intoxicación alimentaria (*Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* y *Bacillus cereus*) tienen mecanismos de acción bastante diferentes, y se suelen ingerir como toxinas ya sintetizadas producidas a partir del crecimiento bacteriano en alimentos contaminados, haciendo innecesario el crecimiento del patógeno en el hospedador. La enterotoxina de *Clostridium perfringens* es una citotoxina, mientras que la enterotoxina de *Staphylococcus aureus* es una toxina superantí-

www.medi

genos (Tabla 28.4). Los superantígenos tienen un mecanismo de acción completamente diferente, ya que estimulan un gran número de linfocitos y causan respuestas inflamatorias sistémica e intestinal (*véase* Sección 30.8).

La toxina producida por *Shigella dysenteriae*, denominada *toxina Shiga*, y la toxina tipo Shiga producida por la cepa enteropatógena *Escherichia coli* O157:H7 son toxinas A-B inhibidoras de la síntesis proteica. No obstante, el mecanismo de acción de esta clase de toxinas es diferente al de la toxina diftérica tipo A-B (*véase* Sección 34.3): la toxina Shiga y la toxina tipo Shiga matan especfícamente células del intestino delgado, lo cual provoca diarrea sanguinolenta y otros síntomas intestinales relacionados.

28.11 Minirrevisión

Las enterotoxinas son exotoxinas que actúan en el intestino delgado, produciendo cambios en la permeabilidad intestinal que provocan diarrea. Muchos microorganismos enteropatógenos colonizan el intestino delgado y producen enterotoxinas A-B. Las bacterias responsables de la intoxicación alimentaria suelen producir citotoxinas o superantígenos.

- ¿Qué características fundamentales comparten todas las enterotoxinas? ¿Qué características comparten las enterotoxinas A-B?
- Describa la acción de la toxina de *Vibrio cholerae* en el intestino delgado. ¿Por qué provoca una pérdida excesiva de líquidos?

28.12 Las endotoxinas

Muchas bacterias gramnegativas producen lipopolisacáridos tóxicos como parte de la capa externa de su pared celular (*véase* Sección 4.7). Estos lipopolisacáridos se llaman **endotoxinas**. Al contrario que las exotoxinas, que son secretadas por células vivas, las endotoxinas están unidas a la célula y se liberan en grandes cantidades sólo cuando las células se lisan. Las endotoxinas se han estudiado fundamentalmente en los géneros *Escherichia*, *Shigella* y, especialmente, *Salmonella*. En la **Tabla 28.5** se comparan las propiedades de las exotoxinas y de las endotoxinas.

Estructura y función de las endotoxinas

La estructura del lipopolisacárido (LPS) aparece representada en las Figuras 4.22 y 4.23. El lipopolisacárido consta de tres subunidades ligadas por enlace covalente: el polisacárido *O*, distal con respecto a la membrana; un núcleo polisacárido, y el lípido A próximo a la membrana.

Las endotoxinas causan una gran variedad de efectos fisiológicos. El síndrome prácticamente universal causado por la exposición a endotoxinas es la fiebre, puesto que las endotoxinas estimulan en las células del hospedador la liberación de proteínas llamadas *pirógenos endógenos*, que afectan al centro termorregulador del cerebro. Además, las endotoxinas pueden causar diarrea; una rápida disminución en el número de linfocitos, leucocitos y plaquetas, y una inflamación generalizada (*véase* Sección 29.3). Las dosis altas de endotoxinas pueden causar la muerte por choque hemorrágico y necrosis tisular. No obstante, la toxicidad de las endotoxinas es muy inferior a la de las exotoxinas. Por ejemplo, para matar a una población de ratones, la DL_{50} de endotoxina necesaria es de 200 a 400 μg por animal, mientras que la DL_{50} de toxina botulínica es de aproximadamente 25 picogramos (pg) por ratón, ¡diez millones de veces menos!

Algunos estudios indican que el lípido A del lipopolisacárido es el responsable de su toxicidad, mientras que la función principal del polisacárido es hacer que la endotoxina sea hidrosoluble e inmunogénica. Sin embargo, diversos estudios realizados en animales indican que tanto

Tabla 28.5 Propiedades de las exotoxinas y las endotoxinas.

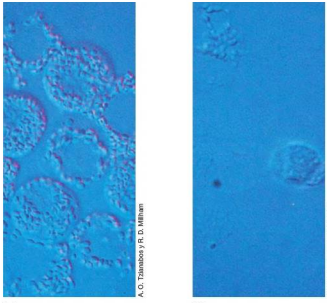
Propiedad	*Exotoxinas*	*Endotoxinas*
Propiedades químicas	Proteínas, excretadas por algunas bacterias grampositivas o gramnegativas; generalmente termolábiles	Complejos lipopolisacárido-lipoproteína, liberados tras la lisis celular como parte de la membrana externa de bacterias gramnegativas; extremadamente termoestables
Mecanismo de acción; síntomas	Específico; generalmente se une a receptores específicos o a estructuras; citotoxina, enterotoxina o neurotoxina con acción específica concreta sobre células o tejidos	General; fiebre, diarrea, vómitos
Toxicidad	Suelen ser muy tóxicas; en ocasiones, letales	Débilmente tóxicas, raramente letales
Inmunogenicidad	Muy inmunogénicas; estimulan la producción de anticuerpos neutralizantes (antitoxinas)	Relativamente poco inmunogénicas; respuesta inmunitaria insuficiente para neutralizar la toxina
Potencial como toxoide	El tratamiento de la toxina con formaldehído destruye su toxicidad, pero la toxina tratada (toxoide) conserva la inmunogenicidad	Ninguna
Potencial pirógeno	No produce fiebre en el hospedador	Pirógenas, suelen producir fiebre en el hospedador

www.medi

el lípido como el polisacárido son necesarios para producir efectos tóxicos.

Prueba del lisado de amebocitos del *Limulus* para detectar endotoxinas

Dado que las endotoxinas son pirógenos, determinados fármacos como los antibióticos o las soluciones intravenosas no deben contener endotoxinas. Se ha desarrollado una prueba para la detección de endotoxinas de sensibilidad muy alta, que consiste en utilizar amebocitos del cangrejo herradura *Limulus polyphemus*. La endotoxina provoca la lisis específica de los amebocitos de este animal (**Figura 28.24**). En la prueba estándar del lisado de amebocitos del *Limulus* (LAL), se mezclan extractos de amebocitos del *Limulus* con la solución que se va a ensayar. Si la endotoxina está presente, el extracto de amebocitos gelifica y precipita, causando un cambio perceptible en la turbidez. Esta reacción puede cuantificarse con un espectrofotómetro, que es capaz de detectar cantidades ínfimas, como 10 pg/ml de lipopolisacárido. La prueba del *Limulus* se utiliza para detectar endotoxinas en muestras clínicas de suero o líquido cefalorraquídeo, entre otras. Un resultado positivo supone una presunta evidencia de infección por bacterias gramnegativas. El agua para beber, y el agua que se emplea en fármacos y soluciones inyectables también se someten de forma rutinaria a la prueba del *Limulus* para detectar y eliminar potenciales fuentes de contaminación por patógenos gramnegativos.



(a) (b)

Figura 28.24 **Amebocitos del *Limulus*.** *(a)* Amebocitos normales del cangrejo herradura, *Limulus polyphemus*. *(b)* Amebocitos del *Limulus* tras la exposición al lipopolisacárido bacteriano. El lipopolisacárido presente en las muestras provoca la desgranulación y la lisis celular.

28.12 Minirrevisión

Las endotoxinas son lipopolisacáridos de la membrana externa de algunas bacterias gramnegativas. Al liberarse tras la lisis celular, las endotoxinas causan fiebre y otros efectos tóxicos sistémicos en el hospedador. Las endotoxinas son en general menos tóxicas que las exotoxinas. La presencia de endotoxinas se puede detectar mediante la prueba del lisado de amebocitos del *Limulus*, y es un indicador de contaminación por bacterias gramnegativas.

- ¿Por qué las bacterias grampositivas no producen endotoxinas?
- ¿Por qué es necesario comprobar la presencia de endotoxinas en el agua que se emplea para elaborar fármacos inyectables?

IV FACTORES DEL HOSPEDADOR EN LA INFECCIÓN

Los factores del hospedador influyen en la patogenicidad de un microorganismo. Algunos factores de riesgo, como los relacionados con la dieta, el estrés y la exposición a patógenos, se pueden controlar. Otros factores de riesgo en el hospedador definidos por la edad o la genética, por ejemplo, no se pueden controlar. Concluiremos este capítulo examinando las defensas pasivas físicas y químicas que emplea la anatomía humana para limitar la infección y la colonización de patógenos. En el capítulo siguiente abordaremos las respuestas activas del hospedador al contacto con patógenos.

UNIDAD 6

28.13 Factores de riesgo de infección en el hospedador

Existen diversos factores que determinan la susceptibilidad del hospedador frente a la infección y la enfermedad. En esta sección presentaremos algunos de los factores que confieren resistencia pasiva frente a las enfermedades infecciosas. El fallo de cualquiera de estos mecanismos puede dar pie a una invasión de patógenos y al inicio de una enfermedad infecciosa.

La edad como factor de riesgo

La edad es un factor importante que determina la susceptibilidad a la enfermedad infecciosa. Las enfermedades infecciosas son más habituales en individuos muy jóvenes y en individuos muy mayores. En los bebés, por ejemplo, el desarrollo de la microbiota normal del intestino se produce muy rápido, pero la microbiota de un bebé no es la misma que la de un individuo adulto. Antes de que se desarrolle la microbiota normal de adulto y, especialmente, en los

días inmediatamente posteriores al nacimiento del bebé, los patógenos disponen de una gran oportunidad para establecerse y producir enfermedades. Así pues, los bebés menores de 1 año suelen adquirir diarrea causada por cepas enteropatógenas de *Escherichia coli* o virus como Rotavirus (*véanse* Secciones 37.8 y 37.11).

El botulismo infantil es el resultado de una infección intestinal por *Clostridium botulinum* (*véase* Sección 37.6). A medida que el patógeno coloniza el intestino y crece, va segregando la toxina botulínica causante de parálisis flácida (Sección 28.10). El botulismo infantil, que se contrae por la ingesta de material del suelo, de aire o de alimentos contaminados como la miel cruda, se presenta casi exclusivamente en bebés menores de 1 año, presuntamente debido a que el establecimiento de la microbiota normal del intestino en individuos mayores impide la colonización por *Clostridium botulinum*.

En individuos mayores de 65 años, las enfermedades infecciosas son mucho más comunes que en individuos más jóvenes. Por ejemplo, las personas mayores son mucho más susceptibles a las infecciones respiratorias, especialmente a la gripe (*véase* Sección 34.9), y esto probablemente se deba a una menor capacidad para presentar una respuesta inmunitaria eficaz frente a los patógenos respiratorios.

Los cambios anatómicos asociados con el envejecimiento también pueden favorecer la infección. El aumento de tamaño de la próstata, una dolencia habitual en los hombres mayores de 50 años, suele causar una disminución de la micción. Esto permite a los patógenos colonizar el tracto urinario masculino con facilidad, lo que conlleva un aumento de estas infecciones en los varones mayores de 50 años (Figura 28.11).

El estrés y la dieta como factores de riesgo

El estrés puede presdisponer a la enfermedad a las personas normalmente sanas. En estudios realizados con ratas y ratones, factores de estrés tales como la fatiga, el agotamiento, una mala dieta, la deshidratación o cambios climáticos drásticos incrementan la incidencia y gravedad de las enfermedades infecciosas. Por ejemplo, las ratas sometidas a una intensa actividad física durante largos períodos de tiempo muestran una tasa de mortalidad más elevada debida a las infecciones experimentales con *Salmonella* que los animales control en reposo. Las hormonas que se producen en situaciones de estrés pueden inhibir las respuestas inmunitarias normales, y desempeñar un papel importante en la enfermedad mediada por el estrés. Por ejemplo, el cortisol, una hormona producida en grandes cantidades por el cuerpo en momentos de estrés, es un agente antiinflamatorio que inhibe la activación de la respuesta inmunitaria.

La dieta también influye en la susceptibilidad a la infección. Las dietas inadecuadas pobres en proteínas y calorías alteran la microbiota normal, y permiten a los patógenos oportunistas multiplicarse e incrementar la susceptibilidad del hospedador a los patógenos conocidos. Por ejemplo, el número de células de *Vibrio cholerae* que se requiere para producir cólera en un individuo expuesto al patógeno se reduce drásticamente si el individuo está malnutrido. El consumo de alimentos contaminados es un método obvio de contraer infecciones, y la ingesta de patógenos con los alimentos en ocasiones puede potenciar la patogenicidad del microorganismo. El número de microorganismos que se requiere para provocar el cólera, por ejemplo, se reduce enormemente cuando se ingiere *Vibrio cholerae* con los alimentos; esto se debe supuestamente a que los alimentos neutralizan los ácidos del estómago que normalmente destruirían al patógeno cuando éste tratara de colonizar el intestino delgado.

En algunos casos, la ausencia de una sustancia alimentaria concreta puede prevenir la enfermedad, al verse privado el patógeno de nutrientes fundamentales. El mejor ejemplo de esto es el efecto que tiene la sacarosa en el desarrollo de la caries dental. Como ya vimos en la Sección 28.3, el consumo restringido de sacarosa, junto con una buena higiene bucal, puede eliminar prácticamente el deterioro dental. En ausencia de sacarosa, las bacterias altamente cariogénicas *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus* son incapaces de sintetizar la capa de dextrano que se necesita para mantener las células bacterianas fijadas a los dientes.

El hospedador comprometido

Un hospedador comprometido es aquél en el que uno o más mecanismos de defensa están inactivados y en el que, por tanto, existe una mayor probabilidad de infección. Muchos pacientes de hospitales que padecen enfermedades no infecciosas —como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares— suelen adquirir infecciones microbianas porque son hospedadores comprometidos (*véase* Sección 33.7). Estas infecciones asociadas a hospitales se denominan **infecciones nosocomiales**, y afectan a cerca de 2 millones de individuos cada año en los Estados Unidos, llegando a causar 100.000 muertes anuales. Algunas técnicas hospitalarias, como el cateterismo, la inyección hipodérmica, la punción lumbar, la biopsia y la cirugía, pueden introducir microorganismos en el paciente de forma involuntaria. El estrés de la cirugía, y los fármacos antiinflamatorios que se administran para reducir el dolor y la hinchazón son factores que también pueden disminuir la resistencia de la o el paciente a las infecciones. Además, en las técnicas de trasplante de órganos se utilizan fármacos inmunosupresores para prevenir el rechazo del trasplante, lo cual aumenta enormemente la susceptibilidad del hospedador a las infecciones.

Existen otros factores que pueden comprometer la resistencia del hospedador, incluso fuera del hospital. El hábito de fumar, el consumo excesivo de alcohol, el consumo de drogas por vía intravenosa, la falta de sueño, una nutrición inadecuada, y una infección aguda o crónica causada por otro microorganismo son situaciones que comprometen la resistencia de un hospedador. Por ejemplo, la infección por el virus de la inmunodeficiencia hu-

mana (VIH) predispone al hospedador a adquirir infecciones causadas por microorganismos que no serían patógenos para un individuo sano. El VIH causa el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) al destruir un tipo de células del sistema inmunitario, los linfocitos T CD4, que está implicado en la respuesta inmunitaria. La reducción de linfocitos T CD4 disminuye la resistencia del hospedador, y un microorganismo oportunista que no causaría enfermedad en un hospedador normal puede causar graves enfermedades, e incluso la muerte, a un hospedador comprometido (*véanse* Secciones 33.6 y 34.15).

Por último, existen determinadas enfermedades genéticas que pueden comprometer al hospedador. Éste es el caso de las enfermedades genéticas que aniquilan partes importantes del sistema inmunitario, y predisponen así a los individuos a padecer infecciones. Los individuos que padecen dichas enfermedades mueren habitualmente a edad temprana, debido a infecciones microbianas más que a la enfermedad genética en sí.

28.13 Minirrevisión

La edad, el estado de salud general, una enfermedad anterior o simultánea, la herencia genética y factores como el estrés o la dieta contribuyen a aumentar la susceptibilidad del hospedador a enfermedades infecciosas.

- Identifique los factores que controlan la susceptibilidad al botulismo en los bebés y compárelos con los de los individuos adultos.
- Identifique los factores que influyen en la susceptibilidad a la infección y que pueden ser controlados por el hospedador.

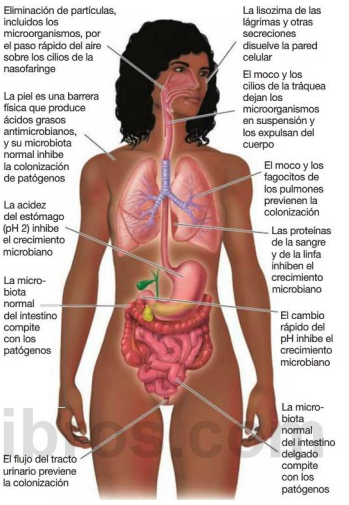


Figura 28.25 Barreras físicas, químicas y anatómicas para detener la infección. Estas barreras proporcionan resistencia natural a la colonización e infección de los patógenos.

www.medilibros.com

28.14 Resistencia innata a la infección

Los hospedadores poseen factores de resistencia innatos para hacer frente a la mayor parte de los patógenos. Muchos patógenos están adaptados para infectar sólo a determinados hospedadores, e incluso los hospedadores de especies estrechamente relacionadas que presentan alteraciones en sus receptores de patógenos o en su metabolismo pueden resistir las infecciones por cepas individuales de patógenos. Además, los hospedadores vertebrados comparten una serie de defensas físicas y químicas inespecíficas que inhiben las invasiones provocadas por la mayoría de los patógenos (**Figura 28.25** y **Tabla 28.6**).

Resistencia natural del hospedador

En determinadas circunstancias, ciertas especies animales que guardan una estrecha relación, e incluso los miembros de una misma especie, pueden presentar distintos grados de susceptibilidad a un mismo patógeno. La capacidad de un determinado patógeno de causar enfermedad en una especie animal es muy variable. En el caso de la rabia, por ejemplo, generalmente se produce la muerte en todas las especies de mamíferos una vez que se han desarrollado los síntomas de la enfermedad. Sin embargo, ciertas especies animales son mucho más susceptibles a la rabia que otras. Los mapaches y las mofetas, por ejemplo, son extremadamente susceptibles a la rabia si se las compara con las zarigüeyas, que raramente adquieren la enfermedad (*véase* Sección 35.1). El microorganismo productor del carbunco infecta a diversos animales, y produce síntomas que van desde pústulas en el ser humano, hasta una intoxicación sanguínea letal en el ganado vacuno. No obstante, el carbunco pulmonar transmitido por el aire, inducido por las cepas que se emplean, por ejemplo, en las armas biológicas (*véanse* Secciones 33.11 y 33.12), resulta casi siempre letal para los seres humanos. Otro ejemplo de resistencia innata en el hospedador es el de las enfermedades de los animales de sangre caliente, que raramente se transmiten a las especies de sangre fría, y viceversa. Supuestamente, las carac-

Tabla 28.6 Especificidad tisular en enfermedades infecciosas.

Enfermedad	*Tejido infectado*	*Organismo*
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)	Linfocitos T colaboradores	Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)
Botulismo	Placa motriz	*Clostridium botulinum*
Cólera	Epitelio del intestino delgado	*Vibrio cholerae*
Caries dental	Epitelo bucal	*Streptococcus mutans, S. sobrinus, S. sanguis, S. mitis*
Difteria	Epitelio faríngeo	*Coryebacterium diphtheriae*
Gonorrea	Epitelio urogenital	*Neisseria gonorrhoeae*
Malaria	Sangre (eritrocitos)	*Plasmodium* spp.
Pielonefritis	Médula renal	*Proteus* spp.
Aborto espontáneo (en ganado vacuno)	Placenta	*Brucella abortus*
Tétanos	Inhibición interneuronal	*Clostridium tetani*

terísticas metabólicas de cada grupo de animales son incompatibles con los patógenos que afectan al otro grupo.

Especificidad tisular

La mayoría de los patógenos debe comenzar por adherirse y colonizar el sitio de exposición. No obstante, si el lugar al que se adhieren los patógenos no es compatible con sus necesidades nutricionales y metabólicas, los microorganismos no pueden colonizar. Por tanto, si se ingiriese *Clostridium tetani*, el tétanos no se desarrollaría porque el patógeno sería destruido, bien por la acidez gástrica o bien por la competencia de la biota normal (microbiota) intestinal. Por otra parte, si las células o endosporas de *Clostridium tetani* se introdujeran en una herida profunda, el microorganismo crecería y produciría la toxina tetánica en las zonas anóxicas originadas por la muerte localizada del tejido. En contraposición, las enterobacterias como *Salmonella* o *Shigella* no producen infecciones de heridas, pero colonizan con éxito el tracto intestinal.

En algunos casos, los patógenos interaccionan exclusivamente con hospedadores de especies muy próximas entre sí, debido a que dichos hospedadores comparten los mismos receptores tisulares específicos. El VIH, por ejemplo, infecta solamente a los primates superiores, como los homínidos y los seres humanos. Esto se debe a que la proteína CXCR4 de los linfocitos T humanos y la proteína CCR5 de los macrófagos humanos se expresan también en los homínidos. Estas proteínas, que son los únicos receptores del VIH de la superficie celular, se unen a la proteína gp120 del virus. Los demás animales carecen de estos receptores, de manera que no pueden unirse al VIH y, por tanto, están protegidos de la infeccion por VIH (*véase* Sección 34.15). La Tabla 28.6 presenta diversos ejemplos de especificidad tisular.

Defensas físicas y químicas

La integridad estructural de las superficies tisulares supone una barrera a la penetración de microorganismos. En los tejidos cutáneos y mucosos, los patógenos potenciales deben adherirse a las superficies tisulares y crecer en estos lugares antes de poder diseminarse por el resto del cuerpo. La resistencia a la colonización e invasión se debe a la producción de sustancias defensivas en el hospedador y a diversos mecanismos anatómicos.

La piel es una barrera eficaz frente a la penetración de microorganismos. Las glándulas sebáceas de la piel (Figura 28.2) secretan ácidos grasos y ácido láctico, que disminuyen la acidez de la piel a pH 5 —la sangre y los órganos internos tienen un valor aproximado de pH 7,4— e inhiben la colonización de numerosas bacterias patógenas. Los microorganismos inhalados a través de la nariz o de la boca son eliminados por las células epiteliales ciliadas que se encuentran en las superficies mucosas de la nasofaringe y la tráquea. Los patógenos potenciales que penetran en el estómago deben sobrevivir a su acidez (pH 2) y, posteriormente, competir con éxito con la biota normal (microbiota) residente, que aumenta progresivamente en el intestino delgado y el intestino grueso. Por último, la luz del riñón, la superficie ocular y algunos tejidos más se encuentran permanentemente bañados por secreciones que contienen lisozimas, un tipo de enzimas que matan las bacterias (*véase* Sección 4.6).

28.14 Minirrevisión

Tanto los factores de resistencia innatos como las defensas físicas, anatómicas y químicas previenen la colonización del hospedador por la mayoría de los patógenos. La rotura de estas defensas pasivas puede aumentar la susceptibilidad del hospedador a la infección y la enfermedad.

- Identifique las defensas físicas y químicas frente a los patógenos. ¿Cómo pueden comprometerse estas defensas?
- ¿Cómo puede comprometer a un hospedador sano la existencia de una infección previa?

Glosario de términos

Atenuación: disminución o pérdida de la virulencia.

Bacteriemia: presencia de microorganismos en la sangre.

Capa mucosa (*slime layer*): capa difusa de fibras de polímeros, generalmente polisacáridos, que rodean la célula.

Cápsula: capa densa y bien definida, de polisacárido o de proteína, que rodea la célula.

Caries dental: deterioro dental causado por una infección bacteriana.

Colonización: crecimiento de un patógeno tras alcanzar éste los tejidos del hospedador.

Endotoxina: fracción del lipopolisacárido de la pared celular de algunas bacterias gramnegativas, que al disolverse actúa como una toxina.

Enfermedad: daño que se produce al hospedador y que afecta a su capacidad funcional.

Enterotoxina: proteína liberada hacia el exterior por un microorganismo durante el crecimiento, y que produce un daño inmediato en el intestino delgado del hospedador.

Exotoxina: proteína liberada hacia el exterior por un microorganismo durante el crecimiento, y que produce un daño inmediato en las células del hospedador.

Hospedador: organismo que alberga un parásito.

Infección: multiplicación de los microorganismos en el hospedador.

Infección nosocomial: infección contraída en una instalación sanitaria u hospital.

Invasividad: patogenicidad causada por la capacidad de un patógeno para introducirse en el hospedador y diseminarse.

Membrana mucosa: capas de células epiteliales que interactúan con el ambiente exterior.

Microbiota normal: microorganismos que se están presentes normalmente en los tejidos sanos del cuerpo.

Moco: glicoproteínas solubles secretadas por las células epiteliales que recubren las membranas mucosas.

Parásito: microorganismo que crece en el interior o en la superficie del hospedador y causa enfermedad.

Patogenicidad: capacidad de un patógeno para producir enfermedad.

Patógeno: microorganismo parásito que causa enfermedad.

Patógeno oportunista: microorganismo que causa enfermedad en ausencia de resistencia normal en el hospedador.

Placa dental: conjunto de células bacterianas incluídas en una matriz de polímeros extracelulares y productos salivares, presente en la superficie dental.

Probiótico: microorganismo vivo que, al administrarse a un hospedador, aporta beneficios a su salud.

Toxicidad: patogenicidad causada por las toxinas que produce un patógeno.

Tracto respiratorio inferior: tráquea, bronquios y pulmones.

Tracto respiratorio superior: nasofaringe, cavidad bucal y garganta.

Virulencia: grado de patogenicidad que es capaz de producir un determinado patógeno.

www.mcgraw-hill.com

Preguntas de repaso

1. ¿Cuál es la diferencia entre un parásito y un patógeno? ¿Cuál es la diferencia entre infección y enfermedad? Identifique las partes del cuerpo humano que, en condiciones normales, se hallan colonizadas por microorganismos. ¿Qué partes del cuerpo se encuentran normalmente desprovistas de microorganismos? ¿Qué tienen en común estas partes del cuerpo (Sección 28.1)?
2. Explique cúal es la diferencia entre los microorganismos residentes y los microorganismos transitorios de la piel. ¿Cómo se pueden distinguir experimentalmente los microorganismos residentes y los transitorios (Sección 28.2)?
3. ¿Por qué los miembros del género *Streptococcus* favorecen la formación de caries dental? ¿Por qué tienen mayor poder cariogénico que otros microorganismos (Sección 28.3)?
4. ¿En qué medida afectan el pH y el oxígeno a los tipos de microorganismos que crecen en cada una de las partes del tracto gastrointestinal (Sección 28.4)?
5. Describa la relación entre *Lactobacillus acidophilus* y el glucógeno de la vagina. ¿Qué factores determinan las diferencias existentes entre la microbiota normal de la vagina de las mujeres adultas y la microbiota vaginal de las mujeres prepúberes (Sección 28.5)?
6. ¿Qué papel desempeñan la cápsula y las fímbrias bacterianas en la adherencia microbiana (Sección 28.6)?
7. ¿Qué factores nutricionales pueden limitar o acelerar el crecimiento de microorganismos en el cuerpo (Sección 28.7)?
8. Cite un ejemplo de microorganismo cuya patogenicidad dependa casi exclusivamente de su capacidad para producir toxinas. Defina la toxina y su mecanismo de acción. Aporte un ejemplo de microorganismo cuya patogenicidad dependa casi exclusivamente de sus características invasivas. ¿Qué factores confieren invasividad a este microorganismo (Sección 28.8)?
9. Explique qué importancia tienen la coagulasa y la estreptoquinasa en la virulencia (Sección 28.9).
10. Distingua entre toxinas A-B, citotoxinas y superantígenos. Aporte un ejemplo de cada tipo de toxina. ¿Cómo promueve cada toxina la enfermedad (Sección 28.10)?
11. Revise el mecanismo de acción de la enterotoxina del cólera (Figura 28.23). ¿Cuál es la terapia adecuada para

esta enfermedad, y por qué no suele ser eficaz el tratamiento con antibióticos (Sección 28.11)?

12. Describa la estructura de una endotoxina típica. ¿Cómo produce fiebre la endotoxina? ¿Qué microorganismos producen endotoxinas (Sección 28.12)?

13. Identifique los factores habituales que comprometen la resistencia del hospedador. Indique cuáles de estos factores pueden ser controlados por el hospedador. Indique qué factores no pueden ser controlados por el hospedador (Sección 28.13).

14. ¿En qué lugares del cuerpo se pueden encontrar valores de pH diferentes a los del resto del cuerpo? ¿Qué microorganismos podrían beneficiarse o ser inhibidos por las diferencias en el pH corporal (Sección 28.14)?

Ejercicios prácticos

1. Las membranas mucosas son barreras frente a la colonización y el crecimiento de los microorganismos. No obstante, las membranas mucosas localizadas, por ejemplo, en la garganta y el intestino, están colonizadas por una gran variedad de microorganismos, algunos de los cuales son patógenos potenciales. Explique cómo se mantienen controlados estos patógenos potenciales en circunstancias normales. Describa por lo menos un conjunto de circunstancias que puedan favorecer la patogenicidad.

2. La terapia con antibióticos puede reducir drásticamente el número de microorganismos que residen en el tracto gastrointestinal. ¿Qué síntomas fisiológicos puede producir en el hospedador la reducción de esta microbiota normal? La terapia antibiótica de larga duración habitualmente va seguida de infecciones por patógenos oportunistas. Muchas de estas infecciones posterapéuticas son causadas por los mismos microorganismos que producen infecciones oportunistas en pacientes de SIDA. ¿Qué patógenos pueden estar implicados? ¿Por qué los individuos que han sido sometidos a tratamiento antibiótico son especialmente susceptibles a estos patógenos?

3. Diseñe un experimento para poder incrementar la virulencia y patogenicidad de *Streptococcus pneumoniae*. (Nota: tras diversas manipulaciones, las colonias de *Streptococcus pneumoniae* que son trasladadas *in vitro* pierden sus cápsulas y, por tanto, la virulencia en ratones.) ¿Podría un incremento de la virulencia en *Streptococcus pneumoniae* determinar una ventaja selectiva para este patógeno? No olvide tener en cuenta el hábitat natural de este microorganismo.

4. La coagulasa es un factor de virulencia de *Staphylococcus aureus* que actúa formando coágulos en el lugar de crecimiento de este patógeno. La estreptoquinasa es un factor de virulencia de *Streptococcus pyogenes* que actúa disolviendo los coágulos formados en el lugar de crecimiento de este patógeno. Reconcilie estas dos estrategias opuestas para potenciar la patogenicidad.

5. Los mutantes que no producen exotoxinas son relativamente fáciles de aislar, mientras que los mutantes que no producen endotoxinas son mucho más difíciles de aislar. A partir de sus conocimientos sobre la estructura y función de estos dos tipos de toxinas, explique las diferencias en la recuperación de mutantes.

6. Identifique las posibilidades que existen de que se desarrollen enfermedades infecciosas a partir de quemaduras producidas en el cuerpo. ¿Qué microorganismos suelen verse implicados en las infecciones de quemaduras? ¿Por qué la microbiota (microbiota) localizada en las zonas quemadas es incapaz de proteger al hospedador frente a las infecciones microbianas?

www.edilibro.com

29

Principios esenciales de inmunología

I GENERALIDADES DE INMUNOLOGÍA 936

29.1 Células y órganos del sistema inmunitario **936**

29.2 Respuesta inmunitaria innata **939**

29.3 Inflamación, fiebre y choque séptico **943**

29.4 La respuesta inmunitaria adaptativa **944**

II ANTÍGENOS Y PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS 946

29.5 Inmunógenos y antígenos **946**

29.6 Presentación de antígenos a los linfocitos T **948**

III LINFOCITOS T 951

29.7 Células T citotóxicas y células asesinas naturales **951**

29.8 Células T cooperadoras: activación de la respuesta inmunitaria **952**

IV ANTICUERPOS 953

29.9 Anticuerpos **953**

29.10 Producción de anticuerpos **957**

29.11 Complemento, anticuerpos y destrucción del patógeno **959**

Los plasmocitos son un tipo de células inmunitarias que producen grandes cantidades de inmunoglobulinas, especialmente cuando el cuerpo es estimulado por segunda vez con el mismo antígeno.

En el Capítulo 28 hemos discutido la protección pasiva física y química frente a la invasión, infección y enfermedad causadas por patógenos. Ahora llevaremos nuestra atención desde la microbiología de los patógenos hacia los mecanismos activos que usan los organismos pluricelulares para resistir la infección por patógenos y enfermedades causadas por ellos. Esta capacidad activa para resistir la enfermedad se denomina **inmunidad**.

Los organismos pluricelulares utilizan diversas células y productos celulares para matar patógenos y neutralizar sus efectos. El cuerpo posee un sistema inmunitario prefabricado que reconoce y destruye a los patógenos más comunes. Una segunda parte del sistema inmunitario se adapta rápida y eficientemente para reconocer patógenos individuales particularmente peligrosos, tales como nuevas cepas de bacterias o virus. Veremos primero como nuestro sistema inmunitario prefabricado hace frente a la mayoría de los patógenos. Luego examinaremos los mecanismos más complejos que el cuerpo usa para reconocer patógenos individuales. Juntos, estos mecanismos inmunitarios han evolucionado para proteger a los animales de peligrosos patógenos extraños; nuestra supervivencia depende de un sistema inmunitario funcional.

I GENERALIDADES DE INMUNOLOGIA

La respuesta inmunitaria ha evolucionado para reconocer y destruir patógenos peligrosos. Empezaremos por la **inmunidad innata**, la capacidad prefabricada del cuerpo para reconocer y destruir patógenos o sus productos. La inmunidad innata es mayoritariamente función de los fagocitos, células que pueden ingerir, matar y digerir a la mayoría de los patógenos. Las respuestas innatas reconocen multiples características estructurales comunes encontradas en moléculas extrañas y patógenos, y casi todos los fagocitos son capaces de interaccionar con la mayoría de los patógenos. Las interacciones con patógenos estimulan a grandes números de fagocitos para activar genes, conduciendo a la transcripción, traducción, y expresión de proteínas que destruyen a los patógenos. Dado que participan muchos fagocitos, la inmunidad innata se desarrolla inmediatamente después del contacto con un patógeno.

Desafortunadamente, las respuestas de la inmunidad innata no son siempre efectivas, y algunas veces pueden ocurrir infecciones peligrosas. Sin embargo, los fagocitos pueden activar otros mecanismos de defensa llamados de **inmunidad adaptativa**, o inmunidad específica, para afrontar estas infecciones. La inmunidad adaptativa es la capacidad adquirida para reconocer y destruir un patógeno o sus productos y se activa por la exposición del sistema inmunitario al patógeno. Las respuestas adaptativas se dirigen a moléculas concretas de los patógenos. Estas moléculas se denominan *antígenos*. Ciertos fagocitos pasan moléculas de patógenos a los linfocitos, donde las moléculas de los patógenos interaccionan con receptores específicos sobre el linfocito. Las interacciones entre molécula del patógeno y receptor del linfocito activan al linfocito para transcribir y traducir genes que producen proteínas específicas para el patógeno. Entonces estas proteínas interaccionan con los patógenos individuales, marcándolos para su destrucción. Una respuesta adaptativa protectora usualmente tarda varios días en desarrollarse, porque solamente unos pocos linfocitos están disponibles para interaccionar con cada patógeno; la fuerza de la respuesta adaptativa se incrementa conforme los linfocitos reactivos con el patógeno crecen y su número se multiplica.

Aquí introducimos las células implicadas en las respuestas innata y adaptativa del hospedador a los patógenos y otras sustancias extrañas. Empezamos con las células y órganos comunes al sistema inmunitario entero y luego consideramos las células y los mecanismos implicados en la inmunidad innata. Finalizamos con un vistazo de la inmunidad específica, o adaptativa, el tema central del resto del capítulo.

29.1 Células y órganos del sistema inmunitario

La inmunidad resulta de las acciones de células que circulan a través de la sangre y la linfa, un fluido similar a la sangre que contiene linfocitos y proteínas, pero carece de glóbulos rojos. Los fluidos de la sangre y la linfa interaccionan directa o indirectamente con cada principal sistema de órganos. Todas las células que participan en la inmunidad se desarrollan a partir de precursores comunes llamados células madre, que se encuentran en la *médula ósea*.

Componentes de la sangre y de la linfa

La sangre consiste en componentes celulares y no celulares, incluyendo muchas células y moléculas activas en la respuesta inmunitaria. Las células más numerosas en la sangre humana son eritrocitos (glóbulos rojos), células no nucleadas que funcionan trasportando oxígeno desde los pulmones a los tejidos (**Tabla 29.1**). Sin embar-

Tabla 29.1 Principales células encontradas en la sangre humana normal

Tipo de célula	*Células por mililitro*
Eritrocitos	$4{,}2\text{-}6{,}2 \times 10^9$
Leucocitos[a]	$4{,}5\text{-}11 \times 10^6$
Linfocitos	$1{,}0\text{-}4{,}8 \times 10^6$
Células mieloides	Más de $7{,}0 \times 10^6$

[a] Los leucocitos incluyen todas las células nucleadas de la sangre y se subdividen en linfocitos y células mieloides (monocitos y granulocitos).

Fuente: Henry, J. B. 1996. *Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*, 19th edition. W. B. Saunders, Philadelphia.

www.edilibros.com

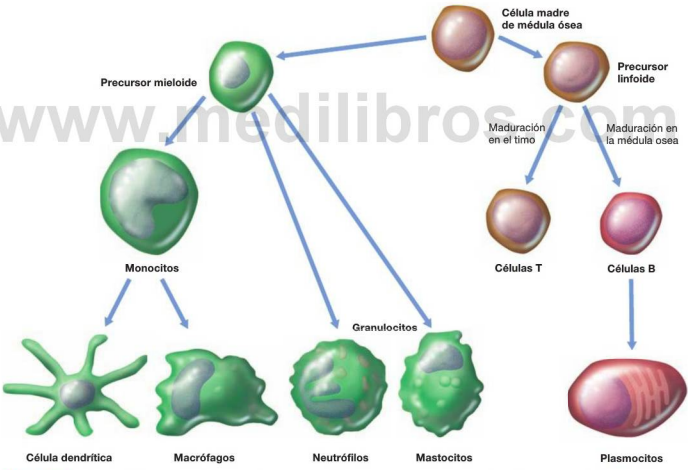
go, alrededor del 0.1% de las células de la sangre son glóbulos blancos nucleados, o **leucocitos**. Los leucocitos incluyen células fagocíticas como los monocitos, así como los **linfocitos**, células especializadas en la producción de anticuerpos y en la inmunidad mediada por células.

Como se muestra en la **Figura 29.1**, las células madre pluripotentes, las progenitoras de los glóbulos blancos de la sangre, se producen y desarrollan en la médula ósea. Las células madre se diferencian para producir células maduras bajo la influencia de proteínas solubles llamadas **citocinas**, proteínas que influyen muchos aspectos de la inmunidad, incluyendo el crecimiento de las células madre.

La sangre entera se compone de **plasma**, un líquido que contiene proteínas, otros solutos y células en suspensión. Fuera del cuerpo, la sangre entera o el plasma forman rápidamente un coágulo insoluble, causado por la conversión de una proteína soluble llamada *fibrinógeno* en la insoluble *fibrina*. El plasma o la sangre entera permanecen líquidos sólo cuando se añade un anticoagulante. La adición de anticoagulantes como el citrato potásico o la heparina previene la conversión de fibrinógeno en fibrina, deteniendo el proceso de coagulación. Cuando la sangre coagula, las proteínas insolubles atrapan las células en una masa insoluble. El fluido restante, llamado **suero**, no contiene células ni proteínas de coagulación. El suero contiene, sin embargo, una alta concentración de otras proteínas, incluyendo anticuerpos solubles, y es ampliamente usado en las investigaciones inmunológicas. El uso de anticuerpos séricos para detectar antígenos se llama *serología*.

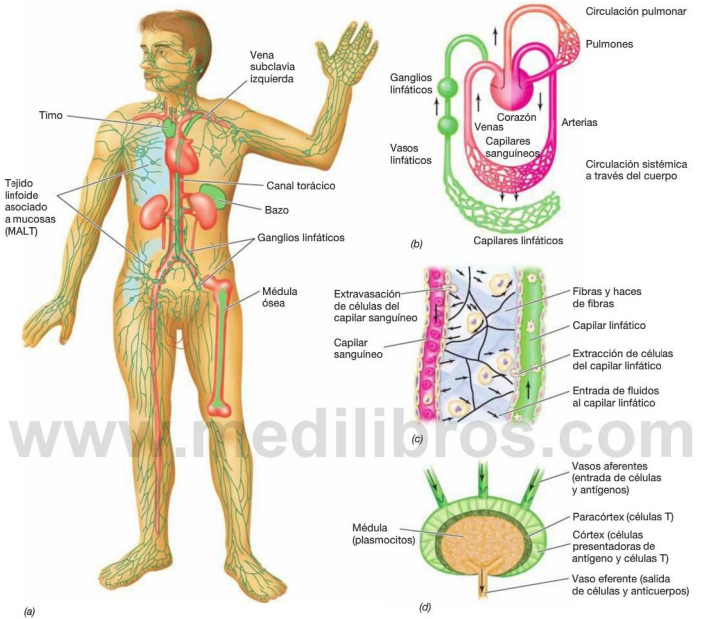
Circulación de la sangre y la linfa

La sangre es bombeada por el corazón a través de arterias y capilares a través del cuerpo y retorna a través de venas (**Figura 29.2a,b**). En el lecho de los capilares, los



www.medilibros.com

Figura 29.1 Origen de las células de la respuesta inmunitaria. Las células de la respuesta inmunitaria se desarrollan a partir de células madre pluripotentes en la médula ósea. Estas células pueden diferenciarse en dos precursores de células inmunitarias. La precursora mieloide puede generar monocitos, los cuales a su vez se diferencian en macrófagos o células dendríticas, células fagocíticas implicadas en la incorporación y presentación de antígenos. El precursor mieloide puede diferenciarse también en los distintos tipos de granulocitos, incluyendo neutrófilos, mastocitos, eosinófilos y basófilos. Los neutrófilos son fagocitos. Los otros liberan el contenido de sus gránulos en respuesta a patógenos, productos de patógenos, o células del hospedador dañadas. El precursor linfoide genera células T y B, los linfocitos que participan directamente en la respuesta inmunitaria adaptativa. Los plasmocitos derivados de las células B producen anticuerpos.



www.medilibros.com

Figura 29.2 **Los sistemas sanguíneo y linfático.** *(a)* El sistema linfático, mostrando las localizaciones de los principales órganos. Los órganos linfoides primarios son la médula ósea y el timo. Los órganos linfoides secundarios incluyen los ganglios linfáticos, bazo y MALT. *(b)* Conexiones entre los sistemas linfático y sanguíneo. La sangre fluye de las venas al corazón, a los pulmones, y luego a través de las arterias a los tejidos. La linfa drena desde el canal torácico hasta la vena subclavia izquierda del sistema circulatorio sanguíneo. *(c)* El intercambio de células entre los sistemas sanguíneo y linfático se muestra microscópicamente. Tanto los capilares sanguíneos como los linfáticos son vasos cerrados, pero las células pasan desde los capilares sanguíneos hasta los linfáticos y regresan por un proceso conocido como extravasación. *(d)* Un órgano linfoide secundario, el ganglio linfático. El diagrama identifica las áreas anatómicas principales y las células inmunitarias presentes en cada área. El MALT y el bazo tienen características anatómicas análogas.

leucocitos y solutos pasan desde la sangre al sistema linfático, un sistema circulatorio distinto que contiene la linfa (Figura 29.2*b*,*c*).

La linfa drena desde los tejidos extravasculares a los capilares linfáticos, conductos linfáticos y después a los ganglios linfáticos (Figura 29.2*d*) que se encuentran a lo largo del sistema linfático. Los ganglios linfáticos contienen grandes cantidades de linfocitos y fagocitos, dispuestos de manera tal que encuentran a los microorganismos y antígenos desde que entran en los ganglios a través de los conductos linfáticos. El tejido linfoide asociado a mucosas (**MALT**, del inglés *mucosal-associated lymphoid tissue*) es también parte del sistema linfático e interacciona con antígenos y microorganismos que provienen de las mucosas intestinal y bronquial. El MALT tiene los mismos componentes celulares que los ganglios linfáticos.

La pulpa blanca del bazo también consiste en concentraciones organizadas de linfocitos y fagocitos, dispuestos para filtrar el sistema circulatorio sanguíneo. Colectivamente, ganglios linfáticos, MALT y bazo se denominan *órganos linfoides secundarios* y son los sitios donde los antígenos se concentran e interaccionan con fagocitos presentadores de antígeno y linfocitos para generar una respuesta inmunitaria adaptativa (Figura 29.2*a*). El fluido linfático con anticuerpos y células inmunitarias va a parar al sistema circulatorio a través del gran canal torácico.

Leucocitos

Los leucocitos son células blancas nucleadas que se encuentran en la sangre y la linfa. Varios leucocitos distintos (Tabla 29.1 y Figura 29.1) participan en funciones inmunitarias innatas o adaptativas. Los linfocitos son leucocitos especializados que participan exclusivamente en la respuesta inmunitaria adaptativa. Los linfocitos maduros se concentran en los ganglios linfáticos y bazo donde interaccionan con los antígenos. Hay dos tipos de linfocitos, células B (linfocitos B) y células T (linfocitos T) (Figura 29.1). Las **células B** se originan y maduran en la **médula ósea** y son las precursoras de los plasmocitos productores de anticuerpos. Las **células T** comienzan su desarrollo en la médula ósea, pero viajan al **timo** para madurar. En los mamíferos, la médula ósea y el timo se denominan **órganos linfoides primarios** porque son los sitios donde las células madre y los precursores se diferencian en linfocitos funcionalmente capaces de reaccionar con antígenos (Figura 29.2*a*).

Todas las células mieloides derivan de una célula precursora compartida. Las células mieloides maduras pueden dividirse en dos categorías. La primera categoría incluye células fagocíticas especializadas, las **células presentadoras de antígeno** (**APC**, del inglés *antigen-presenting cells*), que ingieren, procesan y presentan antígenos a los linfocitos. Estas células son los *monocitos*, *macrófagos* y *células dendríticas*. Los monocitos son precursores circulantes de macrófagos, células que se encuentran en abundancia en tejidos, bazo y ganglios linfáticos (Figura 29.1). Las células dendríticas son también fagocitos con propiedades de presentación de antígenos, y la mayoría tienen monocitos como precursores.

Una segunda categoría de células derivadas de precursores mieloides es la de los granulocitos. Los granulocitos contienen inclusiones citoplásmicas, o gránulos, que pueden visualizarse usando técnicas de tinción. Estos gránulos contienen toxinas o enzimas que se liberan para matar células diana. Los granulocitos incluyen a los neutrófilos, también llamados leucocitos polimorfonucleares, o PMN. Los neutrófilos son granulocitos fagocíticos. Otros granulocitos, como los mastocitos, basófilos y eosinófilos, también se originan de los precursores mieloides. La liberación de los gránulos de estas células, un proceso llamado desgranulación, puede causar inflamación y síntomas parecidos a la alergia.

Los leucocitos se mueven activamente a través del cuerpo y pasan de la sangre a los espacios intersticiales, luego a los vasos linfáticos, y regresan al sistema circulatorio sanguíneo, un proceso llamado extravasación (Figura 29.2*c*).

29.1 Minirrevisión

Las células que participan en la inmunidad innata y adaptativa se originan de las células madre de médula ósea. Por los sistemas circulatorios sanguíneo y linfático circulan células y proteínas que son componentes importantes de la respuesta inmunitaria. Los leucocitos participan en las respuestas inmunitarias en todas las partes del cuerpo.

- Describa la circulación de un leucocito desde la sangre a la linfa y su regreso a la sangre.
- Trace el desarrollo de las células B, T y macrófagos desde la célula madre común.

29.2 Respuesta inmunitaria innata

Algunas veces los patógenos pueden romper las barreras físicas y químicas descritas en el Capítulo 28 (*véase* Sección 28.14), causando infección en el hospedador. Cuando la infección comienza, el sistema inmunitario puede movilizarse para proteger al hospedador de un daño posterior, y la respuesta inmunitaria innata o inespecífica es la primera línea de defensa. La inmunidad innata comienza cuando un fagocito contacta con una sustancia extraña como un patógeno o un producto de un patógeno. Varios fagocitos diferentes pueden ingerir y destruir patógenos, a menudo iniciando complejas reacciones mediadas por el hospedador, conocidas colectivamente como *inflamación*. Aquí examinamos las células y moléculas que reconocen patógenos e inician respuestas innatas protectoras del hospedador.

Fagocitos

El primer tipo de célula activa en la respuesta inflamatoria es usualmente un **fagocito** (literalmente, una célula que come). La función primaria de un fagocito es ingerir y destruir patógenos. En este proceso, algunos fagocitos también funcionan como APC, procesando y presentando antígenos peptídicos que inician la respuesta inmunitaria adaptativa.

Son fagocitos los macrófagos, monocitos, neutrófilos y células dendríticas inmaduras. Presentes en los tejidos y fluidos a través del cuerpo, los fagocitos son usualmente móviles, dotados de movimiento ameboide. La mayoría tienen inclusiones llamadas lisosomas, que contienen sustancias bactericidas como el peróxido de hidrógeno, lisozima, proteasas, fosfatasas, nucleasas y lipasas. Los fagocitos atrapan e ingieren patógenos sobre superficies

UNIDAD 7

como las paredes de los vasos sanguíneos o los coágulos de fibrina. La membrana citoplásmica que rodea al patógeno se invagina y forma un fagosoma. Los fagosomas, que contienen al patógeno ingerido, se mueven dentro de la célula y se fusionan con un lisosoma para formar un fagolisosoma. Las sustancias tóxicas y enzimas dentro del fagolisosoma suelen matar y digerir a la célula microbiana ingerida (**Figura 29.3**).

Un grupo de fagocitos, los **neutrófilos**, o **leucocitos polimorfonucleares** (**PMN**), son granulocitos muy móviles que contienen un gran número de lisosomas (**Figura 29.4*a***). Derivados de la célula madre mieloide (Figura 29.1), los neutrófilos se encuentran predominantemente en la sangre y la médula ósea, desde donde migran hacia los focos de infección activa en los tejidos. La presencia de un número de neutrófilos mayor que el normal en la sangre o en un foco de inflamación indica una respuesta activa a una infección actual.

Los monocitos son los precursores circulantes de los macrófagos, uno de los tipos principales de células fagocíticas (Figuras 29.4*a* y 29.3). Los macrófagos son células grandes presentes en tejidos como los ganglios linfáticos y el bazo, donde ingieren y destruyen la mayoría de los patógenos y moléculas extrañas además de interaccionar con los linfocitos para iniciar las respuestas inmunitarias adaptativas. Los macrófagos actúan también como APC, presentando antígenos peptídicos a las células T, lo que constituye la primera etapa en la activación de una respuesta inmunitaria adaptativa.

Las células dendríticas (dendrocitos) (Figura 29.1) tienen también una función dual de fagocitosis y presentación de antígenos. Derivadas del mismo monocito precursor de los macrófagos, las células dendríticas inmaduras se encuentran a lo largo de los tejidos del cuerpo donde funcionan como fagocitos muy activos. Cuando las células dendríticas ingieren un antígeno, migran hacia los ganglios linfáticos, donde presentan el antígeno a las células T. Las propiedades especializadas de presentación de antígenos de macrófagos y células dendríticas se examinan en la Sección 29.6.

Reconocimiento de patógenos por los fagocitos

Los fagocitos tienen un sistema general de reconocimiento de patógenos diseñado para activar una respuesta oportuna y apropiada, que generalmente conduce a la destrucción y contención del patógeno. Este sistema emplea varias **moléculas reconocedoras de estructuras** (**PRM**, del inglés *pattern-recognition molecules*) conservadas evolutivamente. Las PRM son proteínas unidas a la membrana del fagocito, que reconocen una **estructura molecular asociada a patógenos** (**PAMP**, del inglés *pathogen-associated molecular pattern*), un único componente estructural de una células microbiana o de un virus (área 1 de la **Figura 29.5**). Los PRM se observaron primero en los fagocitos de *Drosophila*, la mosca de las frutas, donde se les denominó *receptores Toll*. Cada **receptor tipo Toll** (**TLR**, del inglés *Toll-like receptor*) de

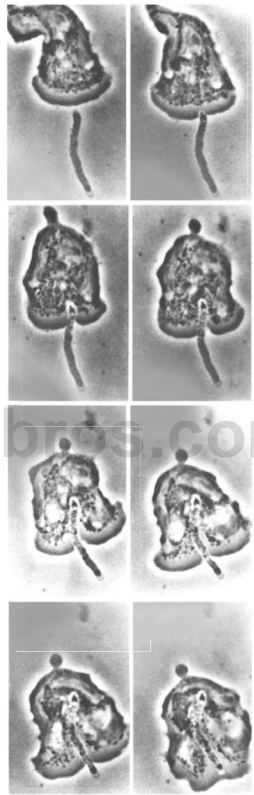


Figura 29.3 Fagocitosis. Fotomicrografías a lo largo del proceso de fagocitosis y digestión de una cadena de células de *Bacillus megaterium* por un macrófago humano, observado por microscopía de contraste de fase. La cadena bacteriana tiene alrededor de 18-20 μm de longitud. El macrófago pertenece a un grupo de células que ingieren y degradan patógenos y productos de patógenos.

Medilibros.com

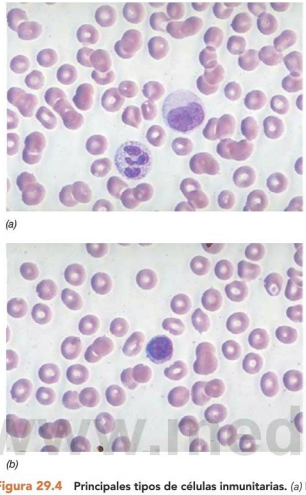


Figura 29.4 **Principales tipos de células inmunitarias.** *(a)* La célula nucleada en el centro abajo a la izquierda es un neutrófilo (PMN), caracterizado por un núcleo segmentado (teñido en violeta) y citoplasma granular. La célula nucleada a la derecha y un poco por encima del PMN es un monocito. Estos fagocitos tienen 12-15 μm de diámetro. Los glóbulos rojos no nucleados tienen alrededor de 6 μm de diámetro. *(b)* La célula nucleada es un linfocito circulante. El linfocito tiene un citoplasma apenas visible y es menor que los fagocitos, con un diámetro de alrededor de 10 μm.

un fagocito humano reconoce un PAMP específico. Por ejemplo, TLR-4, un PRM de la superficie de los fagocitos humanos, responde a las interacciones con el lipopolisacárido (LPS), un PAMP de la membrana externa de las bacterias gramnegativas (*véase* Sección 4.7), induciendo la activación del fagocito y la inmunidad a todos los patógenos gramnegativos. Otros TLR reconocen PAM como los oligonucleótidos no metilados CpG y las moléculas de peptidoglicano que se encuentran solamente en bacterias. Además de estos PRM asociados a fagocitos, varias moléculas solubles del hospedador tienen funciones similares, y discutiremos estos PRM únicos, solubles, en el contexto de su capacidad para activar el complemento, un sistema de proteínas interactivas que conduce a una fagocitosis estimulada o a la destrucción total de los patógenos (Sección 29.11). Para una discusión más extensa de los TLRs y otros PRMs y PAMPs, *véase* Sección 31.1.

La interacción de un PAMP con el PRM del fagocito desencadena una señal a través de la membrana que tiene como resultado la transcripción de un número de proteínas celulares en el fagocito. Esta activación transcripcional conduce a la producción de compuestos tóxicos de oxígeno que pueden causar la muerte del patógeno.

Activación dependiente del oxígeno de genes en los fagocitos

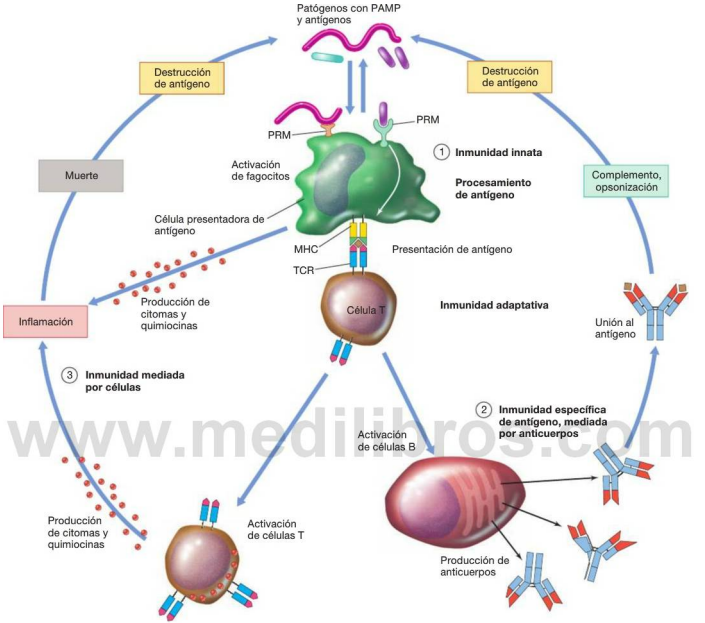
La activación de ciertos genes en los fagocitos estimula sus capacidades fagocíticas y de matar patógenos. La activación de los genes produce compuestos tóxicos que contienen oxígeno, incluyendo peróxido de hidrógeno (H_2O_2), anión superóxido (O_2^-), radical hidroxilo ($OH\cdot$), oxígeno singlete ($^1O_2$), ácido hipocloroso (HOCl) y óxido nítrico (NO) (*véase* Sección 6.18). Las condiciones ácidas en el fagolisosoma promueven la generación y reactividad de estos compuestos. Las células fagocíticas usan compuestos tóxicos de oxígeno para matar, por oxidación de compuestos celulares clave, a las células bacterianas ingeridas. Las oxidaciones ocurren dentro de la propia célula fagocítica, la cual no resulta dañada por los productos tóxicos del oxígeno. La muerte mediada por oxígeno dentro de los fagocitos se resume en la **Figura 29.6**. Los fagocitos activados incorporan y utilizan cantidades de O_2 mayores que las normales durante un corto período de tiempo para producir compuestos tóxicos de oxígeno. Este incremento de la tasa de incorporación de O_2 por los fagocitos activados se denomina *explosión respiratoria*.

Inhibición de la fagocitosis

Algunos patógenos han desarrollado mecanismos para neutralizar los productos tóxicos de los fagocitos, para matar a los fagocitos o para evitar la fagocitosis. Por ejemplo, *Staphylococcus aureus* produce compuestos pigmentados llamados carotenoides que neutralizan el oxígeno singlete y previenen la muerte (*véase* Sección 34.10). Los patógenos intracelulares como *Mycobacterium tuberculosis* (que causa la tuberculosis) crecen y persisten dentro de las células fagocíticas (*véase* Sección 34.5). *M. tuberculosis* utiliza los glicolípidos de su pared celular para absorber el radical hidroxilo y el anión superóxido, los compuestos tóxicos de oxígeno más letales producidos por fagocitos.

Algunos patógenos intracelulares producen proteínas letales para los fagocitos, llamadas leucocidinas. En estos casos, el patógeno es ingerido como siempre, pero la leucocidina mata al fagocito y el patógeno es finalmente liberado. Los fagocitos muertos constituyen la mayor parte del *pus*; a los organismos como *Streptococcus pyogenes* y *S. aureus*, principales productores de leucocidinas, se les llama patógenos *piógenos* (formadores de pus). Las infecciones localizadas por bacterias piógenas frecuentemente causan forúnculos o abcesos.

www.medil



www.medilibros.com

Figura 29.5 **Visión general de la respuesta inmunitaria.** Los patógenos son marcados y destruidos por tres mecanismos inmunitarios. (1) La inmunidad innata es el resultado de interacciones entre estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP) que son componentes de la superficie celular de los patógenos y moléculas que reconocen estructuras (PRM) presentes sobre los fagocitos. La inmunidad adaptativa, orquestada por las células T específicas de antígeno, tiene como resultado dos vías efectoras distintas: (2) La inmunidad mediada por anticuerpos debida a anticuerpos proteínicos solubles específicos de antígeno, productos de linfocitos B estimulados por antígenos, y (3) La inmunidad mediada por células mediada por células T específicas de antígeno.

Otra importante defensa microbiana frente a la fagocitosis es la cápsula bacteriana (*véase* Sección 4.9). Las bacterias capsuladas suelen ser muy resistentes a la fagocitosis, al parecer porque la cápsula previene la adherencia del fagocito a la célula bacteriana. El caso más claro de la importancia de una cápsula que previene la fagocitosis es el de *Streptococcus pneumoniae*. Menos de 10 células de una cepa capsulada de *S. pneumoniae* pueden matar un ratón en unos pocos días después de la inyección (*véase* Figura 28.16). Por el contrario, las cepas no capsuladas son completamente avirulentas. Otros componentes superficiales distintos de la cápsula también pueden inhibir la fagocitosis. Por ejemplo, las cepas virulentas de *S. pyogenes* producen proteína M, una sustancia que altera la superficie de la célula bacteriana e inhibe la fagocitosis.

Los anticuerpos o los PRM solubles que interaccionan con cápsulas u otras moléculas de la superficie ce-

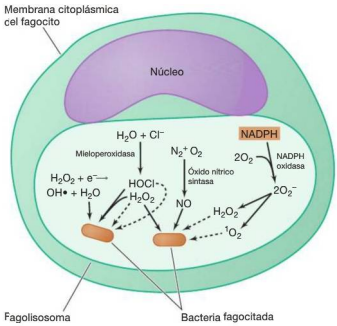


Figura 29.6 Acción de las enzimas de fagocitos en la generación de productos tóxicos de oxígeno. Estos incluyen peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidróxilo (OH·), anión superóxido (O_2^-), oxígeno singlete ($^1O_2$) y óxido nítrico (NO). La formación de estos compuestos tóxicos requiere un incremento sustancial en la incorporación y utilización del oxígeno molecular, O_2. Este incremento en la incorporación y consumo de oxígeno por los fagocitos activados se conoce como explosión respiratoria.

www.mhmedical.com

lular a menudo invierten los efectos protectores de los mecanismos de defensa bacterianos y estimulan la fagocitosis, un proceso conocido como *opsonización*. Discutiremos la opsonización en el contexto de la activación del complemento en la Sección 29.11.

29.2 Minirrevisión

Los fagocitos reconocen estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP) a través de una familia de moléculas de membrana reconocedoras de estructuras (PRM). La interacción de PAMP con PRM activa a los fagocitos para producir compuestos que contienen oxígeno y proteínas que matan al patógeno o limitan sus efectos. Muchos patógenos han desarrollado mecanismos para inhibir la fagocitosis.

- Describa la ubicación celular y la especificidad molecular de PAMP y PRM.
- Identifique los productos tóxicos de oxígeno y explique la explosión respiratoria que ocurre en los fagocitos activados.
- Identifique al menos uno de los mecanismos utilizados por los patógenos para inhibir la fagocitosis.

29.3 Inflamación, fiebre y choque séptico

La **inflamación** es una reacción no específica frente a estímulos nocivos como toxinas o patógenos. La inflamación causa enrojecimiento (eritema), hinchazón (edema), dolor y calor, usualmente localizados en el sitio de infección. Los mediadores moleculares de inflamación incluyen un grupo de proteínas llamadas *citocinas* y *quimiocinas*. Estas proteínas son producidas por varias células inmunitarias, pero especialmente por fagocitos y linfocitos.

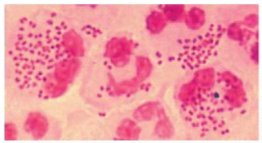
La inflamación es el resultado usual de una respuesta inmunitaria, ya sea innata o adaptativa; ambas respuestas inducen los mismos mediadores inflamatorios que reclutan y activan las mismas células y moléculas efectoras. Una respuesta inflamatoria efectiva aísla y limita el daño tisular, destruyendo los invasores patógenos así como las células dañadas en sitios localizados. En algunos casos, sin embargo, la inflamación puede causar considerable daño en los tejidos de un hospedador sano.

Células inflamatorias e inflamación local

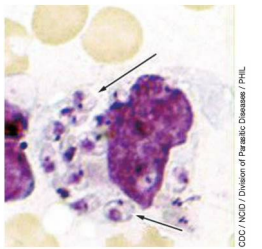
Las primeras células inflamatorias que llegan a la escena de una infección o lesión tisular son neutrófilos (**Figura 29.7*a***). Estos fagocitos son atraídos por quimioatrayentes solubles, tales como las **interleucinas**, al sitio de una infección activa o un tejido dañado. Por ejemplo, la interleucina 8 (IL-8), una pequeña proteína de la familia de las quimiocinas, es liberada por las células dañadas del hospedador. Los neutrófilos interaccionan con IL-8, activando genes que promueven la migración hacia las células que segregan IL-8. Los neutrófilos activados migran hacia las células dañadas y las ingieren. También segregan otras quimiocinas como MIP-α y MIP-β (del inglés *macrophage inflammatory proteins*). Estas quimiocinas reclutan macrófagos hacia el mismo sitio (Figura 29.7*b*), guiando a los macrófago a lo largo del gradiente de quimiocinas hacia los neutrófilos en el sitio de la infección o de la lesión.

La interacción con quimiocinas también activa ciertos genes del macrófago, conduciendo a una fagocitosis aumentada y a la producción y secreción de numerosas citocinas (Figura 29.5). Las principales citocinas de macrófagos activas en la inflamación son IL-1, IL-6 y TNF-α (del inglés *tumor necrosis factor-alpha*). Los mediadores tipo quimiocina y citocina liberados por las células dañadas y por los fagocitos contribuyen a la inflamación. Por ejemplo, las citocinas inflamatorias IL-1, IL-6 y TNF-α incrementan la permeabilidad vascular, causando la hinchazón (edema), enrojecimiento (eritema) y calor local asociados con la inflamación. El edema estimula a las neuronas locales, causando dolor.

El resultado usual de la respuesta inflamatoria es una rápida localización y destrucción de los patógenos por los neutrófilos y macrófagos reclutados. Cuando el patógeno es destruido, las células inflamatorias no siguen sien-



(a)



(b)

Figura 29.7 Fagocitos. *(a)* Neutrófilos ingiriendo activamente y matando a *Neisseria gonorrhoeae*. Los neutrófilos tienen un diámetro de alrededor de 12-15 μm. Nótese el núcleo multilobulado en cada célula. No todos los neutrófilos han ingerido bacterias. *(b)* Un macrófago de la piel que ha incorporado numerosas *Leishmania* (flechas), un protozoo. Los macrófagos activados por las células T son capaces de matar muchos parásitos intracelulares.

www.medilibros.com

do estimuladas, su número en el sitio se reduce, la producción de citocinas disminuye, la quimioatracción se detiene y la inflamación desaparece.

Inflamación sistémica y choque séptico

En algunos casos, la respuesta inflamatoria no consigue localizar al patógeno y la reacción llega a extenderse. Entonces las células y mediadores inflamatorios contribuyen a la inflamación a mayor escala. Una respuesta inflamatoria que disemina células y mediadores inflamatorios a través de los sistemas circulatorio y linfático enteros puede conducir a un choque séptico, una condición que pone en peligro la vida. La causa más común de choque séptico es la infección sistémica por bacterias gramnegativas entéricas como *Salmonella* o *Escherichia coli*, a menudo causada por un intestino roto o perforado que libera organismos gramnegativos en la cavidad intraperitoneal o la corriente sanguínea. La infección primaria es a menudo depurada por los fagocitos o tratada con éxito con antibióticos. Sin embargo, los lipopolisacáridos (LPS) endotóxicos de la membrana externa de estos organismos interaccionan con TLR-4, un PRM de los fagocitos, estimulando la producción de IL-1, IL-6, IL-8 y TNF-α, que se liberan a la circulación sistémica. Las citocinas inducen respuestas sistémicas que imitan la respuesta inflamatoria localizada. Por ejemplo, IL-1, IL-6 y TNF-α son *pirógenos endógenos*, que producen fiebre por estimular la liberación de prostaglandinas en el cerebro. En el hígado, las citocinas inflamatorias inducen la producción de una clase especial de proteínas llamadas *proteínas de fase aguda*. Estas incluyen la proteína C reactiva, proteínas del complemento, proteína amiloide sérica, lectina que une mananos y fibrinógeno. Estas proteínas estimulan la opsonización y la fagocitosis, acelerando usualmente la destrucción de los patógenos.

Las reacciones sistémicas inflamatorias, sin embargo, pueden tener consecuencias muy serias. La liberación sistémica de grandes cantidades de pirógenos endógenos, en lugar de producir calentamiento localizado, induce fiebre alta incontrolable. En la inflamación sistémica, el mismo mecanismo que causa edema local debido a la vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular ahora causa eflujo masivo de fluidos desde el compartimento vascular, con resultados de pérdida de presión sanguínea y edema severo en los tejidos contiguos. La condición resultante, llamada choque séptico, se caracteriza por pérdida de volumen sanguíneo así como fiebre alta y causa la muerte en más del 30% de los individuos afectados. La inflamación sistémica incontrolada puede ser más peligrosa que la infección original.

29.3 Minirrevisión

La inflamación, caracterizada por dolor, hinchazón (edema), enrojecimiento (eritema) y calor, es un resultado normal y generalmente deseable de la activación de efectores de la respuesta inmunitaria no específica. La inflamación sistémica incontrolada, llamada choque séptico, puede conducir a enfermedad grave y muerte.

- Identifique los síntomas principales de la inflamación localizada y del choque séptico.
- Identifique los mediadores moleculares de la inflamación y defina sus papeles individuales.

29.4 La respuesta inmunitaria adaptativa

La respuesta inmune adaptativa se esquematiza en la Figura 29.5. Los fagocitos como macrófagos y células dendríticas, así como los linfocitos B, incorporan y digieren patógenos. Estas células se llaman APC profesionales; procesan los componentes del patógeno en pequeñas piezas llamados *antígenos*. Las APC entonces presentan an-

tígenos peptídicos a los linfocitos T. Los linfocitos T reconocen los antígenos peptídicos a través de **receptores de células T** (**TCRs**, del inglés *T cell receptors*), específicos de antígeno y localizados en la superficie celular, que interaccionan específicamente con péptidos antigénicos individuales. Algunas células T, las células T citotóxicas (Tc), atacan directamente y destruyen a las células portadoras de antígenos. Otras células T activadas por antígenos, las células T cooperadoras 1 (T_H1), actúan indirectamente segregando citocinas que activan células como los macrófagos para destruir a las células portadoras de antígenos. Esta **inmunidad mediada por células** conduce a la muerte de las células infectadas por patógenos a través del reconocimiento de los antígenos del patógeno presentes en las células infectadas del hospedador.

Otro subconjunto de células T, las células T cooperadoras 2 (T_H2), interaccionan con las células B específicas de antígeno, estimulándolas para fabricar anticuerpos (inmunoglobulinas). Cada célula B tiene un único receptor para antígeno, un anticuerpo, como receptor de la superficie celular, y el anticuerpo es específico para un sólo antígeno. Las células B estimuladas por antígenos producen copias solubles del anticuerpo de la superficie celular; los anticuerpos solubles interaccionan específicamente con antígenos en el cuerpo para neutralizar los antígenos o marcarlos para su destrucción. Esta **inmunidad mediada por anticuerpos** es particularmente efectiva frente a patógenos extracelulares tales como bacterias y productos solubles de patógenos como toxinas en la sangre o la linfa.

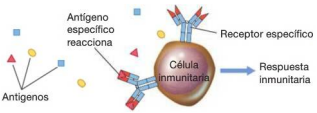
Como hemos indicado, la inmunidad innata se dirige frente a estructuras comunes de patógenos. En contraste, la inmunidad adaptativa se dirige a interacciones con macromoléculas individuales específicas de patógenos. La inmunidad adaptativa se caracteriza por las propiedades de *especificidad*, *memoria* y *tolerancia*. Ninguna de estas propiedades se encuentra en la respuesta innata.

Especificidad

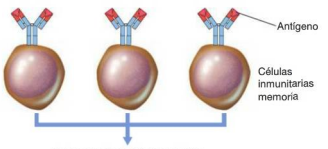
La **especificidad** de la interacción antígeno-anticuerpo o antígeno-TCR depende de la capacidad del receptor celular del linfocito para interaccionar con antígenos de patógenos individuales. La respuesta innata del hospedador desafía virtualmente a cualquier microorganismo invasor, incluso aquellos patógenos que el hospedador nunca había encontrado anteriormente. En la respuesta inmunitaria adaptativa, la inmunidad efectiva no puede ser detectada hasta varios días después del primer contacto con el patógeno. Sin embargo, una vez que la respuesta inmunitaria adaptativa se desencadena por contacto con el antígeno, es exclusiva y específicamente dirigida contra el patógeno inductor a través del reconocimiento de estructuras moleculares antigénicas únicas (**Figura 29.8*a***).

Memoria

El sistema inmunitario debe encontrar al antígeno para estimular la producción detectable y efectiva de anticuerpos o células T específicos de antígenos, pero una posterior exposición al mismo antígeno estimula la producción rápida de grandes cantidades de células T o anticuerpos reactivos con el antígeno. Esta capacidad para responder más rápida y vigorosamente a exposiciones subsiguientes con el antígeno inductor se conoce como **memoria inmunitaria** (Figura 29.8*b*). La memoria inmunitaria permite al hospedador resistir específicamente a patógenos encontrados previamente. Nos aprovechamos de la memoria inmunitaria para inmunizar (inoculando, vacunando) a individuos susceptibles con patógenos muertos o atenuados (o sus productos) para estimular artificialmente y potenciar la inmunidad frente a numerosos patógenos peligrosos.



(a) **Especificidad:** Las células inmunitarias reconocen y reaccionan con moléculas individuales (antígenos) vía interacciones moleculares directas.



(b) **Memoria:** La respuesta inmunitaria a un antígeno específico es más rápida y fuerte tras una exposición subsiguiente porque la exposición inicial indujo el crecimiento y la división de las células reactivas con el antígeno, lo que da como resultado múltiples copias de células reactivas con el antígeno.

(c) **Tolerancia:** Las células inmunitarias no son capaces de reaccionar con antígenos propios. Las célula auto-reactivas son destruidas durante el desarrollo de la respuesta inmunitaria.

Figura 29.8 La respuesta inmunitaria adaptativa. Los hechos claves de la inmunidad mediada por anticuerpos y mediada por células son *(a)* especificidad, *(b)* memoria y *(c)* tolerancia.

www.libros.com

Tolerancia

La **tolerancia** es la incapacidad adquirida para fabricar una respuesta inmunitaria para sus propios antígenos individuales. Dado que todas las macromoléculas del hospedador son antígenos potenciales, el sistema inmunitario debe evitar el reconocimiento de las macromoléculas del hospedador porque podrían ser dañadas si fuesen reconocidas por anticuerpos o células T (Figura 29.8*c*). Entonces, la respuesta inmunitaria adaptativa debe desarrollar la capacidad de discriminar entre antígenos *extraños* (no propios y peligrosos) y antígenos *del hospedador* (propios y no peligrosos).

29.4 Minirrevisión

Los fagocitos inespecíficos presentan antígenos a células T específicas, desencadenando la producción de células T_H1, T_H2 y T_C así como anticuerpos. Las células T y los anticuerpos reaccionan directa o indirectamente para neutralizar o destruir al antígeno. La respuesta inmunitaria adaptativa se caracteriza por la especificidad para el antígeno, la capacidad para responder más vigorosamente cuando se reexpone al mismo antígeno (memoria), y la capacidad para discriminar antígenos propios de antígenos no propios (tolerancia).

- Identifique las células específicas de antígeno en las respuestas inmunitarias mediadas por células y por anticuerpos.
- ¿Cuál podría ser el resultado de una ruptura de la especificidad, memoria o tolerancia inmunitaria respecto de una respuesta del hospedador frente a un patógeno?

www.medi

II ANTÍGENOS Y PRESENTACIÓN DE ANTÍGENOS

La respuesta inmunitaria adaptativa reconoce un amplio rango de macromoléculas derivadas de patógenos. Las macromoléculas son degradadas y procesadas en células del hospedador para producir moléculas llamadas antígenos que, a su vez, son presentadas a linfocitos T. Discutiremos primero sobre los antígenos y luego nos centraremos en los mecanismos de procesamiento y presentación de antígenos a las células T.

29.5 Inmunógenos y antígenos

Los **antígenos** son sustancias que reaccionan con anticuerpos o TCR. La mayoría, pero no todos los antígenos son **inmunógenos**, sustancias que inducen una respuesta inmunitaria. Aquí examinamos las características de los inmunógenos efectivos y después definimos las características de los antígenos que promueven interacciones con anticuerpos y TCR.

Propiedades intrínsecas de los inmunógenos

Los inmunógenos deben reunir varios criterios moleculares para inducir efectivamente una respuesta inmunitaria adaptativa. Todos los inmunógenos comparten un mínimo de propiedades intrínsecas.

El *tamaño molecular* es un importante componente de la inmunogenicidad. Por ejemplo, compuestos de bajo peso molecular llamados **haptenos** no pueden inducir una respuesta inmunitaria pero pueden unirse a anticuerpos. Dado que los haptenos se unen a los anticuerpos, son antígenos incluso aunque no sean inmunógenos. Los haptenos pueden ser azúcares, aminoácidos, y otros compuestos orgánicos de bajo peso molecular. Cuando se acoplan a una proteína grande trasportadora, los haptenos llegan a ser inmunógenos efectivos. La mayoría de los inmunógenos tienen un peso molecular de 10.000 o mayor. Por tanto, un tamaño molecular suficiente es una indicación de inmunogenicidad potencial.

Los polímeros complejos y no repetitivos como las proteínas son usualmente inmunógenos eficaces. Los carbohidratos complejos pueden ser muy buenos inmunógenos. En contraste, ácidos nucleicos, polisacáridos simples y lípidos, al estar compuestos de monómeros repetidos, tienden a ser malos inmunógenos. En consecuencia, la *complejidad molecular* de una sustancia es otro indicio de inmunogenicidad.

Las macromoléculas grandes, complejas, en forma insoluble o formando agregados (por ejemplo, proteínas precipitadas por calor) son usualmente excelentes inmunógenos. El material insoluble es fácilmente incorporado por los fagocitos, conduciendo a una respuesta inmunitaria. En cambio, la forma soluble de la misma molécula es a menudo un inmunógeno muy débil porque generalmente la molécula soluble no es ingerida eficientemente por los fagocitos. Por tanto, una *forma física apropiada* es otra condición de inmunogenicidad.

Propiedades extrínsecas de los inmunógenos

Aunque muchas sustancias son intrínsicamente inmunógenas, varios factores *extrínsecos* influyen también en la inmunogenicidad. Figuran entre ellos la *dosis* del inmunógeno, la *vía* de administración, y la *naturaleza extraña* del inmunógeno respecto del hospedador.

La dosis de un inmunógeno administrado a un hospedador puede ser importante para una respuesta inmunitaria eficaz, pero ordinariamente un amplio rango de dosis suministra una inmunidad satisfactoria. En general, dosis de 10 μg a 1 g son eficaces en la mayoría de los mamíferos. Dosis de inmunógeno mayores de 1 g o menores de 10 μg pueden no estimular una respuesta inmunitaria; dosis muy altas o muy bajas pueden suprimir una respuesta inmunitaria específica y causar tolerancia.

La vía de administración de un inmunógeno es también importante. Las inmunizaciones practicadas por vía parenteral (fuera del tracto gastrointestinal), generalmente por inyección, son normalmente más eficaces que las realizadas tópica u oralmente. Cuando se administran por vías oral o tópica, los antígenos pueden ser degradados significativamente antes de contactar con un fagocito.

La última y más importante característica extrínseca de un inmunógeno es que un inmunógeno eficaz debe ser extraño en relación con el hospedador. La respuesta inmunitaria adaptativa reconoce y elimina solamente antígenos extraños (no propios). Los autoantígenos no son reconocidos, y, por tanto, los individuos son tolerantes para sus propias moléculas, incluso aunque estos mismos antígenos pueden tener capacidad para ser inmunógenos en otros individuos de la misma especie.

Unión del antígeno por anticuerpos y receptores de células T

El anticuerpo o TCR no interacciona con la macromolécula antigénica entera, sino solamente con una porción concreta de la molécula llamada **determinante antigénico** o **epítope** (**Figura 29.9**). Los determinantes antigénicos pueden ser azúcares, aminoácidos y otras moléculas orgánicas. Los anticuerpos interaccionan con determinantes antigénicos accesibles en la superficie de los antígenos. Una secuencia de cuatro a seis aminoácidos tiene el tamaño óptimo de un determinante antigénico en una proteína. Por tanto, las proteínas, que usualmente consisten en centenares e incluso miles de aminoácidos son surtidos de determinantes antigénicos lineales que se solapan. En muchos casos, los anticuerpos reconocen determinantes compuestos por aminoácidos pertenecientes a dos porciones de la molécula distantes entre sí en términos de la estructura primaria, pero que quedan juntas por el plegado de la proteína debido a las estructuras secundaria, terciaria o cuaternaria de una macromolécula. Estos determinantes conformacionales aumentan la complejidad antigénica de las macromoléculas. La superficie de una célula bacteriana o de un virus consiste en un mosaico de proteínas, polisacáridos y otras macromoléculas, todas con determinantes individuales. Aunque los anticuerpos generalmente reconocen determinantes expresados en las superficies macromoleculares, los TCR reconocen determinantes solamente después de que los inmunógenos hayan sido parcialmente degradados. Los inmunógenos degradados (procesados) son entonces presentados a las células T en la superficie de APC especializadas o de células diana, tal como se discutirá en la Sección 29.6.

El procesamiento del antígeno destruye la estructura conformacional de una macromolécula, rompiendo generalmente las proteínas en péptidos con menos de 20 aminoácidos de longitud. Como resultado, las células T reconocen determinantes secuenciales lineales en lugar de los determinantes conformacionales reconocidos por anticuerpos.

Los anticuerpos o los TCR pueden distinguir entre determinantes estrechamente relacionados. Por ejemplo, los anticuerpos pueden distinguir entre los azúcares glucosa y galactosa, que difieren solamente en la orientación de un único grupo hidroxilo. Sin embargo, la especificidad no es absoluta, y un anticuerpo individual o un TCR puede reaccionar en algún grado con varios determinantes diferentes pero estructuralmente similares. El antígeno que indujo la respuesta de anticuerpos o estimuló al TCR se llama antígeno *homólogo*, y los antígenos no inductores que reaccionan con el anticuerpo se llama antígenos *heterólogos*. La interacción entre un anticuerpo o un TCR y un antígeno heterólogo se llama *reacción cruzada*.

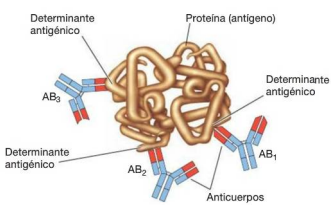


Figura 29.9 Antígenos y determinantes antigénicos para anticuerpos. Los antígenos pueden contener varios determinantes antigénicos diferentes, cada uno de ellos capaz de reaccionar con un anticuerpo específico distinto. El determinante antigénico reconocido por AB_1 es un determinante conformacional consistente en dos partes diferentes del mismo antígeno polipeptídico. La cadena polipeptídica se pliega disponiendo juntas dos partes distantes del antígeno para constituir un único determinante.

29.5 Minirrevisión

Los inmunógenos son macromoléculas extrañas que inducen una respuesta inmunitaria. El tamaño molecular, la complejidad y la forma física son propiedades intrínsecas de los inmunógenos. Cuando se introducen inmunógenos extraños en un hospedador en una dosis y por una vía apropiadas, inician una respuesta inmunitaria. Los antígenos son moléculas reconocidas por los anticuerpos o los TCR. Los anticuerpos reconocen determinantes lineales y conformacionales; los TCR reconocen determinantes peptídicos lineales.

- Distinga entre inmunógenos y antígenos.
- Identifique las características intrínsecas y extrínsecas de un inmunógeno.
- Describa un determinante para anticuerpo y compárelo con un determinante para TCR.

UNIDAD 7

29.6 Presentación de antígenos a los linfocitos T

Los linfocitos T interaccionan con antígenos a través de receptores en su superficie celular. En esta sección vemos que el TCR interacciona con un péptido antigénico unido a una proteína del complejo principal de histocompatibilidad (MHC del inglés *major histocompatibility complex*) sobre una célula fagocítica presentadora de antígeno o una célula diana infectada.

El receptor de células T (TCR)

El TCR es una proteína transmembrana que se extiende desde la superficie de la célula T hasta el ambiente extracelular. Cada célula T tiene miles de copias del mismo TCR en su superficie. Un TCR funcional consiste en dos polipéptidos, una cadena α y una cadena β. Cada una de estas cadenas tiene un dominio variable (V) y un dominio constante (C) (**Figura 29.10**). Los dominios Vα y Vβ interaccionan cooperativamente para formar el sitio de unión al péptido antigénico. Como veremos en la Sección 29.7, la respuesta inmunitaria adaptativa puede generar TCR que unirán casi todos los antígenos peptídicos conocidos. Otros antígenos, tales como un polisacárido complejo, pueden ser reconocidos por TCR, pero también pueden ser unidos por receptores inmunoglobulínicos de células B, los TCR reconocen y unen un antígeno peptídico sólo cuando está unido a una proteína *propia*, la proteína del complejo principal de histocompatibilidad.

Proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC)

Las proteínas MHC están codificadas por un conjunto de genes ligados presentes en todos los vertebrados que se denomina **complejo principal de histocompatibilidad (MHC)**. Las proteínas MHC en humanos, conjuntamente conocidas como antígenos de leucocitos humanos o HLA (del inglés *human leukocyte antigens*), fueron identificadas inicialmente como los principales antígenos responsables del rechazo de trasplante de órganos mediado inmunológicamente. Ahora sabemos, sin embargo, que las proteínas MHC funcionan fundamentalmente como moléculas presentadoras de antígeno, uniendo antígenos derivados de patógenos y presentando estos antígenos para la interacción con los TCR.

Los genes MHC codifican proteínas MHC de las clases I y II. Las proteínas **MHC de clase I** se encuentran en las superficies de todas las células nucleadas. Las proteínas **MHC de clase II** se encuentran sólo en la superficie de linfocitos B, macrófagos y células dendríticas, todas las cuales son APC. Esta distribución diferencial de las proteínas de clases I y II en células está relacionada con sus funciones respectivas.

Las proteínas MHC de clase I consisten en dos polipéptidos (**Figura 29.11***a*), una cadena alfa anclada en la membrana y codificada en la región génica MHC, y una pequeña proteína llamada *beta-2 microglobulina* (*β2m*) codificada por un gen no perteneciente a la región MHC. Las proteínas MHC de clase II consisten en dos polipéptidos unidos de forma no covalente llamados α y β. Como las cadenas α de clase I, estos polipéptidos están anclados en la membrana citoplásmica y se proyectan hacia fuera desde la superficie celular (Figura 29.11*b*).

Solucionarios.com

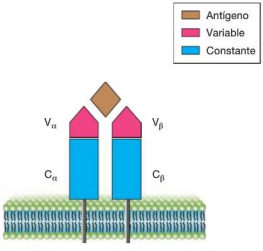


Figura 29.10 **Estructura del receptor de células T (TCR).** Los dominios V de la cadena α y β se combinan para formar el sitio de unión del péptido antigénico.

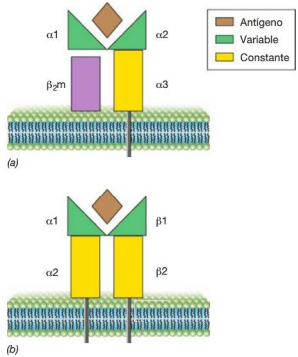


Figura 29.11 **Estructura de las proteínas MHC.** *(a)* Proteínas de clase MHC I. Los dominios α1 y α2 interaccionan para formar el sitio de unión del péptido antigénico. *(b)* Proteínas de clase MHC II. Los dominios α1 y β1 se combinan para formar el sitio de unión del péptido antigénico.

En diferentes miembros de la misma especie, las proteínas MHC no son idénticas estructuralmente. Usualmente, individuos diferentes tienen sutiles diferencias en las secuencias de aminoácidos de proteínas MHC homólogas. Estas variantes MHC codificadas genéticamente, de las cuales hay cerca de 200 en los seres humanos, se llaman *polimorfismos*. Los polimorfismos en las proteínas MHC son las principales barreras antigénicas para el trasplante de tejidos de un individuo a otro; los trasplantes de tejidos que no coinciden en la identidad MHC son reconocidos como no propios y son rechazados. La estructura molecular detallada y la organización genética de los genes y proteínas MHC se presentan en el Capítulo 31.

Presentación de antígenos

Las proteínas MHC expresadas en la superficie celular reflejan la composición de las proteínas en el interior de la célula. Por ejemplo, una célula que no contiene patógenos ni antígenos extraños expresarán moléculas MHC que forman complejos con péptidos propios, derivados del catabolismo normal de las proteínas durante el crecimiento celular. Por otra parte, las células que han ingerido proteínas extrañas o patógenos y las células infectadas por virus producen péptidos que también interaccionan con las proteínas MHC. En este caso, las proteínas MHC expresadas en la superficie celular forman complejos con péptidos extraños. Estas proteínas MHC con péptidos asociados funcionan como puntos de referencia molecular que permiten a las células T identificar antígenos extraños. Las células T están examinando continuamente el panorama molecular de la superficie de otras células para identificar células portadoras de antígenos no propios. El TCR de una célula T dada reconoce solo moléculas MHC que llevan antígenos extraños asociados a la estructura MHC; una célula T no puede interaccionar con un antígeno extraño salvo si el antígeno es presentado en el contexto de una proteína MHC. Las células T no pueden reaccionar con los complejos MHC-péptido presentes en células no infectadas porque las células T autorreactivas han sido eliminadas durante el desarrollo de la tolerancia en el sistema inmunitario.

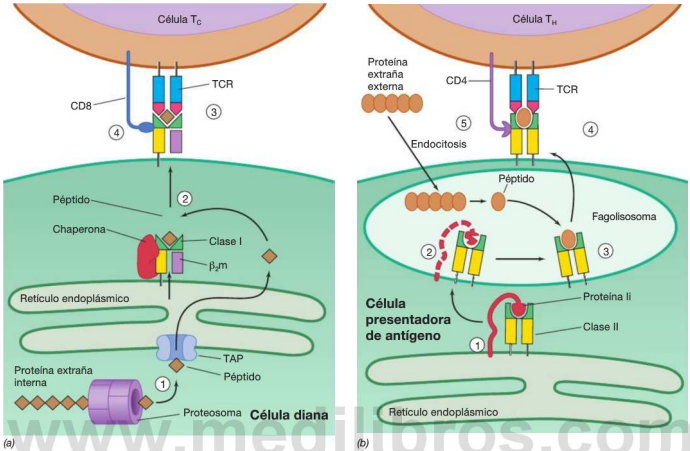
¿Cómo ocurre esto? Las células del hospedador pueden adquirir antígenos no propios a través de la infección o la fagocitosis. Entonces, las células del hospedador degradan (procesan) los antígenos para formar péptidos pequeños. Los péptidos antigénicos procesados se cargan en las proteínas MHC y el complejo MHC-péptido se inserta en la membrana citoplásmica, para ser reconocido por células T. Hay dos esquemas distintos de procesamiento de antígenos, uno para la presentación de antígenos por MHC I y otro para la presentación de antígenos por MHC II (**Figura 29.12**).

Las proteínas MHC I presentan péptidos antigénicos derivados de proteínas de patógenos presentes en el citoplasma de células no fagocíticas (Figura 29.12*a*). Las proteínas extrañas de patógenos son el resultado de la infección por virus y otros patógenos intracelulares. Por ejemplo, las proteínas derivadas de virus infectantes son incorporadas y digeridas en el citoplasma en una estructura llamada el *proteosoma*. Los péptidos con una longitud de alrededor de diez aminoácidos son trasportados al retículo endoplásmico (ER) a través de un poro formado por dos proteínas, llamadas *trasportadores asociados con el procesamiento de antígenos* (*TAP*, del inglés *transporters associated with antigen processing*). Una vez que los péptidos han entrado en el ER, se unen a la proteína MHC I, que está retenida en su lugar cerca del sitio TAP por un grupo de proteínas llamadas *chaperonas* hasta que ocurre la unión con un péptido. Entonces, el complejo MHC I-péptido es liberado de las chaperonas y se mueve hacia la superficie celular donde se integra en la membrana y puede ser reconocido por las células T. Por tanto, las proteínas MHC actúan como una plataforma a la cual se une el antígeno viral extraño. A continuación, el TCR de la superficie de una célula T interacciona tanto con el antígeno (extraño) como con la proteína MHC (propia) sobre la superficie de la célula diana. Esta interacción entre la célula T y la célula diana induce a las células T citotóxicas (T_C) especializadas para producir proteínas citotóxicas llamadas perforinas que matan a las células diana infectadas por virus (Sección 29.7).

Las proteína MHC de clase II están en la segunda vía de la presentación de antígenos (Figura 29.12*b*). Las proteínas MHC II se expresan exclusivamente en las APC fagocíticas, donde funcionan para presentar péptidos de patógenos extracelulares ingeridos, tales como las bacterias. Las proteínas MHC de clase II están inicialmente ensambladas en el ER, como las proteínas MHC I. Sin embrago, a diferencia de la vía de ensamblaje de las proteínas MHC I, una proteína chaperona llamada Ii, o cadena invariante, se une a la proteína MHC II, bloqueando la carga de péptidos dentro del ER. Estos complejos MHC II-Ii son trasportados desde el ER a los lisosomas. Después de la fagocitosis de un patógeno, el fagosoma que contiene antígenos extraños se fusiona con el lisosoma para formar un fagolisosoma, y los antígenos extraños, así como el péptido Ii, son digeridos por enzimas lisosomiales. Los péptidos extraños, generalmente de 11-15 aminoácidos de longitud (algo mayores que los péptidos que se unen a MHC I), se unen al sitio de unión del antígeno de la proteína MHC II, ahora nuevamente abierto. El complejo es trasportado a la membrana citoplásmica, donde se presenta en la superficie celular a las **células T cooperadoras (T_H)**. Las células T_H, a través del TCR, reconocen el complejo MHC II-péptido. Esta interacción activa a las células T_H para secretar citocinas, estimulando la producción de anticuerpos por células B o causando inflamación.

Correceptores CD4 y CD8

Además del TCR, cada célula T expresa una única proteína de la superficie celular que funciona como un correceptor. Las células T_H expresan una proteína correcep-



www.medilibros.com

Figura 29.12 Presentación de antígeno por las proteínas MHC I y MHC II. *(a)* En la vía MHC I de presentación de antígenos, las proteínas MHC I unidas a membrana son fabricadas y ensambladas en el retículo endoplásmico. Las proteínas chaperonas estabilizan a MHC I hasta que se une un antígeno. (1) Las proteínas antigénicas fabricadas dentro de la célula, por ejemplo proteínas de virus, son degradadas por el proteosoma en el citoplasma y trasportadas a través de la membrana del retículo endoplásmico pasando por poros formados por las proteínas TAP. (2) Entonces los péptidos resultantes se unen a MHC I, son transportados a la superficie celular y (3) interaccionan con los receptores de células T (TCR) en la superficie de las células T_C. (4) El correceptor CD8 sobre las células T_C tiene afinidad por la clase MHC I, formando un fuerte complejo. A continuación, las células T_C liberan citocinas y citotoxinas, matando a la célula diana. Cualquier célula nucleada puede actuar como diana para las células T que reconocen complejos péptido-MHC I. *(b)* En la vía MHC II de presentación de antígenos, (1) las proteínas MHC II son producidas en el retículo endoplásmico y se ensamblan con una proteína bloqueante, Ii (cadena invariante), previniendo que MHC II forme complejos con péptidos presentes en el retículo endoplásmico. (2) Los lisosomas que contienen MHC II se fusionan con fagosomas formando fagolisosomas donde Ii y proteínas extrañas, importadas desde fuera de la célula por endocitosis, son digeridas. (3) A continuación, la proteína MHC II se une a los péptidos extraños digeridos, y el complejo es transportado a la superficie celular, (4) donde interacciona con TCR y (5) el correceptor CD4 de las células T_H. Entonces, las células T_H liberan citocinas que actúan sobre otras células promoviendo una respuesta inmunitaria. Solamente las APC pueden ser dianas para las células T que reconocen complejos péptido-MHC II. Las APC son macrófagos, células dendríticas y células B.

tora CD4, y las T_C expresan una proteína correceptora CD8 (Figura 29.12). Cuando el TCR se une al complejo péptido-MHC, el correceptor sobre la célula T también se une a la proteína MHC de la célula portadora de antígeno, reforzando las interacciones moleculares entre las células y contribuyendo a la activación de la célula T. CD4 se une solamente a las proteínas de clase II, reforzando la interacción de las célula T_H con APC que expresan proteínas MHC II. De la misma manera, CD8 se une solamente a proteínas MHC I, estimulando la unión de las célula T_C a células dianas portadoras de MHC I. Las proteínas CD4 y CD8 se usan también en ensayos *in vitro* como marcadores de células T que diferencian células T_H ($CD4^+$) de células T_C ($CD8^+$) (Sección 29.9).

29.6 Minirrevisión

Las células T interaccionan con células portadoras de antígeno incluyendo APC y células infectadas por patógenos. A nivel molecular, las TCR unen péptidos antigénicos presentados por proteínas MHC. Estas interacciones moleculares activan a las células T para matar células portadoras de antígenos o producir proteínas estimuladoras de células, conocidas como citocinas.

- Identifique las células que presentan preferentemente proteínas MHC I y MHC II en su superficie.
- Defina la secuencia de acontecimientos para procesamiento y presentación de antígenos de patógenos tanto intracelulares como extracelulares.

III LINFOCITOS T

La presentación de antígenos activa a los precursores de linfocitos T para diferenciarse en células T maduras responsables de la citotoxicidad específica de antígeno y mediada por células, de respuestas inflamatorias y cooperación con las células B productoras de anticuerpos. En ausencia de células T reactivas de antígeno, la respuesta de inmunidad adaptativa específica de antígeno es poco eficiente y no hay memoria inmunitaria.

29.7 Células T citotóxicas y células asesinas naturales

En la sección previa hemos introducido dos subpoblaciones de linfocitos T, las células T citotóxicas y las células T cooperadoras. Aquí examinamos la función de muerte celular específica de antígeno de las células T citotóxicas en detalle. También introducimos la células asesinas naturales (NK, del inglés *natural killer*), una célula parecida al linfocito que usa otro mecanismo para marcar y matar células infectadas por patógenos intracelulares.

Células T citotóxicas (T_C)

Las células T_C, también conocidas como linfocitos T citotóxicos (CTL, del inglés *cytotoxic T lymphocytes*) son células T $CD8^+$ que matan directamente a células que presentan antígenos extraños en sus superficies. Como se ha discutido en la Sección 29.6, las células T_C reconocen antígenos extraños asociados a las proteínas MHC I. Una célula que presenta un antígeno extraño asociado a MHC I, tal como un péptido viral presentado por una célula infectada por virus, puede ser muerta por células T_C.

Para la muerte celular se requiere el contacto entre una célula T_C y la célula diana. El contacto se inicia por el TCR y el complejo péptido-MHC I (Figura 29.12*a*). En contacto con la célula diana, los gránulos de la T_C migran al sitio de contacto, donde el contenido de los gránulos es liberado (desgranulación). Los gránulos contienen perforina, la cual atraviesa la membrana de la célula diana y forma un poro. Además de las perforinas, los gránulos de la T_C contienen granzimas, proteínas que causan *apoptosis*, o muerte celular programada. Cuando las granzimas entran en la célula diana a través de los poros creados por las perforinas, la célula diana sufre apoptosis, caracterizada por la muerte y degradación de la célula desde dentro (**Figura 29.13**). Las células T_C, sin embargo, permanecen intactas; sus membranas no son dañadas por la perforina. Las células T_C matan solamente a aquellas células que presentan antígenos extraños porque los gránulos se liberan solamente en la superficie de contacto entre la T_C y la célula diana portadora de antígenos. Las células que carecen de antígenos reconocidos por las células T_C no hacen contacto y no son muertas.

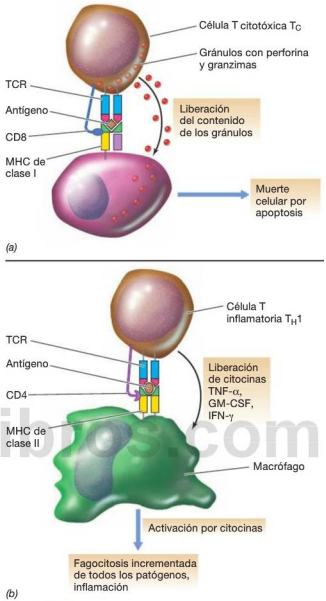


Figura 29.13 Células T efectoras. *(a)* Las células T citotóxicas, o células T_C, son activadas por antígenos presentados por cualquier célula en el contexto de una proteína MHC I. Las células T_C responden liberando gránulos que contienen perforina y granzimas, citotoxinas que perforan la célula diana y causan apoptosis, respectivamente. *(b)* Las células T inflamatorias, o células T_H1, son activadas por antígenos presentados por macrófagos en el contexto de una proteína MHC II. Las células T_H1 activadas producen citocinas que estimulan a los macrófagos para incrementar su actividad fagocítica y promover inflamación.

www.elibros.com

Células asesinas naturales

Las **células asesinas naturales (células NK,** del inglés *natural killer*) son linfocitos citotóxicos distintos de las células B y T. Sin embargo, las células NK se parecen a las células T_C en su capacidad para destruir células cancerosas y células infectadas con patógenos intracelulares. Las células NK también usan perforina y granzimas para matar a sus dianas. Sin embargo, las células NK difieren de las células T_C en que matan dianas en *ausencia* de una proteína específica. Las células NK son capaces de destruir células cancerosas y células infectadas por virus sin previa exposición o contacto con las células extrañas. Además, el número de células NK no aumenta, ni exhiben memoria después de la interacción con células diana.

Muchas células tumorales y células infectadas por virus reducen o eliminan las características normales de expresión de proteínas MHC I para escapar de la respuesta inmunitaria específica de antígeno. La diana molecular de las células NK, sin embargo, es la *ausencia* de proteínas MHC I apropiadas en la superficie de la célula diana. Como las células NK circulan e interaccionan con las células del cuerpo, reconocen a las células normales sus proteínas MHC I a través de un conjunto especial de receptores para MHC I. La unión de los receptores NK a MHC I desactiva a una célula NK, bloqueando los mecanismos matadores de perforina y granzima, un proceso llamado *licencia*. En ausencia de licencia, la célula NK mata a la célula no reconocida, destruyendo por tanto células infectadas por virus o células tumorales que ya no expresan proteínas MHC.

29.7 Minirrevisión

Las células T citotóxicas (T_C) reconocen antígenos sobre células del hospedador infectadas por virus y células tumorales a través de TCR específicos de antígeno. El reconocimiento de antígenos específicos desencadena la muerte mediada por perforinas y granzimas. Las células asesinas naturales (NK) utilizan los mismos efectores para matar células infectadas por virus y células tumorales. Las células NK, sin embargo, responden a la ausencia de proteínas MHC normales en las células infectadas por virus y células tumorales. Las células NK no requieren activación por antígenos, ni exhiben memoria.

- Identifique y compare las dianas y los mecanismos de reconocimiento usados por las células T_C y NK.
- Describa el sistema efector común (el sistema matador de células) usado por las células T_C y NK.

29.8 Células T cooperadoras: activación de la respuesta inmunitaria

Aquí nos centramos en las células T_H. La interacción con los complejos entre MHC II y péptidos activa a las células T_H $CD4^+$ para producir citocinas. Las citocinas, a su vez, controlan la diferenciación y la actividad de células efectoras como los macrófagos fagocíticos y las células B productoras de anticuerpos. Las células T_H no diferenciadas maduran en dos subpoblaciones, células T_H1 y células T_H2. Las células T_H1 juegan un papel en la activación de macrófagos y la inflamación; las células T_H2 interaccionan con las células B y estimulan la producción de anticuerpos.

Células T_H1 y activación de macrófagos

Los macrófagos juegan un papel central como APC tanto en la inmunidad mediada por anticuerpos como en la mediada por células. Como se ilustró en la Figura 29.12*b*, los macrófagos ingieren antígenos que son procesados y presentados a las células T_H. En este proceso los macrófagos ingieren y matan células extrañas, una capacidad que es aumentada por las células T_H1 y las citocinas producidas por ellas. Los macrófagos activados por células T_H1 matan bacterias intracelulares que normalmente se multiplicarían dentro de macrófagos no activados o de otros tipos de células. Aunque la mayoría de las bacterias incorporadas por macrófagos son muertas y digeridas, algunas bacterias sobreviven y se multiplican dentro de ellos. Entre las bacterias que se multiplican dentro de los macrófagos figuran *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* y *Listeria monocytogenes*, las bacterias que causan tuberculosis, lepra y listeriosis, respectivamente. Los animales a los que se administra una dosis moderada de *M. tuberculosis* son capaces de superar la infección y desarrollan resistencia debida a la respuesta inmunitaria mediada por células T. Las células T activas en este proceso son células T inflamatorias, de la subpoblación T_H1. Ellas activan a los macrófagos y a otros fagocitos inespecíficos mediante la secreción de citocinas, como IFN-γ (interferón gamma), GM-CSF (factor estimulador de colonias de granulocitos y monocitos) y TNF-α (Figura 29.13*b*). Sorprendentemente, estos animales inmunizados también fagocitan y matan organismos no relacionados como *Listeria*. Los macrófagos en los animales inmunizados han sido por tanto activados para matar cualquier invasor secundario tan efectivamente como resisten y matan al patógeno original.

Los macrófagos activados por T_H1 no solamente matan células infectadas por patógenos, sino que también colaboran en la destrucción de células tumorales. Por ejemplo, las células tumorales a menudo producen antígenos específicos de tumor que no se encuentran en las células normales. Las células tumorales pueden ser destruídas por macrófagos activados por células T_H1 que reaccionan con los antígenos específicos de tumor. El rechazo de trasplantes, el principal problema que se encuentra después de trasplantar órganos o tejidos de una persona a otra, también está mediado por macrófagos activados por células T_H1. En este caso, las células T_H1 reconocen las proteínas MHC no propias del trasplante, desencadenando la activación de macrófagos y la destrucción del trasplante.

Las células T_H2 y la activación de células B

Las células T_H2 desempeñan un papel crucial en la activación de las células B y la producción de anticuerpos. Como se discutió en la Sección 29.3, las células B fabrican anticuerpos. Las células B maduras están recubiertas de anticuerpos que actúan como receptores de antígenos. Los antígenos se unen a los receptores de las células B, pero estas no producen inmediatamente anticuerpos solubles. Primero, el antígeno unido es endocitado y degradado en las células B. Los péptidos del antígeno degradado son presentados entonces en las proteínas MHC II de las células B (**Figuras** 29.12*b* y **29.14**). De esta manera, la célula B realiza un doble papel, primero como una APC y segundo como una productora de anticuerpos. En este papel, la célula B incorpora y procesa el antígeno, y lo presenta a una célula T_H2. La célula T_H2 responde produciendo IL-4 (interleucina-4) e IL-5, suministrando su ayuda para la activación de la célula B. La célula B activada produce y secreta anticuerpos, su segundo papel, tal como se discutirá en la Sección 29.10.

29.8 Minirrevisión

Las células T_H1 y T_H2 son activadores esenciales de las respuestas inmunitarias mediadas por células y por anticuerpos. Las células T_H1 inflamatorias y T_H2 cooperadoras estimulan a los macrófagos efectores y a las células B, respectivamente, a través de la acción de citocinas.

- Describa el papel de las células T_H1 en la activación de macrófagos.
- Describa el papel de las células T_H2 en la activación de las células B.

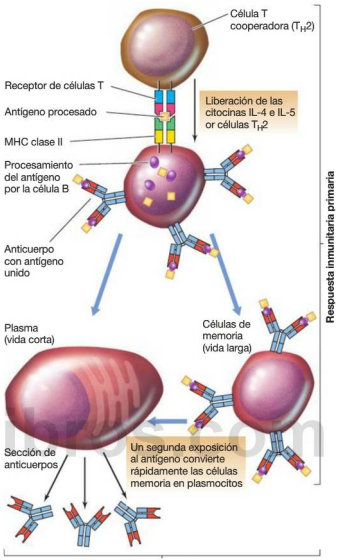


Figura 29.14 La interacción célula T-célula B y la producción de anticuerpos. Las células B funcionan inicialmente como células presentadoras de antígeno. Interaccionan con el antígeno a través del receptor Ig específico para antígeno, promoviendo la endocitosis del complejo antígeno-anticuerpo y conduciendo a la degradación y procesamiento del antígeno. Después del procesamiento, el antígeno es presentado a la célula T_H2 por la molécula MHC de clase II de la célula B. Entonces, la célula T_H2 es activada para transcribir y traducir genes de citocinas. Las citocinas de células T actúan sobre la misma célula B para que se divida y forme plasmocitos (productores de anticuerpos) o células memoria. Los plasmocitos producen anticuerpos. Las células memoria se convierten rápidamente en plasmocitos después de una posterior exposición al antígeno.

IV ANTICUERPOS

Aquí nos concentramos en el papel de las células B y los anticuerpos en la inmunidad. Los anticuerpos son proteínas presentes en los fluidos del cuerpo. Suministran inmunidad específica de antígeno que protege frente a los patógenos extracelulares y proteínas solubles peligrosas como las toxinas. Después de considerar la estructura molecular de los anticuerpos, examinamos la generación de la diversidad y la producción de inmunoglobulinas por las células B. Concluimos investigando la capacidad de los anticuerpos para neutralizar o destruir antígenos dentro del cuerpo.

29.9 Anticuerpos

Los **anticuerpos**, o **inmunoglobulinas (Ig)**, son moléculas proteínicas que interaccionan específicamente con determinantes antigénicos. Se encuentran en el suero y otros fluidos corporales como las secreciones gástricas y la leche. Un suero que contiene anticuerpos específicos para un antígeno se denomina *antisuero*. Las inmunoglobulinas (Igs) pueden separarse en cinco clases principales

UNIDAD 7

de acuerdo con sus propiedades físicas, químicas e inmunológicas: *IgG, IgA, IgM, IgD* e *IgE* (**Tabla 29.2**). En la mayoría de los individuos, alrededor del 80% de las inmunoglobulinas del suero son proteínas IgG.

Estructura de la inmunoglobulina G

La IgG, el anticuerpo circulante más abundante, tiene un peso molecular de alrededor de 150.000 y se compone de cuatro cadenas polipeptídicas (**Figura 29.15**). Las cadenas individuales están conectadas por puentes disulfuro intercatenarios (uniones S-S). En cada proteína IgG, dos cadenas ligeras idénticas con peso molecular de 25.000 se emparejan con dos cadenas pesadas idénticas de peso molecular 50.000, dando un peso molecular total de 150.000. Cada cadena ligera tiene unos 220 aminoácidos y cada cadena pesada tiene alrededor de 440 aminoácidos. Cada cadena pesada interacciona con una cadena ligera para formar un sitio funcional de unión al antígeno. Un anticuerpo IgG, por tanto, es bivalente porque contiene dos sitios de unión y puede unir dos determinantes idénticos.

Cadenas pesadas y cadenas ligeras

Cada cadena pesada de la IgG se compone de varias partes distintas, llamadas **dominios** (Figura 29.15). Un dominio variable está conectado a tres dominios constantes, cada uno de ellos de unos 110 aminoácidos de longitud. La secuencia de aminoácidos del domino variable difiere para cada anticuerpo diferente. El dominio variable es el que une al antígeno. Los tres dominios constantes de cada cadena pesada son idénticos para los diferentes anticuerpos de la misma clase.

Cada cadena ligera de IgG consiste en dos partes de igual tamaño, un dominio variable y un dominio cons-

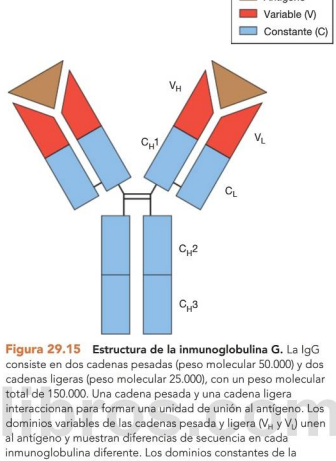


Figura 29.15 Estructura de la inmunoglobulina G. La IgG consiste en dos cadenas pesadas (peso molecular 50.000) y dos cadenas ligeras (peso molecular 25.000), con un peso molecular total de 150.000. Una cadena pesada y una cadena ligera interaccionan para formar una unidad de unión al antígeno. Los dominios variables de las cadenas pesada y ligera (V_H y V_L) unen al antígeno y muestran diferencias de secuencia en cada inmunoglobulina diferente. Los dominios constantes de la cadena pesada (C_H1, C_H2, C_H3) son idénticos en todas las proteínas de clase IgG. Las cadenas están unidas covalentemente por puentes disulfuro.

Tabla 29.2 Propiedades de las inmunoglobulinas humanas

Clase/ Cadena H[a]	*Peso molecular/ fórmula*[b]	*Suero (mg/ml)*	*Sitios de unión al antígeno*	*Propiedades*	*Distribución*
IgG γ	150.000 2(H+L)	13,5	2	Principal anticuerpo circulante; cuatro subclases: IgG_1, IgG_2, IgG_3 e IgG_4; IgG_1 e IgG_3 activan el complemento	Fluido extracelular; sangre y linfa; cruza la placenta
IgM μ	970.000 (pentámero) 5[2](H+L)+J	1,5	10	Primer anticuerpo que aparece tras inmunización; fuerte activador del complemento	Sangre y linfa; el monómero es receptor de superficie de la célula B
	175.000 (monómero) 2(H+L)	0	2		
IgA α	150.000 2(H+L)	3,5	2	Importante anticuerpo circulante	Monómero en sangre y dímero en secreciones (saliva, calostro,fluidos)
	385.000 2[2](H+L)+J+SC	0,05	4	Principal anticuerpo secretor	
IgD δ	180.000 2(H+L)	0,03	2	Anticuerpo circulante minoritario	Sangre y linfa; superficie de linfocitos B
IgE ε	190.000 2(H+L)	0,00005	2	Implicado en reacciones alérgicas e inmunidad a parásitos	Sangre y linfa; C_H4 une mastocitos y eosinófilos

[a] Todas las inmunoglobulinas pueden tener cadenas ligeras de los tipos λ o κ, pero no ambas.
[b] Basada en el número y disposición de las cadenas pesadas (H) y ligeras (L) en cada molécula funcional. J es la proteína de unión presente en la IgM sérica y la IgA secretora. SC es el componente secretor que se encuentra en la IgA secretada.

tante. El dominio variable de la cadena ligera interacciona con el dominio variable de la cadena pesada para unir el antígeno. La secuencia de aminoácidos del dominio constante no difiere entre las cadenas ligeras del mismo tipo.

El sitio de unión del antígeno

El sitio de unión del antígeno de la IgG y de todos los demás anticuerpos se forma por interacción cooperativa entre los dominios variables de ambas cadenas pesada y ligera (**Figura 29.16**). El dominio variable de las dos cadenas interacciona, formando un receptor que une fuertemente al antígeno pero de manera no covalente. La fuerza medible de la unión del anticuerpo al antígeno se llama *afinidad de unión*. Un anticuerpo de alta afinidad se une apretadamente al antígeno.

Cada sistema inmune individual tiene la capacidad para reconocer, o unir, innumerables antígenos, siendo cada antígeno reconocido por un único sitio de unión al antígeno. Para responder a todos los posibles antígenos, cada individuo puede producir miles de millones de diferentes sitios de unión al antígeno en anticuerpos. ¿Cómo se genera esta diversidad en sitios de unión al antígeno? Como se discute en la próxima sección, constantemente se están creando nuevos anticuerpos mediante acontecimientos de recombinación y mutación en aproximadamente 300 genes que codifican los dominios variables de las cadenas ligeras y pesadas. Los genes de cadenas pesadas y ligeras juntos codifican un único anticuerpo expresado en cada célula B. La interacción del antígeno con el anticuerpo de la célula B estimula a la célula B para producir y secretar copias solubles del anticuerpo.

Otras clases de anticuerpos

Los anticuerpos de otras clases se diferencian de la IgG. Los dominios constantes de la cadena pesada de una molécula determinada de anticuerpo definen su clase entre cinco posibles, en base a sus secuencias de aminoácidos. Las cinco clases de cadenas son gamma (γ), alpha (α), delta (δ), mu (μ) y epsilon (ε). Las secuencias de los dominios constantes constituyen tres cuartas partes de las cadenas pesadas de IgG, IgA e IgD, y cuatro quintas partes de las cadenas pesadas de IgM e IgE. (**Figura 29.17**). Cada anticuerpo de clase IgM, por ejemplo, contiene en sus dominios constantes de la cadena pesada los aminoácidos que constituyen la secuencia *mu*.

La estructura de la IgM se muestra en la **Figura 29.18**. La IgM se encuentra usualmente como un agregado de cinco moléculas de inmunoglobulina unidas por al menos una cadena J (del inglés *joining*). Cada cadena pesada de la IgM contiene un cuarto dominio constante (C_H4). La IgM es la primera clase de Ig producida en una respuesta inmunitaria típica a una infección bacteriana, pero generalmente la IgM es de baja afinidad. La fuerza de la unión al antígeno se incrementa en algún grado, sin embargo, por la alta *valencia* de la molécula de IgM pentamérica; diez sitios de unión están disponibles para la interacción con el antígeno (Tabla 29.2 y Figura 29.18). La fuerza combinada de la unión de los múltiples sitios de unión al antígeno de la IgM se llama *avidez*. Por tanto, la IgM tiene *baja* afinidad pero *alta* avidez por el antígeno. Más del 10% de los anticuerpos séricos son IgM. La IgM también se encuentra, en forma de monó-

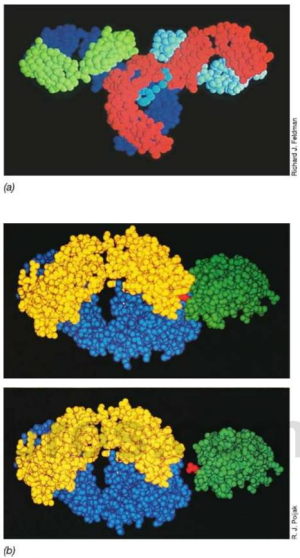


Figura 29.16 Estructura de las inmunoglobulinas y del sitio de unión al antígeno. *(a)* Imagen tridimensional de una molécula de IgG. Las cadenas pesadas se muestran en rojo y en azul oscuro. Las cadenas ligeras se muestran en verde y en azul claro. *(b)* Modelo espacial de la estructura de las interacciones de unión entre un antígeno y una inmunoglobulina. El antígeno (lisozima) está en verde. El dominio variable de la cadena pesada de la Ig se muestra en azul; el dominio variable de la cadena ligera en amarillo. El aminoácido en rojo es una glutamina de la lisozima. La glutamina se interna en un hueco de la molécula de Ig, pero la totalidad de las interacciones antígeno-anticuerpo incluyen contactos entre muchos otros aminoácidos de las superficies de la Ig y del antígeno. Reproducido con permiso de *Science* 233:747 (1986) ©AAAS.

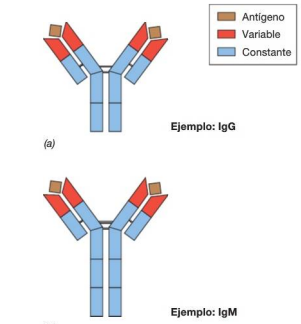


Figura 29.17 **Clases de inmunoglobulinas.** Todas las clases de Igs tienen dominios V_H y V_L (rojo) que unen al antígeno (marrón). *(a)* IgG, IgA e IgD tienen tres dominios constantes (azul). *(b)* IgM e IgE tienen un cuarto dominio constante.

www.medi

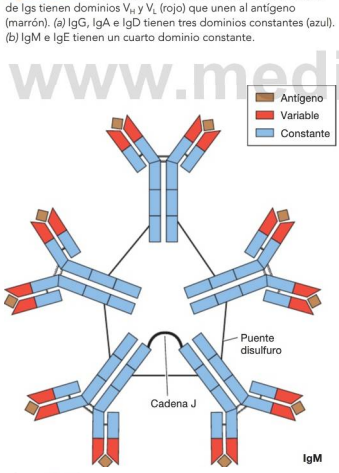


Figura 29.18 **Inmunoglobulina M.** La IgM está presente en el suero como una proteína pentamérica consistente en cinco proteínas IgM unidas covalentemente una a otra por puentes disulfuro y una cadena J. Ya que es un pentámero, la IgM puede unir hasta 10 antígenos, como se muestra.

meros, en la superficie de las células B, donde unen al antígeno.

Los dímeros de IgA están presentes en fluidos del cuerpo como saliva, lágrimas, calostro y secreciones mucosas de los tractos gastrointestinal, respiratorio y genitourinario. Estas superficies mucosas están asociadas a tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) que produce IgA. Las superficies mucosas totalizan alrededor de 400 m^2, y se producen grandes cantidades de IgA secretora (unos 10 g por día) (**Figura 29.19**). En contraste, la IgG sérica producida por un individuo es de unos 5 g por día. Por tanto, la cantidad total de IgA *secretora* producida por el cuerpo es mayor que la cantidad de IgG *sérica*. La forma secretora consiste en dos moléculas de IgA unidas covalentemente por una cadena peptídica J y una proteína llamada *componente secretor* que facilita el trasporte de la IgA a través de las membranas. La IgA también está presente en el suero como un monómero (Tabla 29.2).

La IgE se encuentra en cantidades muy pequeñas en el suero (cerca de 1 de cada 50.000 moléculas de Ig sérica es una IgE). La IgE funciona como un anticuerpo que se une a los eosinófilos, armando a estos granulocitos para marcar a los parásitos eucariotas como esquistosomas y otros gusanos. La IgE es también importante porque es el anticuerpo implicado en la hipersensibilidad de tipo inmediato (alergias). El peso molecular de una molécula de IgE es significativamente mayor que el de la mayor parte de otras Igs (Tabla 29.2), porque, como la IgM, la IgE posee un cuarto dominio constante (Figura 29.17). Esta región constante adicional funciona uniendo IgE a las superficies de eosinófilos y mastocitos, lo que es un paso crítico para la activación de reacciones protectoras y alérgicas asociadas con estos tipos celulares (*véase* Figura 30.5).

La IgD, presente en el suero a bajas concentraciones, carece de función conocida. Si embargo, la IgD, como la IgM, es abundante en la superficie de las células B, y la IgD es especialmente abundante en las células B memoria. Por tanto, la IgD encontrada en la superficie de las células B puede ser importante en la respuesta secundaria de anticuerpos.

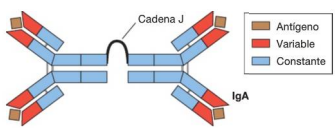


Figura 29.19 **Inmunoglobulina A.** La IgA secretora (sIgA) se encuentra a menudo en las secreciones del cuerpo como un dímero consistente en dos proteínas IgA unidas covalentemente entre sí mediante una cadena de unión (J). Un componente secretor, no mostrado, facilita el trasporte de la IgA a través de las membranas de la mucosa.

29.9 Minirrevisión

Cada proteína Ig (anticuerpo) consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. El sitio de unión al antígeno está formado por la interacción de las regiones variables de una cadena pesada y una cadena ligera. Cada clase de anticuerpo tiene diferentes características estructurales, vías de expresión y papeles funcionales.

- Identifique los dominios de las cadenas pesada y ligera que unen al antígeno.
- Diferencie entre las clases de anticuerpos usando características estructurales, vías de expresión y papeles funcionales.

29.10 Producción de anticuerpos

En esta sección, examinamos una respuesta de anticuerpos típica. Al nivel celular, complejas interacciones entre las células T y B producen una eficaz inmunidad de anticuerpos específicos para antígenos. Al nivel genético, las células B usan mecanismos genéticos únicos para generar receptores únicos que unen antígeno. Una secuencia predecible de acontecimientos conduce a una producción eficaz de anticuerpos después de la exposición al antígeno.

www.medi

Interacciones célula T-célula B

La producción de anticuerpos es una respuesta directa a la exposición al antígeno. Las respuestas de anticuerpos específicos incluyen interacciones entre células T y células B a través de sus respectivas moléculas de superficie específicas de antígeno, el TCR de la célula T y el anticuerpo de superficie de la célula B (Figura 29.14). Una célula B reactiva expuesta por primera vez a un antígeno une el antígeno a través de su receptor de superficie específico, el anticuerpo unido a la membrana. Entonces, el complejo antígeno-anticuerpo es internado, y el antígeno es procesado en péptidos que se asocian a las proteínas MHC II. Por tanto, la célula B funciona primero como una eficiente APC, utilizando su anticuerpo de superficie para capturar un antígeno individual. El complejo MHC-antígeno se mueve hacia la superficie celular, donde se presenta para su interacción con una célula T_H2 que posee un TCR específico para el antígeno en su superficie (Figura 29.12*b*). La formación de un complejo MHC-antígeno-TCR activa genes en la células T_H2 específica para el antígeno, conduciendo a la producción de citocinas. Las citocinas T_H2 estimulan a la célula B específica cercana, activándola para que se expanda clonalmente y se diferencia en plasmocitos que secretan anticuerpos.

Generación de la diversidad de receptores de antígenos

Cada individuo es capaz de producir miles de millones de anticuerpos y TCR diferentes, con cada receptor destinado a interaccionar específicamente con uno de los innumerables antígenos de nuestro ambiente. ¿Cómo dirige el sistema inmunitario la producción de todos los receptores específicos para antígenos? La diversidad de los receptores inmunitarios se genera por un mecanismo único, exclusivo para las células T y B. La producción de anticuerpos comienza con progresivas reorganizaciones de los genes que codifican las Igs. Durante el desarrollo de las células B en la médula ósea, tanto los genes de la cadena pesada como los de la ligera se reorganizan. Los genes son reordenados —fragmentos génicos individuales se mezclan y emparejan en una variedad de combinaciones— por empalme de genes y reorganizaciones en las células durante su maduración, un proceso conocido como recombinación somática.

La **Figura 29.20** muestra un modelo de reorganización y expresión típicos de las cadenas ligeras humanas. Los genes de las cadenas pesadas se reorganizan de forma análoga, pero más compleja. En cada célula B madura, el resultado final es un único gen funcional de cadena pesada y un único gen funcional de cadena ligera. Cada uno de estos genes reordenados se transcribe, traduce y expresa para fabricar una proteína anticuerpo en la superficie de la célula B. La exposición al antígeno induce diferenciación a plasmocitos que producen copias de anticuerpos solubles. Además, la exposición al antígeno induce hipermutación en las células B con genes de anticuerpo productivos, modificando adicionalmente y diversificando los anticuerpos expresados. El gran número de posibles reorganizaciones génicas junto con los acontecimientos de hipermutación somática después de la exposición al antígeno asegura una casi ilimitada diversidad de anticuerpos.

Reorganizaciones similares ocurren durante el desarrollo de las células T, con el resultado de la generación de una considerable diversidad en los TCR. Sin embargo, en las células T no hay hipermutación para expandir la diversidad.

Producción de anticuerpos y memoria inmunológica

Comenzando con una célula B, la producción de anticuerpos se inicia con la exposición al antígeno y culmina con la producción y secreción de un anticuerpo específico para el antígeno de acuerdo con la secuencia siguiente:

1. Los antígenos se diseminan por los sistemas de circulación linfática y sanguínea hasta los órganos linfoides secundarios más próximos, tales como ganglios linfáticos, bazo o tejido linfoide asociado a mucosas (MALT) (Sección 29.1 y Figura 29.2). La vía de exposición al antígeno influye en la clase de anticuerpos producidos. Un antígeno inyectado intravenosamente viaja por la sangre hasta el bazo, donde se forman anticuerpos de las clases IgM, IgG e IgA sérica. Un antígeno introducido por las vías subcutánea, intradérmica, tópica o intraperitoneal es transportado por el sistema linfático hasta los ganglios linfáticos más

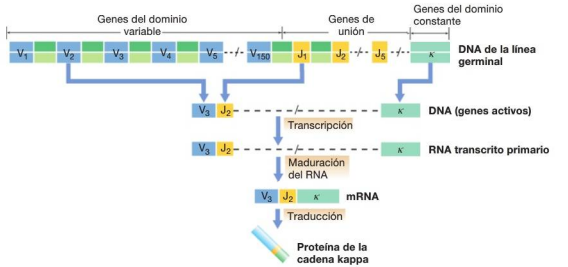


Figura 29.20 Reorganización de los genes de la cadena kappa de inmunoglobulina en células B humanas. Los segmentos de genes están dispuestos en tándem en la región génica de la cadena ligera kappa (k) dentro del cromosoma 2. Las reorganizaciones del DNA quedan completadas en la célula B madura. Una cualquiera de las 150 secuencias V (variables) puede combinarse con una cualquiera de las 5 secuencias J. Por tanto, son posibles 750 (150 × 5) recombinaciones, codificando 750 cadenas kappa distintas, pero en cada célula ocurre una única reorganización productiva. Un proceso análogo ocurre en los genes de la cadena pesada en cada célula B. La región génica de la cadena pesada tiene más segmentos génicos, lo que permite un mayor número de recombinaciones y de cadenas pesadas potenciales, pero en cada célula B madura se encuentra una única reorganización de la cadena pesada. La Ig madura se fabrica por combinación de dos proteínas de cadena ligera con dos proteínas de cadena pesada.

www.medilibros.com

cercanos, estimulando una vez más la producción de IgM, IgG e IgA sérica. Un antígeno introducido a través de superficies mucosas es captado por el MALT más próximo. Por ejemplo, un antígeno ingerido oralmente es captado por el MALT del tracto intestinal, estimulando preferentemente la producción de anticuerpos específicos en el intestino, con una respuesta de IgA secretora específica.

2. A continuación de la exposición inicial al antígeno, cada célula B estimulada por el antígeno se multiplica y diferencia para formar plasmocitos secretores de anticuerpos y células de memoria (Figura 29.14). Los **plasmocitos** tienen una vida media relativamente corta (menos de 1 semana), pero producen y secretan grandes cantidades de anticuerpos, principalmente IgM en la **respuesta primaria de anticuerpos (Figura 29.21)**. Hay un período de latencia antes de que los anticuerpos específicos aparezcan en la sangre, seguido por un incremento gradual en el título de anticuerpos (cantidad de anticuerpos), y finalmente hay un lento descenso en la respuesta primaria de anticuerpos.
3. Las **células B de memoria** generadas por la exposición inicial al antígeno pueden vivir durante años. Si hay una posterior reexposición al antígeno inmunizante, las células B memoria no necesitan la activación de células T; se trasforman rápidamente en plasmocitos y comienzan a producir anticuerpos. La segunda y cada una de las posteriores exposiciones al antígeno hacen que el título de anticuerpos se eleve rápidamente hasta un nivel que a menudo puede ser de 10 a 100 veces mayor que el título alcanzado tras la primera exposición. Esta elevación en el título de anticuerpos es la **respuesta secundaria de an-**

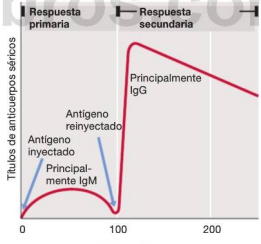


Figura 29.21 Respuesta de anticuerpos primaria y secundaria en el suero. El antígeno inyectado en el día 0 tiene que ser el mismo que se inyecta en el día 100 para inducir una respuesta secundaria. La respuesta secundaria, también llamada de recuerdo, puede ser más de diez veces mayor que la respuesta primaria. Notar el cambio de clase de producción de IgM en la respuesta primaria a producción de IgG en la respuesta secundaria.

ticuerpos. La respuesta secundaria tipifica la memoria inmunitaria, que tiene como resultado una respuesta de anticuerpos más rápida y más abundante cuando se compara con la respuesta primaria. La respuesta secundaria también induce un cambio de la producción predominante de IgM a la producción predominante de IgG, un fenómeno denominado *cambio de clase* (Figura 29.21).

4. El título decrece lentamente a lo largo del tiempo, pero subsiguientes exposiciones al mismo antígeno pueden causar otra respuesta de memoria. La rápida y fuerte respuesta de memoria es la base del procedimiento de inmunización conocido como «vacunación de recuerdo» (por ejemplo, la vacunación anual de la rabia que se da a los animales domésticos). La reinmunización periódica mantiene altos niveles de anticuerpos circulantes específicos para un determinado antígeno, suministrando una protección activa de larga duración frente a enfermedades infecciosas concretas.

29.10 Minirrevisión

La producción de anticuerpos se inicia por un antígeno que contacta con una célula B específica. Las células B reactivas procesan el antígeno y lo presentan a una célula T_H2 específica para el antígeno. La célula T_H2 llega a activarse y produce citocinas que aportan señales a la célula B específica para que se expanda clonalmente y se diferencie para producir anticuerpos. Las células B activadas viven durante años como células de memoria y pueden expandirse y diferenciarse rápidamente para producir grandes cantidades (títulos altos) de anticuerpos después de una reexposición al antígeno.

- ¿Cómo actúan las células B como APC?
- ¿Cómo activan las células T_H2 a las células B específicas?
- Explique las razones para las inmunizaciones periódicas frente a la rabia en animales domésticos.

29.11 Complemento, anticuerpos y destrucción del patógeno

El **complemento** consiste en un grupo de proteínas que interaccionan secuencialmente entre sí y que desempeñan un importante papel efector tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa. La actividad del complemento puede iniciarse por interacciones con complejos antígeno-anticuerpo, pero también por mecanismos de inmunidad innata. Las proteínas del complemento, reaccionando unas con otras y con componentes de la célula diana, causa la lisis de las células patógenas o las marca para su reconocimiento por los fagocitos, acelerando su destrucción.

Activación clásica del complemento y daño celular

El complemento es un grupo de proteínas, muchas con actividad enzimática. Estas proteínas reaccionan, siguiendo un orden secuencial predefinido, con complejos antígeno-anticuerpo sobre una célula diana. Como resultado la membrana celular puede verse dañada, con pérdida de contenido y lisis de la célula. El suero de todos los individuos contiene complemento, y la mayoría de los antígenos unidos a anticuerpos de las clases IgG o IgM pueden unir complemento (Tabla 29.2).

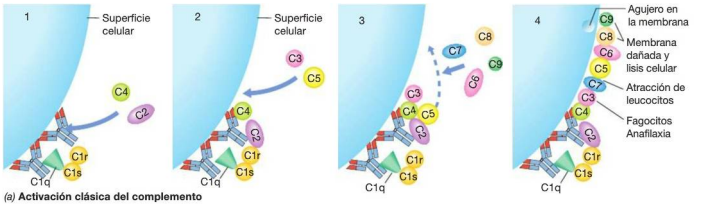
Las proteínas individuales del complemento se designan como C1, C2, C3 y así sucesivamente. La activación clásica del complemento ocurre cuando los anticuerpos IgG o IgM unen antígenos, especialmente sobre superficies celulares. Se dice que los anticuerpos *fijan* (unen) las omnipresentes proteínas del complemento. Las proteínas del complemento reaccionan según una secuencia definida, de modo que la activación de un componente del complemento conduce a la activación del siguiente, y así sucesivamente (**Figura 29.22**). Las etapas claves comienzan con (1) la unión del anticuerpo al antígeno (inicio); (2) unión de los componentes de C1 (C1q, C1r y C1s) a los complejos antígeno-anticuerpo, conduciendo a la unión de C4-C2 a un sitio adyacente en la membrana y a la activación y unión de C3; (3) C3 unido a la membrana cataliza la formación de un complejo C5-C6-C7 en un segundo sitio en la membrana, y C8 y C9 se depositan entonces con el complejo C5-C6-C7, lo que causa daño en la membrana y lisis celular (**Figura 29.23**). Los componentes C5-9, denominados *complejo de ataque a membrana* (*MAC*, del inglés *membrane attack complex*), se insertan en la membrana para formar un poro.

Entre los subproductos de la activación del complemento hay quimioatrayentes llamados anafilotoxinas, que causan reacciones inflamatorias en el sitio de deposición del complemento. Por ejemplo, C3 se fragmenta originando C3a y C3b. C3b se fija a la célula diana, como se esquematiza arriba. El fragmento C3a se libera en el medio, donde causa atracción quimiotáctica y activación de los fagocitos, lo que tiene como resultado una fagocitosis incrementada. Las reacciones que liberan el fragmento C5a conducen a la atracción de células T y la liberación de citocinas.

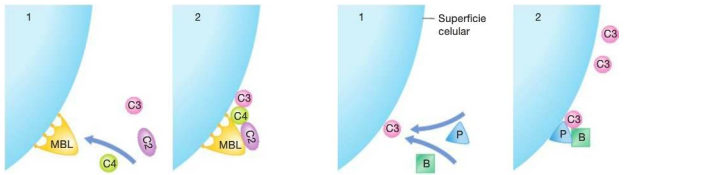
Cuando se activa por anticuerpos específicos, el complemento lisa muchas bacterias gramnegativas. Las bacterias grampositivas, por su parte, no mueren como consecuencia de la activación del complemento por anticuerpos específicos. Las bacterias grampositivas pueden, sin embargo, ser destruidas a través de un proceso conocido como opsonización.

Opsonización

Una célula bacteriana tiene más probabilidades de ser fagocitada cuando un anticuerpo se une a un antígeno en su superficie. Si el complemento se une a un complejo

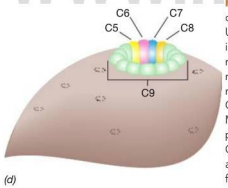


(a) **Activación clásica del complemento**



(b) **Vía de activación de la lectina que une mananos (MBL)** *(c)* **Vía alternativa de activación**

www.medilibros.com



(d)

Figura 29.22 **Activación del complemento.** *(a)* Secuencia, orientación y actividad de los componentes de la vía clásica del complemento que interaccionan para lisar una célula. 1. Unión del anticuerpo y del complejo de la proteína C1 (C1q, C1r y C1s). 2. El complejo C42 interacciona con C3. 3. El complejo C423 activa a C5 que se une a un sitio adyacente de la membrana. 4. Unión secuencial de C6, C7, C8 y C9 a C5 para producir un poro en la membrana. C5-9 es el complejo de ataque a membrana (MAC). *(b)* Vía de la lectina que une manano (MBL). MBL se une a la manosa de la membrana bacteriana e inicia la formación de C423. C3 unida a la membrana activa a C5, como en el caso anterior, e inicia la formación de MAC. *(c)* Vía alternativa. C3 unido a la célula atrae a la proteína B. El complejo C3B es posteriormente estabilizado en la membrana por el factor P (properdina). C3B actúa sobre C3 en la sangre, haciendo que se una a la membrana mas C3. El C3 unido activa C5, como anteriormente, y se inicia la formación del MAC. *(d)* Una visión esquemática del poro formado por los componentes del complemento C5 hasta C9.

antígeno-anticuerpo sobre la superficie celular, hay aún más probabilidades de que la célula sea ingerida. Esto es porque la mayoría de los fagocitos, incluyendo los neutrófilos, macrófagos y células B, tienen receptores para anticuerpos (FcR) así como receptores para C3 (C3R). Estos receptores unen el dominio constante del anticuerpo y la proteína C3 del complemento, respectivamente. El proceso fagocítico normal se ve potenciado unas diez veces por la unión de anticuerpos y amplificado otras diez veces por la unión de C3. Esta potenciación de la fagocitosis por unión de anticuerpos o complemento se denomina *opsonización*.

Los anticuerpos unidos a antígenos de la superficie sobre bacterias grampositivas activan la vía clásica del complemento y promueven la opsonización, incrementando la fagocitosis y la destrucción del patógeno.

Activación del complemento por la lectina que une mananos y por la vía alternativa

Otra forma de activación del sistema del complemento es a través de la vía de la lectina que une mananos (MBL, del inglés *mannan-binding lectin*). Esta vía depende de la actividad de la proteína sérica MBL que une polisacáridos que contienen manosa, presentes solo en las superficies de las células bacterianas (Figura 29.22*b*). El complejo MBL-polisacárido se asemeja a los complejos de C1 de la vía clásica del complemento y fija los componentes C4, C2 y C3 a la superficie celular, catalizando también

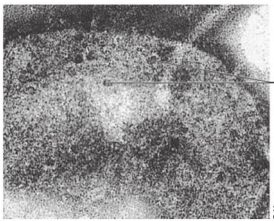


Figura 29.23 Actividad del complemento sobre células bacterianas. Se muestra una micrografía electrónica de *Salmonella paratyphi*. La tinción negativa de la preparación permite observar los agujeros creados en la cubierta de la célula bacteriana como resultado de una reacción que implica antígenos de la envoltura celular, anticuerpos específicos y complemento.

la formación del MAC y conduciendo a la lisis u opsonización de la célula bacteriana.

La vía alternativa es un mecanismo no específico de activación del complemento que usa muchos de los componentes de la vía clásica del complemento y varias proteínas séricas no pertenecientes a esta vía. Juntos, inducen opsonización y activan el MAC. El primer paso de la vía alternativa de activación es la unión de C3 a la superficie de la célula bacteriana. Una vez en la membrana, C3 puede unirse a la proteína sérica de la vía alternativa denominada factor B. El factor P, o properdina, se une a C3B para formar el complejo C3BP, muy estable, fijado en la superficie celular (Figura 29.22*c*). C3BP atrae más C3, que se deposita en la membrana, iniciando la misma reacción que el complejo C423 de vía clásica del complemento. El resultado es la formación del MAC C5-9 y la destrucción celular. El C3 fijado en la superficie de la célula por la vía alternativa también puede facilitar la fagocitosis por opsonización mediante los receptores para C3 de los fagocitos.

Tanto la vía alternativa como la vía de MBL marcan de forma no específica a los invasores bacterianos y conducen a la activación del complejo de ataque a membrana y a la opsonización. La properdina, MBL y proteínas del complemento forman parte del sistema de inmunidad innata. Ni la vía alternativa ni la de MBL requieren una exposición previa al antígeno o la presencia de anticuerpos para su activación. A través de las vías alternativa y de MBL, C3 desencadena la formación del MAC C5-9 o la opsonización mediante los receptores para C3 de los fagocitos.

29.11 Minirrevisión

El sistema del complemento cataliza la destrucción de células bacterianas y su opsonización. El complemento se desencadena por interacciones con anticuerpos o por interacciones con activadores inespecíficos como la lectina que une mananos. El complemento es un sistema efector crítico en la defensa del hospedador tanto innata como adaptativa.

- ¿Qué clases de anticuerpos fijan el complemento?
- Identifique los componentes del complemento que promueven la opsonización y los que inducen lisis celular.

www.elibros.com

Glosario de términos

Anticuerpo: una proteína soluble, producida por células B diferenciadas, que interacciona específicamente con el antígeno; también se le llama inmunoglobulina.

Antígeno: una molécula capaz de interaccionar con componentes específicos del sistema inmunitario.

Célula asesina natural (NK): un linfocito especializado que reconoce y destruye células extrañas o células del hospedador infectadas de forma no específica.

Célula B: un linfocito que tiene receptores de superficie inmunoglobulínicos, se diferencia a plasmocito, produce inmunoglobulinas y puede presentar antígenos a las células T.

Células B memoria: células de larga vida que responden a antígenos individuales.

Célula presentadora de antígenos (APC): un macrófago, célula dendrítica o célula B que presenta péptidos antigénicos procesados a una célula T.

Célula T: linfocito responsable de interacciones celulares específicas de antígeno en la respuesta inmunitaria adaptativa.

Células T cooperadoras (T_H): linfocitos que interaccionan con complejos MHC-péptido a través de su receptor de células T (TCR).

Citocina: un modulador soluble de la respuesta inmunitaria producido por leucocitos.

Complejo principal de histocompatibilidad (MHC): un complejo genético responsable de codificar varias proteínas de la superficie celular importantes en la presentación antigénica.

Complemento: una serie de proteínas que reaccionan de forma secuencial con complejos antígeno-anticuerpo, lectina que une manosa, o proteínas de

activación de la vía alternativa para amplificar o potenciar la destrucción de células diana.

Determinante antigénico (epítope): la porción del antígeno que reacciona con un anticuerpo específico o un receptor de células T.

Dominio: una región de una proteína que tiene una estructura y función definidas.

Especificidad: la capacidad de la respuesta inmunitaria para interaccionar con antígenos individuales.

Estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP): un componente estructural único que se repite en microbios o virus y que es reconocido por una molécula de reconocimiento de estructuras.

Fagocito: una célula que reconoce, ingiere y degrada patógenos y productos de patógenos.

Hapteno: una molécula de bajo peso molecular que se combina con anticuerpos específicos pero que por sí sola es incapaz de inducir una respuesta inmunitaria.

Inflamación: una reacción no específica frente a estímulos nocivos como toxinas y patógenos, caracterizada por enrojecimiento (eritema), hinchazón (edema), dolor y calor, usualmente localizada en el sitio de infección.

Inmunidad: capacidad del organismo para resistir la infección.

Inmunidad adaptativa: la capacidad adquirida para reconocer y destruir un patógeno individual o sus productos que depende de una exposición previa al patógeno.

Inmunidad innata: la capacidad no inducible para reconocer y destruir un patógeno o sus productos que no depende de una exposición previa al patógeno o sus productos.

Inmunidad mediada por anticuerpos (inmunidad humoral): la inmunidad que resulta de la acción de los anticuerpos.

Inmunidad mediada por células: inmunidad resultante de la acción de células T específicas para el antígeno.

Inmunógeno: una molécula capaz de inducir una respuesta inmune.

Inmunoglobulina (Ig): una proteína soluble producida por células B y plasmocitos que interacciona con antígenos; también llamada anticuerpo.

Interleucina (IL): una citocina o quimiocina soluble secretada por leucocitos.

Leucocito: (célula blanca de la sangre) una célula nucleada presente en la sangre.

Linfocito: un leucocito activo en la respuesta inmunitaria adaptativa.

Médula ósea: un órgano linfoide primario que contiene células pluripotenciales precursoras de todas las células de la sangre y la inmunidad.

Memoria inmunológica: la capacidad para responder más rápida y vigorosamente a una segunda y subsiguientes exposiciones a un antígeno inductor.

Moléculas que reconocen estructuras (PRM): una proteína unida a la membrana que reconoce una estructura molecular asociada a patógenos.

Neutrófilo (leucocito polimorfonuclear o PMN): un tipo de leucocito con propiedades fagocíticas, citoplasma granular (granulocito) y núcleo multilobulado.

Organos linfoides primarios: un órgano en el cual los precursores de las células linfoides se desarrollan en linfocitos maduros.

Plasma: la porción líquida de la sangre una vez que se han eliminado las células y se han inactivado las proteínas de coagulación.

Plasmocito: una célula B diferenciada que produce grandes cantidades de anticuerpos.

Proteína MHC de clase I: molécula presentadora de antígeno presente en todas las células nucleadas de los vertebrados.

Proteína MHC de clase II: molécula presentadora de antígeno presente en macrófagos, células dendríticas y células B.

Receptor de células T (TCR): proteína receptora específica de antígeno en la superficie de las células T.

Receptor tipo Toll (TLR): una molécula de reconocimiento de estructuras presente en fagocitos que reconoce estructuras moleculares asociadas a patógenos.

Respuesta primaria de anticuerpos: anticuerpos producidos después de la exposición inicial a un antígeno; principalmente pertenecen a la clase IgM.

Respuesta secundaria de anticuerpos: anticuerpos producidos en subsiguientes exposiciones al antígeno; principalmente pertenecen a la clase IgG.

Suero: la porción líquida de la sangre cuando las proteínas de coagulación y las células han sido eliminadas.

Timo: el órgano linfoide primario responsable del desarrollo de las células T.

Tolerancia: incapacidad para producir una respuesta inmune frente a antígenos específicos.

www.medicalibros.com

Preguntas de repaso

1. ¿Cuál es el origen de las células fagocíticas y específicas de antígeno implicadas en la respuesta inmunitaria? Describa la maduración de las células B y T (Sección 29.1).
2. Identifique algunas estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP) que son reconocidas por moléculas que reconocen estructuras (PRM). ¿Cuál es la significación de las interacciones entre estas moléculas (Sección 29.2)?
3. Explique cómo las células fagocíticas ingieren y matan microorganismos, con atención particular a los mecanismos dependientes de oxígeno (Sección 29.3).
4. Identifique las características más importantes de la respuesta inmune adaptativa (Sección 29.4).
5. ¿Qué moléculas inducen respuestas inmunitarias? ¿Qué propiedades son necesarias para que una molécula induzca una respuesta inmunitaria (Sección 29.5)?
6. Describa la estructura básica de las proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) de clases I y II. ¿Qué diferencias funcionales hay entre ellas (Sección 29.6)?
7. Diferencie las células T_C de las NK. ¿Cuál es la señal de activación para cada tipo de célula (Sección 29.7)?

8. ¿En qué se diferencian las células T_H de las células T_C? Distinga entre los papeles funcionales de las células T_H1 y T_H2 (Sección 29.8).
9. Describa las diferencias estructurales y funcionales entre las cinco clases principales de anticuerpos (Sección 29.9).
10. Identifique las interacciones celulares implicadas en la producción de anticuerpos por las células B (Sección 29.10).
11. Describa la cascada del complemento. ¿Es importante el orden de interacción de las proteínas? ¿Por qué o por qué no? Identifique los componentes de la vía de activación de la lectina que une mananos. Identifique los componentes de la vía alternativa de activación del complemento (Sección 29.11).

Ejercicios prácticos

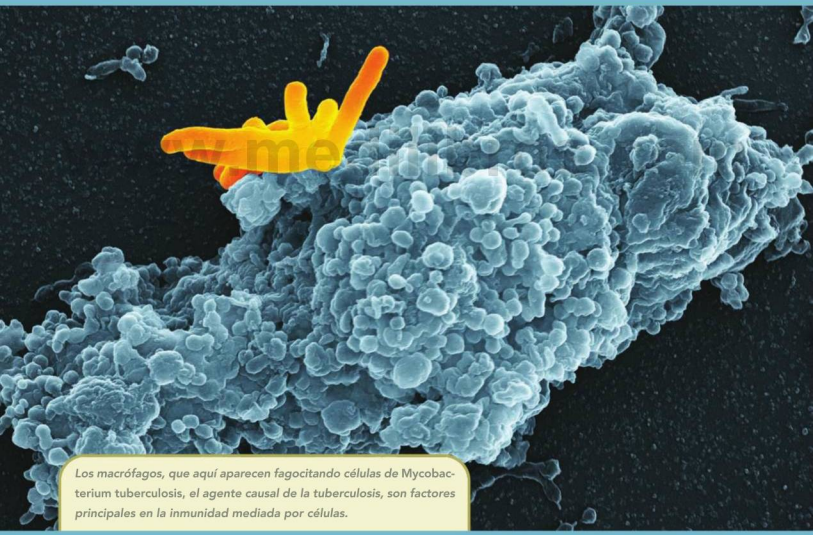
1. Describa los problemas potenciales que podrían aparecer si un individuo tuviese una incapacidad adquirida para fagocitar patógenos. ¿Podría sobrevivir este individuo en un ambiente normal como el campus de una Universidad? ¿Qué defectos del fagocito podrían causar ausencia de fagocitosis? Explíquelo.
2. La especificidad y la tolerancia son cualidades necesarias para una respuesta inmunitaria adaptativa. Sin embargo, la memoria parece ser menos importante, al menos a primera vista. Defina el papel de la memoria inmunitaria y explique como la producción y el mantenimiento de células memoria puede beneficiar al hospedador a largo plazo.
3. Describa los problemas potenciales que podrían ocurrir si un individuo tuviese una deficiencia hereditaria que causase incapacidad para presentar antígenos a las células TC. ¿Y a las células TH1? ¿Y a las células TH2? ¿Y a todas las células T? ¿Qué moléculas podrían ser deficientes en cada uno de estos individuos? ¿Podría alguno de estos individuos sobrevivir en un ambiente normal? Explíquelo.
4. Los anticuerpos de la clase IgA son probablemente más prevalentes que los de clase IgG. Explique por qué es esto cierto y que ventajas puede aportar al hospedador.
5. El complemento es crucial en los mecanismos de defensa humoral. ¿Está usted de acuerdo con esta afirmación? Explique su respuesta. ¿Qué podría ocurrirle a un individuo que careciese del componente C3 del complemento? ¿Y de C5? ¿Y de properdina (vía alternativa)? ¿Y de la lectina que une mananos (MBL)?

www.medilibros.com

30

La inmunidad en la defensa del hospedador y en la enfermedad

I INMUNIDAD Y DEFENSA DEL HOSPEDADOR 965
30.1 Inmunidad innata 965
30.2 Inmunidad adaptativa y células T 966
30.3 Inmunidad adaptativa y anticuerpos 968
II INMUNIDAD Y PREVENCIÓN DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS 969
30.4 Inmunidad natural 969
30.5 Inmunidad artificial e inmunización 970
30.6 Nuevas estrategias de inmunización 973
III ENFERMEDADES DE LA RESPUESTA INMUNITARIA 974
30.7 Alergia, hipersensibilidad y autoinmunidad 976
30.8 Superantígenos 979



Los macrófagos, que aquí aparecen fagocitando células de Mycobacterium tuberculosis, *el agente causal de la tuberculosis, son factores principales en la inmunidad mediada por células.*

La inmunidad es la capacidad para resistir la infección. Hemos discutido las características básicas de la inmunidad en el Capítulo 29. Aquí revisamos brevemente los principios de la inmunidad y discutimos la protección conferida por la inmunidad frente a patógenos. Luego nos centraremos en la manipulación de la respuesta inmunitaria a través de la inmunización. Concluiremos resaltando los mecanismos inmunitarios que pueden conducir a la enfermedad.

I INMUNIDAD Y DEFENSA DEL HOSPEDADOR

Empezamos examinando las células y las moléculas que protegen frente a los patógenos. Consideramos primero la respuesta inmunitaria prefabricada o innata, y extenderemos nuestra discusión para incluir las células y moléculas de la respuesta inmunitaria adquirida o adaptativa.

30.1 Inmunidad innata

Los organismos multicelulares deben reconocer y controlar las infecciones por patógenos. Para alcanzar este control, los eucariotas desde las plantas a los vertebrados han desarrollado esquemas de reconocimiento molecular que conducen a una rápida y eficaz activación de las defensas del hospedador. Estos mecanismos evolutivamente relacionados y conservados se conocen conjuntamente como el sistema inmunitario innato.

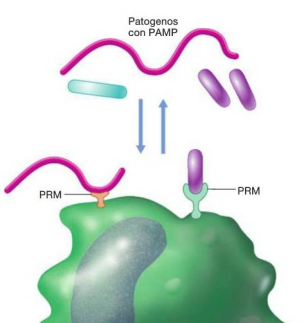


Figura 30.1 **Inmunidad innata.** La exposición a los patógenos estimula la inmunidad innata mediada por fagocitosis. Los fagocitos interaccionan con los patógenos mediante el reconocimiento de estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP) por moléculas de reconocimiento de patógenos (PRM) preformadas. Las interacciones activan a los fagocitos para ingerir y destruir al patógeno.

La respuesta inmunitaria innata a los patógenos

La **inmunidad innata**, o inmunidad no específica es la capacidad no inducible para reconocer y destruir patógenos individuales o sus productos. Es muy importante considerar que la inmunidad innata no requiere una exposición previa al patógeno o a sus productos. La respuesta inmunitaria innata está mediada por los fagocitos.

Las macromoléculas de los patógenos, especialmente las de la superficie celular, expresan una diversidad de **estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP)**, componentes estructurales de un patógeno, que generalmente consisten en subunidades macromoleculares repetidas. Un ejemplo de PAMP son las subunidades repetidas del lipopolisacárido (LPS) común a las membranas externas de todas las bacterias gramnegativas (*véase* Sección 4.7). Los **leucocitos** (células nucleadas o blancas de la sangre) conocidos como fagocitos tales como **macrófagos** y **neutrófilos** constituyen generalmente la primera línea de defensa frente a los patógenos, especialmente frente a aquellos que el cuerpo nunca había encontrado antes (*véase* Sección 29.1). Los fagocitos interaccionan directamente con PAMP usando receptores preformados llamados **moléculas de reconocimiento de estructuras (PRM)** (**Figura 30.1**). Un mismo PRM presente en todos los fagocitos, por ejemplo, interacciona con el LPS de todas las *Salmonella* spp., de todas las cepas de *Escherichia coli*, y de todas las *Shigella* spp. Estas interacciones activan a los fagocitos para ingerir y destruir los patógenos marcados, en un proceso llamado *fagocitosis* (*véase* Sección 29.2). Una cantidad de PRM diferentes se encuentran en los fagocitos y cada uno de ellos interacciona con un PAMP compartido con distintos patógenos. Además del PRM reactivo para LPS comentado anteriormente, por ejemplo, otro PRM de fagocitos interacciona con el péptidoglicano de células grampositivas. Los PRM preformados están disponibles instantáneamente para conferir reconocimiento inmediato y resistencia a los patógenos invasivos.

La inmunidad innata es una respuesta antigua a la infección. Sabemos que los PRM presentes en vertebrados, por ejemplo, tienen homólogos estructurales y evolutivos en grupos tan distantes filogenéticamente como el insecto *Drosophila*. Sistemas de reconocimiento funcionalmente similares implicados en el reconocimiento por los fagocitos y en la destrucción de los patógenos marcados se encuentran virtualmente en todos los organismos pluricelulares.

30.1 Minirrevisión

La inmunidad innata es una respuesta protectora natural frente a la infección caracterizada por el reconocimiento de estructuras moleculares asociada a patógenos. Los fagocitos reconocen estas estructuras a través de moléculas preformadas para el reconocimiento de patógenos. La interacción de las estructuras moleculares asociadas a patógenos con las moléculas de reconocimiento de estructuras estimula a los fagocitos para destruir a los patógenos.

- Identifique una estructura molecular asociada a patógenos compartida por un grupo de microorganismos.
- Identifique los grupos de organismos que usan mecanismos de reconocimiento de estructuras para aportar inmunidad innata a patógenos.

30.2 Inmunidad adaptativa y células T

En los animales vertebrados, los fagocitos responsables de la respuesta innata también inician la inmunidad *adaptativa*. La inmunidad adaptativa o específica de antígeno incluye la producción de gran cantidad de receptores específicos de patógenos solamente después de la exposición al patógeno o sus productos. Las células T son las células específicas de patógenos que dirigen la respuesta inmunitaria adaptativa.

Inmunidad adaptativa

La inmunidad adaptativa o específica de antígeno es la capacidad adquirida para reconocer y destruir un patógeno individual. Una respuesta inmunitaria adaptativa altamente específica se desarrolla solamente después de la exposición al patógeno o sus productos. La inmunidad adaptativa se dirige hacia un componente molecular individual del patógeno, llamado **antígeno**.

No existe inmunidad adaptativa efectiva antes de la exposición a un antígeno, pero después de la primera exposición, ocurre una respuesta inmunitaria *primaria*, caracterizada por la estimulación de leucocitos inmunitarios que responden al antígeno, llamados **linfocitos**. Estos linfocitos se dividen en dos poblaciones llamadas **células T** y **células B**. Cada linfocito produce una proteína única que interacciona con un antígeno único y, por tanto, tiene **especificidad** por ese antígeno. Las proteínas únicas de las células T son los **receptores de células T (TCR)** y las de células B son **anticuerpos** o **inmunoglobulinas (Igs)**. Después del contacto con el antígeno, los linfocitos que reaccionan con el antígeno crecen y se multiplican para producir **clones**, copias múltiples de linfocitos que responden el antígeno, algunos de los cuales pueden persistir durante años y conferir inmunidad específica de larga duración.

En comparación con la inmunidad innata, la respuesta inmunitaria adaptativa se induce sólo cuando se desencadena, por ejemplo, por el componente polisacarídico individual de un LPS gramnegativo particular. Por tanto, un clon individual de linfocitos puede interaccionar con un LPS constitutivo de *Salmonella*, pero no interacciona con LPS de *Escherichia coli* o de *Shigella* spp. ya que estos organismos tienen distintos azúcares terminales en su polisacárido. Una segunda exposición al mismo antígeno activa los clones ya expandidos de células que responden al antígeno para generar más rápidamente una respuesta inmune muy potente que alcanza su máximo en unos pocos días (*véase* Sección 29.10). La célula T y los anticuerpos producto de esta respuesta inmunitaria secundaria marcan rápidamente al patógeno para su destrucción. Por tanto, la respuesta de inmunidad adaptativa tiene **memoria**, caracterizada por este rápido incremento de la inmunidad. Finalmente, el sistema inmunitario adaptativo exhibe **tolerancia**, la *incapacidad* adquirida para hacer una respuesta inmunitaria dirigida frente a autoantígenos. La tolerancia asegura que la inmunidad adaptativa se dirige hacia agentes extraños que representan una auténtica amenaza para el hospedador, y no hacia las proteínas del hospedador.

Las células T y la presentación de antígenos

La inmunidad adaptativa comienza con la interacción de los linfocitos T inmunes (células T) con antígenos en las células infectadas. Las células infectadas que son reconocidas primero por las células T pueden incluir a los mismos fagocitos que se implicaron en la respuesta de inmunidad innata (**Figura 30.2**). La célula T, con su TCR, puede reconocer antígenos sobre las superficies de células del hospedador solamente cuando estos antígenos son presentados por proteínas propias conocidas como **proteínas del complejo principal de histocompatibilidad (MHC)**. Dentro de los fagocitos, las proteínas MHC interaccionan con pequeños péptidos derivados de los patógenos digeridos. Los péptidos asociados a MHC son trasportados a la superficie del fagocito, donde el complejo es presentado, un proceso denominado *presentación de antígenos* (*véase* Sección 29.6). Por ejemplo, un fagocito infectado con el virus de la gripe presentará proteínas MHC asociadas a péptidos de la gripe. Estos complejos MHC-péptido son las dianas para las células T.

Todas las células del hospedador presentan proteínas MHC I, y varios fagocitos especializados, llamados *células presentadoras de antígenos (APC)*, también exhiben una proteína presentadora de antígenos adicional, MHC II. Las APC incluyen macrófagos, células dendríticas y células B. Las APC se localizan en bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide asociado a mucosas, que son los sitios anatómicos donde se inicia la respuesta inmunitaria adaptativa (*véase* Sección 29.1). Las APC se caracterizan por su capacidad para ingerir bacterias, virus y otros materiales antigénicos por fagocitosis (macrófagos y células dendríticas) o a través de la internalización de un antígeno molecular unido a un receptor de superficie (células

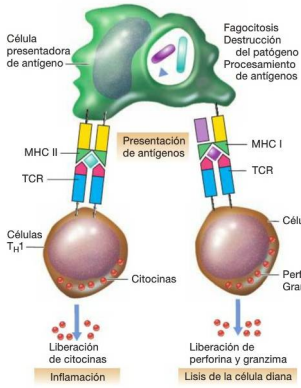


Figura 30.2 Inmunidad de células T. Las células presentadoras de antígenos, como los fagocitos de la inmunidad innata, ingieren, degradan y procesan antígenos. Presentan los antígenos a las células T que activan la respuesta de inmunidad adaptativa. Las células T que responden al antígeno incluyen células T inflamatorias (T_H1) células T citotóxicas (T_C).

B). Después de la ingestión, las APC degradan los antígenos a péptidos pequeños y presentan los péptidos con MHC en la superficie celular.

Subpoblaciones de linfocitos T

Las células T interaccionan con el complejo péptido-MHC utilizando el receptor de superficie de la célula T (TCR). Cada célula T expresa un TCR que es específico para complejos MHC con un péptido determinado. Las células T específicas de antígeno, presentes en el bazo, ganglios linfáticos y tejido linfoide asociado a mucosas, están constantemente examinando a las células de su entorno en busca de complejos péptido-MHC. Los complejos péptido-MHC que interaccionan con el TCR envían una señal a la célula T para que crezca y se divida, produciendo clones que responden al antígeno. Estos clones reactivos para el antígeno consisten en tres subpoblaciones diferentes de células T, según sus propiedades funcionales. Estas subpoblaciones de células T interaccionan con otras células para iniciar las reacciones inmunitarias.

Las *células T citotóxicas (T_C)* reconocen el antígeno presentado por una proteína MHC I sobre una célula infectada. Cuando las células T_C interaccionan con las células infectadas, secretan perforinas y granzimas, proteínas que matan a la célula infectada portadora de antígenos (Figuras 30.2 y 29.12).

Las *células T cooperadoras (T_H)* interaccionan con complejos péptido-MHC II sobre la superficie de células presentadoras de antígenos (*véase* Figura 29.12). Esta interacción causa la diferenciación de las células T_H en dos subpoblaciones que median indirectamente reacciones inmunitarias. Estas subpoblaciones de células T activadas por antígenos, llamadas T_H1 y T_H2, responden proliferando y produciendo proteínas solubles llamadas **citocinas**. Las citocinas activan a otros tipos celulares para iniciar una respuesta inmunitaria.

Las células T_H1 específicas de antígeno, una vez diferenciadas, interaccionan con complejos péptido-MHC II sobre la superficie de los macrófagos (Figura 30.2). Esta interacción estimula a las células T_H1 para producir citocinas que activan a los macrófagos, incrementando la fagocitosis de las células portadoras de antígenos y causando reacciones inflamatorias que limitan la diseminación de las infecciones (*véase* Sección 29.8). Por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis* infecta macrófagos y otras células en el pulmón, causando tuberculosis. Los macrófagos activados matan a *M. tuberculosis* dentro de ellos, limitando su diseminación a otras células. Una reacción inflamatoria asociada con *M. tuberculosis* es la *reacción de la tuberculina*, que se usa como una prueba diagnóstica de la exposición a *M. tuberculosis*. Esta prueba utiliza la *tuberculina*, un extracto antigénico de *M. tuberculosis*, para atraer a las células inmunitarias T_H1 que producen citocinas, activando a los macrófagos y causando un área localizada enrojecida, caliente, endurecida e hinchada que tipifica una **inflamación** y, usualmente, una inmunidad eficaz (*véase* Figura 30.6*b* y Sección 34.5).

Las células T_H2 diferenciadas, la otra subpoblación de células T_H, tampoco interaccionan directamente con los patógenos, pero usan citocinas para cooperar (*help*) con las células B que responden a antígenos para que produzcan anticuerpos, como se discute más adelante.

30.2 Minirrevisión

La inmunidad adaptativa se desencadena por la interacción específica de las células T con antígenos presentados por células presentadoras de antígeno. Los péptidos antigénicos son presentados a las células T asociados con proteínas MHC. Las células T citotóxicas, o T_C, matan directamente a las células portadoras de antígenos. Las células T cooperadoras actúan a través de citocinas para promover reacciones inmunitarias. Las células T_H1 inician la inflamación y la inmunidad mediante activación de los macrófagos.

- Explique el proceso de presentación de antígeno a las células T.
- Defina el papel de las células T_C y T_H1 en la inmunidad adaptativa.

UNIDAD 7

30.3 Inmunidad adaptativa y anticuerpos

Los anticuerpos o inmunoglobulinas son proteínas solubles fabricadas por las células B en respuesta a la exposición a antígenos extraños que son parte de los patógenos o producidos por ellos. Cada anticuerpo se une específicamente a un antígeno único. La inmunidad mediada por anticuerpos controla la diseminación de la infección a través del reconocimiento de patógenos y sus productos en ambientes extracelulares como la sangre o las secreciones mucosas.

Los anticuerpos son producidos por linfocitos especializados llamados células B. Las células B tienen anticuerpos prefabricados en su superficie, y cada célula B presenta múltiples copias de un único anticuerpo que es específico para un único antígeno. Para producir más anticuerpos, las células B deben primero unir antígenos a través de las interacciones con los anticuerpos de superficie. Las interacciones del antígeno con el anticuerpo de superficie inducen a la célula B a ingerir por fagocitosis al patógeno que contiene el antígeno. La célula B mata y digiere al patógeno, produciendo una batería de péptidos antigénicos derivados del patógeno. Finalmente, estos antígenos son presentados a las células T_H2 específicas de antígeno (**Figura 30.3** y Sección 29.6).

Las células T_H2 no interaccionan directamente con el patógeno, sino que estimulan a («cooperan con») otras células, en este caso, las células B que responden al antígeno. Las células T_H2 producen citocinas que estimulan a las células B, las cuales a su vez responden creciendo y dividiéndose, estableciendo clones de la célula B original que respondió al antígeno. Estas células B activadas se diferencian entonces en **plasmocitos** que producen anticuerpos solubles (Figura 30.3 y Sección 29.10). Esta respuesta inicial de anticuerpos, conocida como **respuesta primaria de anticuerpos**, se detecta generalmente en cinco días, y los anticuerpos alcanzan su cantidad máxima en varias semanas. Posteriores exposiciones al mismo antígeno, por ejemplo por reinfección con el mismo patógeno, inducen una **respuesta secundaria de anticuerpos** o respuesta de memoria, caracterizada por un rápido desarrollo de grandes cantidades de anticuerpos (*véase* Figura 29.21). La respuesta primaria se caracteriza por la producción de anticuerpos de la clase IgM, mientras la respuesta secundaria se caracteriza por la producción de IgG.

Las distintas clases de anticuerpos se diferencian entre sí por sus secuencias primarias de aminoácidos. Cada clase de anticuerpos tiene una función general determinada. La IgM y la IgG se encuentran en sangre. La IgA está presente en las secreciones de las superficies mucosas, como los pulmones y el intestino, y la IgE está implicada en la inmunidad a parásitos y las alergias.

Los anticuerpos liberados por los plasmocitos interaccionan con el antígeno en los patógenos. Sin embargo, esta interacción no mata directamente al patógeno, sino que lo marca para su destrucción por fagocitosis. Los fagocitos tienen receptores para los anticuerpos, llamados *receptores para Fc*, que unen a cualquier anticuerpo unido a un antígeno. Esta interacción tiene como resultado una facilitación de la fagocitosis de las células sensibilizadas por los anticuerpos, un proceso conocido como *opsonización*.

La destrucción también puede estar mediada por un grupo de proteínas colectivamente denominadas *complemento* (*véase* Sección 29.11). Las proteínas del complemento se unen a los anticuerpos de clase IgM o IgG unidos al patógeno. Las proteínas del complemento, concentradas por el anticuerpo en la superficie celular, tienen dos posibles efectos sobre el patógeno. Primero, las proteínas del complemento pueden formar un poro en la membrana del patógeno, lisando directamente to-

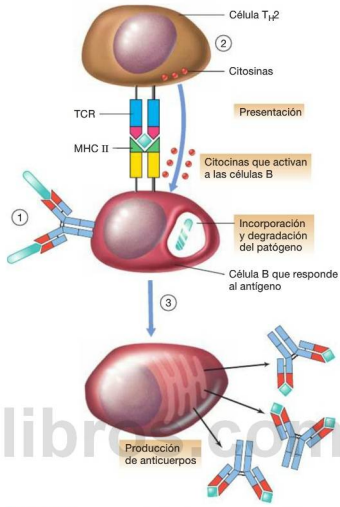


Figura 30.3 Inmunidad mediada por anticuerpos. (1) Los anticuerpos sobre la célula B unen al patógeno. La célula B ingiere, degrada y procesa al patógeno. (2) La célula B presenta antígenos del patógeno a la célula T_H2, activando la producción de citocinas que, a su vez, influyen en la célula B para que se diferencia en plasmocito. (3) Los plasmocitos producen anticuerpos.

das las células a las que se hayan unido complejos antígeno-anticuerpo (*véase* Figura 29.22). Estas interacciones del complemento y los anticuerpos afectan solamente a células que hayan unido anticuerpos. Por ejemplo, los anticuerpos específicos para proteínas de la superficie celular de *Salmonella* sp. interaccionan solamente con *Salmonella*, y el complemento causa la lisis de una célula de *Salmonella* sensibilizada con anticuerpos, pero no de un *Escherichia coli* próximo que no ha sido sensibilizado por anticuerpos.

Muchos patógenos, como los *Streptococcus* spp. grampositivos de pared celular gruesa, son resistentes a la lisis mediada por complemento porque la pared celular hace que la membrana sea menos accesible a las proteínas del complemento. Sin embargo, los anticuerpos frente a componentes de la pared celular pueden fijar proteínas del complemento, las cuales se unen posteriormente a receptores para complemento situados en la superficie de fagocitos como neutrófilos y macrófagos. La interacción resultante es un incremento de la opsonización y de la fagocitosis de las células sensibilizadas con anticuerpos y complemento (*véase* Sección 29.11).

La respuesta de anticuerpos es altamente específica para el antígeno inductor. Los anticuerpos interaccionan con los antígenos, desencadenando la lisis y fagocitosis de los patógenos a través de la opsonización y la unión del complemento.

www.medil

30.3 Minirrevisión

Las células T_H2 estimulan a las células B expuestas al antígeno para que se diferencien en plasmocitos. Los plasmocitos producen anticuerpos. Los anticuerpos son proteínas solubles, específicas para antígenos, e interaccionan con antígenos. Los anticuerpos aportan dianas para la interacción con las proteínas del sistema del complemento, lo que tiene como resultado la destrucción de los antígenos mediante lisis u opsonización.

- Explique el proceso de producción de anticuerpos empezando con la interacción del patógeno con una célula B.
- Defina el papel del anticuerpo y el complemento en la destrucción del patógeno.

II INMUNIDAD Y PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

La inmunidad generada por la exposición natural a los patógenos es ciertamente una forma eficaz de resistir a las reinfecciones. Sin embargo, nuestro conocimiento de la respuesta inmunitaria ha hecho posible instaurar la inmunidad por medios artificiales, evitando por tanto la necesidad de la infección natural para inducir inmunidad. Actualmente podemos inducir, de forma segura, respuestas de inmunidad adaptativa frente a varios patógenos y sus productos. La inmunización artificial persiste como nuestra mejor arma frente a muchas enfermedades infecciosas.

30.4 Inmunidad natural

Las respuestas de inmunidad tanto innata como adaptativa protegen al hospedador de infecciones por patógenos, y ambos tipos de inmunidad son esenciales para sobrevivir. Por ejemplo, los individuos con defectos genéticos que impiden el desarrollo de neutrófilos o macrófagos producen fagocitos no funcionales que no pueden ingerir ni destruir patógenos. Estos fagocitos carecen de capacidad para la inmunidad innata y los individuos con este defecto no pueden sobrevivir sin intervenciones extraordinarias como el aislamiento a toda exposición ambiental. En un ambiente normal, desarrollan infecciones recurrentes por bacterias, virus y hongos y mueren a edad temprana. Los individuos que carecen de inmunidad adaptativa tienen los mismos problemas, como se discute ahora.

Inmunidad adaptativa y prevención de enfermedades infecciosas

Los animales normalmente desarrollan *inmunidad natural activa* como consecuencia de una infección natural que inicia una respuesta de inmunidad adaptativa. La inmunidad activa natural es consecuencia de la exposición a antígenos a través de la infección y usualmente tiene como resultado una inmunidad protectora conferida por anticuerpos y células T.

La importancia de la inmunidad activa en la resistencia a la enfermedad se demuestra dramáticamente en los individuos que, ya sea por defecto genético o por infección, están inmunocomprometidos. Por ejemplo, la *agammaglobulinemia* es una enfermedad en la cual los enfermos no pueden producir anticuerpos por un fallo genético en sus células B. Estos individuos sufren infecciones bacterianas recurrentes, que ponen en peligro sus vidas, pero desarrollan respuestas inmunitarias normales frente a los virus. Por tanto, la inmunidad mediada por anticuerpos es esencial para la protección frente a patógenos extracelulares, especialmente bacterias.

Los individuos con el síndrome de DiGeorge, un defecto del desarrollo que impide la maduración del timo e inhibe la producción de células T maduras, sufren graves infecciones recurrentes por virus y otros patógenos intracelulares. Por tanto, los problemas de inmunodeficiencia de células T vistos en el síndrome de DiGeorge definen el papel protector esencial de la inmunidad por células T: protección frente a patógenos intracelulares.

Una ausencia general de respuesta inmunitaria adaptativa se observa también en los enfermos con *síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)*. En los enfermos de SIDA, la infección con el virus de la inmunodeficiencia

humana (VIH), si no se controla, puede causar la pérdida de casi todas las células T_H, con ausencia de inmunidad eficaz tanto de anticuerpos (células B) como celular (células T). Estos individuos sufren infecciones graves y repetidas por virus, bacterias y hongos. La muerte en el SIDA es típicamente causada por infecciones secundarias por uno o más patógenos oportunistas (*véase* Sección 34.15).

En casos especiales, hay también *inmunidad natural pasiva*. Por ejemplo, durante varios meses después del nacimiento, los recién nacidos tienen en su sangre anticuerpos IgG maternos, que se transfieren a través de la placenta antes del nacimiento. Los anticuerpos IgA también se transfieren con la leche materna. Estos anticuerpos que protegen al niño se fabricaron en la madre, de ahí que se designen como anticuerpos pasivos. Estos anticuerpos preformados suministran protección frente a las enfermedades mientras madura el sistema inmune del recién nacido. Las inmunidades activa y pasiva se contrastan en la **Tabla 30.1.**

9.1 Minirrevisión

Las respuestas de inmunidad innata y adaptativa son necesarias para sobrevivir. La carencia de inmunidad innata tiene como consecuencia la muerte por infecciones recurrentes, incontrolables. La inmunidad adaptativa se desarrolla natural y activamente a través de respuestas inmunitarias frente a infecciones, o natural y pasivamente mediante anticuerpos transferidos a través de la placenta o de la leche materna.

- Describa los efectos de la carencia de inmunidad innata.
- Describa los efectos de la carencia de inmunidad por células T y por células B.

30.5 Inmunidad artificial e inmunización

La inducción artificial de inmunidad frente a enfermedades infecciosas individuales constituye un arma principal para el tratamiento y prevención de estas enfermedades. Hay dos caminos por los que se puede inducir inmunidad artificial. Un individuo puede ser expuesto deliberadamente a dosis controladas de un antígeno inocuo para inducir la formación de anticuerpos, un tipo de inmunidad denominada *inmunidad artificial activa*, porque el individuo produce los anticuerpos. Este proceso se conoce comúnmente como **vacunación**. Alternativamente, un individuo puede recibir inyecciones de un *antisuero* (un suero que contiene anticuerpos, procedente de la sangre de un individuo inmune) o anticuerpos purificados (inmunoglobulina o gamma globulina) derivados de un individuo inmune. Esto se denomina *inmunidad artificial pasiva* porque el individuo que recibe los anticuerpos no ha jugado un papel activo en su producción.

En la inmunidad activa, la introducción de un antígeno induce cambios en el hospedador: el sistema inmune produce grandes cantidades de anticuerpos y células T en la respuesta primaria. Una segunda dosis del mismo antígeno (reinmunización) tiene como resultado una respuesta más rápida con niveles mucho mayores de anticuerpos y células T. Esto se conoce como respuesta inmunitaria secundaria o respuesta de memoria. A menudo la inmunidad activa permanece a lo largo de toda la vida como resultado de la memoria inmunitaria (*véase* Figura 29.21). Un individuo inmunizado pasivamente nunca tiene más anticuerpos que los recibidos en la inyección inicial, y estos anticuerpos van desapareciendo gradualmente del cuerpo. Además, una posterior exposición al antígeno no induce una respuesta secundaria.

Usualmente, la inmunización artificial pasiva es terapéutica. Las células o anticuerpos de un individuo inmune se transfieren a un individuo no inmune para prevenir o curar una enfermedad activa. Por ejemplo, el antisuero tetánico se administra para inmunizar pasivamente a un individuo que se supone ha estado expuesto a *Clostridium tetani* por causa de un trauma como un accidente de coche. Este individuo necesita protección inmunitaria inmediata y no puede esperar durante días o semanas a que una inmunización le produzca inmunidad activa.

La inmunidad artificial activa, como se discute enseguida, se utiliza a menudo como una medida profiláctica

Tabla 30.1 Inmunidad activa y pasiva

Inmunidad activa	*Inmunidad pasiva*
Exposición al antígeno; inmunidad lograda por inyección del antígeno o a través de la infección	No exposición al antígeno; inmunidad lograda por inyección de anticuerpos o células T reactivas de antígeno
Respuesta específica hecha por individuos que quedan inmunizados	Respuesta específica hecha en un hospedador secundario que dona anticuerpos o células T
Sistema inmunitario activado por el antígeno; memoria inmunológica eficaz	No hay activación del sistema inmunitario; no hay memoria inmunológica
La respuesta inmunitaria puede mantenerse por estimulación de las células memoria (por ejemplo inmunización de recuerdo)	La inmunidad no puede mantenerse y decae rápidamente
El estado de inmunidad tarda semanas en aparecer	La inmunidad se desarrolla de inmediato

para proteger a una persona frente a futuros ataques de un patógeno. Por ejemplo, la inmunización con toxoide tetánico inmuniza activamente a los individuos frente a futuros encuentros con la exotoxina de *Clostridium tetani*, pero no constituye una terapia eficaz para la víctima de un trauma en el accidente de coche anterior.

Inmunización

El antígeno o mezcla de antígenos que se utiliza para inducir inmunidad artificial se conoce como **vacuna** o inmunógeno, y el proceso de generación de una respuesta de inmunidad artificial activa es la **inmunización**. La inmunización con una vacuna diseñada para producir inmunidad activa puede introducir riesgos de infección y otras reacciones adversas. Para reducir estos riesgos, los patógenos o sus productos están a menudo inactivados. Por ejemplo, muchos inmunógenos consisten en bacterias patógenas muertas por agentes químicos como el fenol o el formaldehído, o por agentes físicos como el calor. El formaldehído también se utiliza para inactivar virus para vacunas, como la vacuna inactivada de la polio (Sabin). Del mismo modo, la forma activa de muchas exotoxinas no puede ser utilizada como inmunógeno a causa de sus efectos tóxicos. Sin embargo, muchas exotoxinas pueden ser modificadas químicamente para que retengan su antigenicidad pero sin seguir siendo tóxicas. Una exotoxina modificada de esta manera se denomina **toxoide**. Los toxoides pueden administrarse con seguridad en dosis suficientemente grandes como para inducir una inmunidad antitoxina protectora.

Usualmente, la inmunización con células vivas o virus es más eficaz que la inmunización con material muerto o inactivado. A menudo es posible aislar una cepa mutante de un patógeno que ha perdido su virulencia pero retiene sus antígenos inmunizantes; cepas de este tipo se denominan *cepas atenuadas* (*véase* Sección 28.8). Sin embargo, dado que las cepas atenuadas de los patógenos son todavía viables, algunos individuos, especialmente los inmunocomprometidos, pueden adquirir una enfermedad activa causada por el patógeno vivo, atenuado. Ha habido casos graves de enfermedad causada por infecciones adquiridas por vacunación en sujetos inmunocomprometidos, por ejemplo, por vacunas de poliovirus atenuados y de viruela (*véase* Sección 33.11).

Un resumen de las vacunas disponibles para uso humano se presenta en la **Tabla 30.2.** Las vacunas más eficaces son las atenuadas. Las vacunas atenuadas tienden a aportar una inmunidad duradera mediada por células T, así como una vigorosa respuesta de anticuerpos y una fuerte respuesta secundaria tras la reinmunización. Sin embargo, las cepas atenuadas son difíciles de seleccionar, estandarizar y conservar. Usualmente las vacunas vivas tienen un período de conservación limitado y requieren refrigeración para su almacenamiento. Las vacunas de virus muertos, por otra parte, tienden a causar respuestas inmunitarias breves, sin el desarrollo de una respuesta de memoria de larga duración.

Tabla 30.2 Vacunas frente a enfermedades infecciosas en humanos

Enfermedad	*Tipo de vacuna usada*
Enfermedades bacterianas	
Carbunco (antrax)	Toxoide
Difteria	Toxoide
Tétanos	Toxoide
Tos ferina	Bacterias muertas (*Bordetella pertussis*) o proteínas acelulares
Fiebre tifoidea	Bacterias muertas (*Salmonella typhi*)
Fiebre paratifoidea	Bacterias muertas (*Salmonella paratyphi*)
Cólera	Células muertas o extractos celulares (*Vibrio cholerae*)
Peste bubónica	Células muertas o extractos celulares (*Yersinia pestis*)
Tuberculosis	Cepas atenuadas de *Mycobacterium tuberculosis* (BCG)
Meningitis	Polisacárido purificado de *Neisseria meningitidis*
Neumonía bacteriana	Polisacárido purificado de *Streptococcus pneumoniae*
Tifus exantemático	Bacteria muerta (*Rickettsia prowazekii*)
Meningitis por Haemophilus influenzae	Vacuna conjugada (polisacárido de *Haemophilus influenzae* conjugado a proteínas)
Enfermedades virales	
Gripe	Virus inactivados
Hepatitis A	Vacuna DNA recombinante
Hepatitis B	Vacuna DNA recombinante o virus inactivados
Papilomavirus humano (HPV)	Vacuna DNA recombinante
Sarampión	Virus atenuados
Parotiditis	Virus atenuados
Rubeola	Virus atenuados
Poliomielitis	Virus atenuados (Sabin) o virus inactivados (Sallk)
Rabia	Virus inactivados (humano) o virus atenuados (perros y otros animales)
Rotavirus	Virus atenuados
Viruela	Virus vaccinia de reacción cruzada
Varicela	Virus atenuados
Fiebre amarilla	Virus atenuados

Las vacunas bacterianas se suministran casi siempre en forma inactivada. Las vacunas bacterianas inactivadas inducen protección duradera mediada por anticuerpos sin exponer a los receptores al riesgo de infección.

Práctica de la inmunización

Los niños adquieren inmunidad natural pasiva de los anticuerpos maternos transferidos a través de la placenta o en la leche materna. Como resultado, los niños son rela-

www.elibros.com

tivamente inmunes a enfermedades infecciosas comunes durante los primeros 6 meses de vida. Sin embargo, los niños deben ser inmunizados para prevenir enfermedades infecciosas importantes tan pronto como sea posible que su propia inmunidad activa reemplace a la inmunidad pasiva materna. Como se discutió en la Sección 29.10, una única exposición al antígeno no conduce a un alto *título* o cantidad de anticuerpos. Después de una inmunización inicial, se administran una serie de inmunizaciones secundarias o reinmunizaciones para producir una respuesta secundaria y un alto título de anticuerpos. Las recomendaciones actuales de vacunación para niños y adultos en los Estados Unidos se muestran en la **Figura 30.4**. Para la mayoría de las vacunas, se necesita una serie de inmunizaciones para establecer una inmunidad protectora y a menudo son necesarias una serie de reinmunizaciones periódicas para mantener la inmunidad.

La importancia de la inmunización en el control de la enfermedades infecciosas está bien establecida. Por ejemplo, la introducción de una vacuna eficaz ha reducido la incidencia de enfermedades infantiles anteriormente epidémicas como el sarampión, la parotiditis y la rubeola (*véase* Figura 34.15) y ha eliminado la viruela (*véase* Sección 33.11). Sin embargo, el grado de inmunidad obtenido por inmunización varía mucho dependiendo del individuo así como de la calidad y cantidad de la vacuna. Una inmunidad de por vida raramente se alcanza por medio de una única inyección, o incluso de una serie de inyecciones, y las células inmunitarias y los anticuerpos inducidos por inmunización desaparecen gradualmente del cuerpo. Por otra parte, las infecciones naturales pueden estimular la memoria o las respuestas de recuerdo. En ausencia completa de estimulación antigénica, la duración de la inmunidad eficaz varía considerablemente con diferentes antígenos. Por ejemplo, la inmunidad protectora frente al tétanos inducida por inmunización con el toxoide puede durar muchos años. Como resultado, las recomendaciones actuales establecen reinmunizaciones en adultos sólo cada 10 años para mantener inmunidad protectora. Sin embargo, la inmunidad inducida por una cepa particular de virus de la gripe desaparece después de un año o dos sin reinmunización por infección activa o vacunación.

Como se ha indicado antes, la inmunización pasiva se introdujo por inyección de anticuerpos preformados. La preparación que contiene los anticuerpos se conoce como **suero** (también llamado *antisuero* o *antitoxina* si los anticuerpos se dirigen frente a una toxina). Los antisueros se obtienen de animales inmunizados, como caballos, o de seres humanos con títulos altos de anticuerpos. De estos individuos se dice que son *hiperinmunes*. El antisuero o antitoxina se estandariza para que contenga un título conocido de anticuerpos; debe inyectarse un número suficiente de unidades de antisuero para neutralizar cualquier antígeno que esté presente en el cuerpo. También se usa para inmunización pasiva la fracción de inmunoglobulinas separada de una mezcla de sueros de un cier-

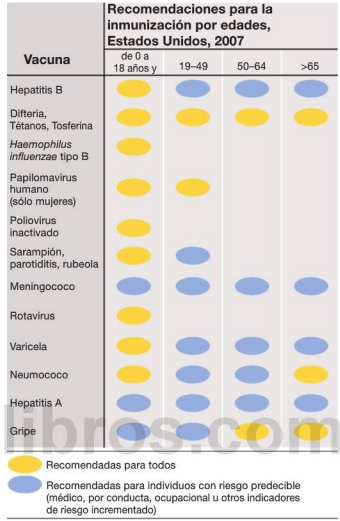


Figura 30.4 Inmunizaciones recomendadas para niños y adultos en Estados Unidos. Este ciclo de inmunizaciones ha sido especificado por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, GA, en 2007. Para la mayoría de las vacunas disponibles, se requieren inmunizaciones seriadas para iniciar una inmunidad eficaz. Pueden ser necesarias reinmunizaciones periódicas para mantener una inmunidad de larga duración. El sitio web del Programa Nacional de Inmunización del CDC (**http://www.cdc.gov/vaccines**) tiene recomendaciones para inmunizaciones específicas referentes al tiempo y dosis de inmunizaciones para todos los grupos de edad. Además, el sitio web tiene instrucciones especiales para los viajeros internacionales, mujeres en edad de concebir y personas con inmunodeficiencias.

to número de individuos. Los sueros mezclados contienen una diversidad de anticuerpos inducidos por exposición artificial o natural a varios antígenos.

Las inmunizaciones, ya sean activas o pasivas, benefician al individuo. La inmunización también es un instrumento importante para los programas de control de salud pública, porque las infecciones se diseminan muy poco en poblaciones con una proporción grande de individuos inmunes. La viruela, por ejemplo, ha sido erradicada, y

la polio, el sarampión, la tos ferina, la difteria y otras muchas enfermedades infecciosas han sido ampliamente controladas a través de programas agresivos de inmunización (*véase* Sección 33.8).

30.5 Minirrevisión

Puede generarse inmunidad para las enfermedades infecciosas por medios pasivos o activos, naturales o artificiales. La inmunización con antígenos induce inmunidad artificial activa y se utiliza ampliamente para prevenir enfermedades infecciosas. La mayoría de los agentes usados para la inmunización son patógenos atenuados o inactivados o formas inactivadas de productos microbianos como las toxinas.

- Aporte un ejemplo de inmunidad natural pasiva. ¿Cómo beneficia la inmunidad natural pasiva a los individuos inmunizados?
- Aporte un ejemplo de inmunidad artificial activa. ¿Cómo beneficia la inmunidad artificial activa a los individuos inmunizados?

30.6 Nuevas estrategias de inmunización

La mayoría de las preparaciones inmunizantes se fabrican con organismos enteros o con toxoides, como se ha descrito en la sección anterior. Sin embargo, hay otros métodos para producir antígenos apropiados para inmunización.

Antígenos inmunizantes sintéticos y de ingeniería genética

La alterativa más simple para el desarrollo de vacunas es el uso de péptidos sintéticos. Para hacer una vacuna, puede sintetizarse un péptido que corresponda a un antígeno conocido de un agente infeccioso. Por ejemplo, se conoce la estructura del antígeno proteico responsable de la inmunidad frente al virus de la glosopeda, un importante patógeno animal (*véase* Sección 19.7). Un péptido sintético de 20 aminoácidos que constituye un importante determinante antigénico de la proteína ha sido fabricado y unido a moléculas portadoras apropiadas. Esta vacuna sintética induce una excelente respuesta de anticuerpos que neutralizan al virus de la glosopeda. Sin embargo, como método general, esta aproximación tiene un problema importante: debe conocerse la secuencia entera, representativa del perfil antigénico de la proteína, para fabricar una vacuna eficaz. Sin embargo, ahora se conocen las secuencias genómicas enteras de un gran número de patógenos, suministrando la información necesaria para identificar el perfil antigénico de cada uno.

Pueden usarse técnicas de biología molecular para hacer vacunas utilizando la información derivada de la genómica de patógenos. Por ejemplo, los genes que codifican antígenos de virtualmente cualquier virus pueden clonarse en el genoma del virus vaccinia y expresarse. La inoculación con el virus vaccinia modificado genéticamente puede usarse para inducir inmunidad frente al producto del gen clonado. Una preparación así se denomina *vacuna de vector recombinante*. Este método depende de la identificación y clonaje del gen que codifica el antígeno y también de la capacidad del virus vaccinia para que el gen clonado se exprese como una proteína antigénica. Se ha desarrollado una vacuna recombinante vaccinia-rabia eficaz para usarla en animales. Los métodos de DNA recombinante para desarrollar vacunas se discutieron en la Sección 26.5.

Otra estrategia de inmunización se basa en el uso del DNA recombinante para producir proteínas inmunógenas. Primero, un gen de un patógeno debe clonarse en un apropiado hospedador microbiano que exprese la proteína codificada por el gen clonado. Luego, la proteína del patógeno debe recogerse y utilizarse como vacuna; una vacuna así se denomina *vacuna de antígeno recombinante*. Por ejemplo, la vacuna actual del virus de la hepatitis B es una proteína antigénica principal de la superficie del virus (HBsAg, del inglés *hepatitis B surface antigen*) expresada por células de levadura. Una vacuna que es eficaz frente al papilomavirus humano (PVH) es también una vacuna recombinante fabricada por células de levadura (Información adicional, «La promesa de nuevas vacunas»).

Vacunas DNA

Un nuevo método de inmunización se basa en la expresión de genes clonados en células del hospedador. Plásmidos bacterianos que contienen DNA clonado se inyectan intramuscularmente en un animal hospedador. Después de varias semanas, el hospedador responde con células T_C, células T_H1 y anticuerpos dirigidos contra la proteína codificada por el DNA clonado. El DNA es incorporado por las células del hospedador, transcrito y traducido para producir proteínas inmunógenas, desencadenando una respuesta inmunitaria convencional. Estos plásmidos se denominan *vacunas DNA*.

La estrategia de las vacunas DNA puede aportar ventajas considerables respecto a las inmunizaciones convencionales. Por ejemplo, dado que solamente se clona e inyecta un gen del patógeno, no hay ninguna posibilidad de infección como podría ocurrir con una vacuna atenuada. En segundo lugar, pueden clonarse los genes que codifican antígenos individuales tales como un antígeno específico de tumor, o incluso un único determinante antigénico, dirigiendo la respuesta inmunitaria hacia un componente celular en particular. La respuesta también puede orientarse directamente hacia APC incluyendo un promotor de MHC de clase II en la construcción génica. El promotor asegura la expresión selectiva en células dendríticas, células B y macrófagos, que son las únicas células capaces de utilizar la proteína MHC-II. El antígeno expresado y procesado puede ser entonces presentado tanto so-

www.medilibros.com

Información adicional

La promesa de nuevas vacunas

Se ha aprobado una nueva vacuna que protege frente a una enfermedad infecciosa que es la principal causa de cáncer en mujeres. Esta vacuna, llamada Gardasil, protege frente a la infección por el papilomavirus humano (PVH). El Gardasil ha sido aprobado y recomendado para mujeres que inician la pubertad y mayores. Varias cepas de PVH infectan más del 75% de individuos sexualmente activos y causan verrugas genitales y cáncer vulvar, vaginal y cervical en mujeres infectadas. La vacuna se dirige frente a los tipos 6, 11, 16 y 18 de PVH. En conjunto, estas cepas son responsables del 70% de los cánceres cervicales y del 90% de las verrugas genitales (**Figura 1**).

Figura 1 **Verrugas perineales causadas por la infección con papilomavirus humano.**

La vacuna PVH tetravalente es una preparación de partículas virales vacías (VLP, del inglés *viruslike particles*) fabricadas con L1, la proteína principal de la cápsida, de estas cepas. Mediante ingeniería genética, las proteínas L1 se expresan en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (*véase* Sección 26.5) y al romper las células de la levadura recombinante se liberan y autoensamblan como VLP. Después de su purificación, las VLP se adsorben sobre un coadyuvante químico. El coadyuvante inmoviliza a las VLP, incrementado su capacidad para ser ingeridas por fagocitos después de que han sido inyectadas.

www.medilibros.com

bre proteínas MHC I como sobre proteínas MHC II. Por tanto, un único plásmido obtenido por bioingeniería puede codificar un antígeno e inducir una respuesta inmunitaria completa, tanto de células T como de anticuerpos.

Al menos en un caso, una vacuna DNA experimental consistente en un complejo MHC-péptido obtenido por ingeniería genética ha protegido al ratón de la infección por un papilomavirus productor de cáncer.

30.6 Minirrevisión

Estrategias alternativas de inmunización que utilizan moléculas obtenidas por bioingeniería eliminan la exposición a microorganismos y, en algunos casos, incluso a proteínas antigénicas. La aplicación de estas estrategias está suministrando vacunas seguras dirigidas hacia antígenos individuales de patógenos.

- Identificar estrategias alternativas de inmunización ya utilizadas para vacunas aprobadas.
- ¿Cuáles son las ventajas de las estrategias alternativas de inmunización en comparación con los procedimientos tradicionales?

III ENFERMEDADES DE LA RESPUESTA INMUNITARIA

Las reacciones inmunitarias pueden causar daños en las células del hospedador y enfermedades. Las respuestas de **hipersensibilidad** son respuestas inmunitarias inapropiadas que dañan al hospedador. Las enfermedades

La promesa de nuevas vacunas *(continuación)*

Los ensayos clínicos han mostrado que la vacuna PVH confiere un alto nivel de protección frente a la infección viral, incluyendo las verrugas genitales (Figura 1) y todas las formas de cáncer causadas por el PVH. Dado que el PVH es responsable de la mayor parte de los cánceres cervicales, el riesgo deberá reducirse significativamente en la población inmunizada. Sin embargo, y quizás igual de importante, la inmunidad de base (*véase* Sección 33.5) resultante de la inmunización de una gran proporción de la población deberá detener la diseminación de estos virus, suministrando protección incluso a individuos no inmunizados.

Esta vacuna se recomienda actualmente a muchachas y mujeres en un rango de edades desde la pre-pubertad hasta el final de los años reproductivos. Mientras la inmunización de estos individuos susceptibles contribuirá ciertamente a la prevención de la enfermedad, la inmunidad de base podría alcanzar los mayores niveles si se inmunizaran todas las fuentes potenciales de PVH, tales como las parejas sexuales de las mujeres: la inmunización de muchachos y hombres podría aportar la inmunidad de base necesaria para eliminar la transmisión de esta infección de transmisión sexual.

Otra vacuna recientemente introducida es la que protege de la infección por Rotavirus, un enterovirus frecuente que causa diarrea grave, con el resultado de deshidratación e incluso muerte de niños en todo el mundo. Esta enfermedad intestinal puede prevenirse ahora por inmunización con múltiples dosis orales de un Rotavirus atenuado. Una vacuna anterior de Rotavirus fue retirada debido a complicaciones postvacunales.

Las vacunas PVH y Rotavirus son dos ejemplos de desarrollo e implantación de vacunas eficaces, pero un número importante de enfermedades infecciosas todavía no pueden prevenirse por vacunación. Esta lista incluye tuberculosis, malaria y virus de la inmunodeficiencia humana, que son las tres enfermedades infecciosas más importantes en el mundo entero en términos de casos y muertes totales. Alrededor de 1 millón de personas mueren cada año de cada una de estas enfermedades. La vacuna actual de la tuberculosis, BCG (*véase* Sección 34.5), se considera inadecuada y no se administra en muchos países. No existen vacunas para las otras enfermedades, aunque hay varias vacunas en desarrollo y en ensayos clínicos. Finalmente, Gardasil es la única vacuna que es eficaz frente a una infección de transmisión sexual en el ser humano.

Incluso algunas vacunas eficaces tienen serias limitaciones. Por ejemplo, las vacunas de la gripe solamente son útiles por un año, porque se diseñan frente a los antígenos H y N actualmente en circulación (*véase* Sección 34.9). Se ha propuesto el desarrollo de una vacuna universal frente a la gripe, dirigida frente a M1, un antígeno común del virus de la gripe, que en teoría debería inducir inmunidad frente a todas las cepas gripales con una única vacuna. Sin embargo, no se ha demostrado que M1 y otros antígenos comunes puedan aportar inmunogenicidad y protección frente a la gripe.

www.medicapanamericana.com

por hipersensibilidad se dividen en categorías de acuerdo con los antígenos y los mecanismos efectores que producen la enfermedad (**Tabla 30.3**). Los superantígenos son proteínas producidas por algunas bacterias y virus que causan una estimulación general de las células inmunitarias, con el resultado de daño en el hospedador por activación masiva de las respuestas inflamatorias.

Tabla 30.3. Hipersensibilidad

Clasificación	*Descripción*	*Mecanismo Inmunitario*	*Tiempo de latencia*	*Ejemplos*
Tipo I	Inmediata	Sensibilización de la IgE de los mastocitos	Minutos	Reacción al veneno de abeja. Fiebre del Heno
Tipo II	Citotóxica[a]	Interacción de la IgG con antígenos de la superficie celular	Horas	Reacciones a drogas (penicilina)
Tipo III	Inmunocomplejos	Interacción de la IgG con antígeno soluble o circulante	Horas	Lupus eritematoso sistémico (SLE)
Tipo IV	Hipersensibilidad retardada	Activación de células inflamatorias TH1 de macrófagos	Días (24-48 h)	Hiedra venenosa. Test de la tuberculina

[a] Las enfermedades autoinmunes pueden ser causadas por reacciones de tipo II, III o IV.

30.7 Alergia, hipersensibilidad y autoinmunidad

La **hipersensibilidad inmediata** mediada por anticuerpos se denomina comúnmente *alergia*. Las reacciones mediadas por células también causan enfermedad en la forma de **hipersensibilidad retardada**. Las *enfermedades autoinmunes* están mediadas por reacciones inmunitarias dirigidas frente antígenos propios. Estas enfermedades se clasifican como hipersensibilidad de tipos I, II, III y IV basándose en los síntomas y los efectores inmunitarios (Tabla 30.3).

Hipersensibilidad inmediata

La hipersensibilidad inmediata o de tipo I está causada por la liberación de productos vasoactivos por mastocitos recubiertos de anticuerpos de la clase IgE (**Figura 30.5**). Las reacciones de hipersensibilidad inmediata ocurren en un plazo de minutos después de la exposición al antígeno. Dependiendo del individuo y del antígeno, las reacciones de hipersensibilidad inmediata pueden ser muy leves o causar una reacción llamada *anafilaxis*, que pone en peligro la vida. Los antígenos que causan hipersensibilidad de tipo I se llaman *alergenos*.

Alrededor del 20% de la población sufre alergias de hipersensibilidad inmediata frente al polen, mohos, caspa de animales, algunos alimentos, venenos de insectos y otros agentes (**Tabla 30.4**). Casi todos los alergenos entran en el cuerpo por la superficie de membranas mucosas como los pulmones o el intestino donde los alergenos estimulan a las células T_H2 para producir citocinas que inducen a las células B a fabricar preferentemente anticuerpos de la clase IgE. Más que circular como la IgG y la IgM, los anticuerpos IgE se unen a los receptores para IgE en los mastocitos (Figura 30.3). Los mastocitos son granulocitos inmóviles (*véase* Sección 29.1) asociados con el tejido conectivo adyacente a los capilares en todo el cuerpo. Con cualquier exposición subsiguiente al alergeno inmunizante, la IgE unida a los mastocitos une a su vez al antígeno. El entrecruzamiento de dos o más IgEs por un antígeno desencadena la liberación de mediadores alérgicos solubles por los mastocitos, un proceso conocido como *desgranulación*. Estos mediadores causan síntomas alérgicos en unos minutos tras la exposición al antígeno. En general, estos síntomas son generalmente de corta duración. Después de la sensibilización inicial a un

Tabla 30.4 Alergenos que causan hipersensibilidad inmediata

Polen y esporas de hongos (fiebre del heno)
Venenos de insectos (picadura de abeja)
Ciertos alimentos (fresas, nueces, mariscos, etc.)
Caspa y pelos de animales
Ácaros del polvo doméstico

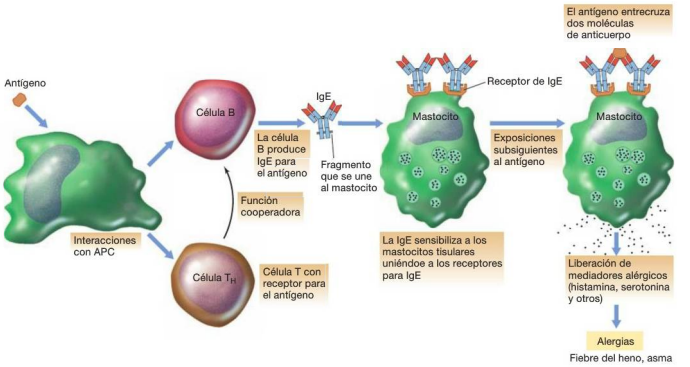


Figura 30.5 Hipersensibilidad inmediata. Ciertos antígenos, como los pólenes, estimulan la producción de IgE. La IgE se une a los mastocitos mediante un receptor de superficie de alta afinidad, sensibilizando al mastocito. El contacto con el antígeno entrecruza la IgE superficial, causando la liberación de mediadores solubles como la histamina. Estos mediadores producen síntomas que van de las alergias leves a la anafilaxis que pone en riesgo la vida.

alergeno, el individuo alérgico responde a cada reexposición subsiguiente al antígeno.

Los mediadores químicos primarios liberados por los mastocitos son histamina y serotonina, aminoácidos modificados que causan rápida dilatación de los vasos sanguíneos y contracción del músculo liso, iniciando los síntomas de la anafilaxis sistémica. Estos síntomas incluyen vasodilatación (que causa una brusca caída de la presión sanguínea), alteración respiratoria grave causada por edema bronquial, piel enrojecida, producción de moco, estornudos y picor y lagrimeo en los ojos. Si los casos graves de anafilaxia no son tratados de inmediato con adrenalina para contener la contracción del músculo liso, aumentar la presión sanguínea y promover la respiración, la persona puede morir por un *choque anafiláctico*. Afortunadamente, la mayoría de las reacciones alérgicas se limitan a una anafilaxis local suave, con síntomas como picor en los ojos y lagrimeo. Los síntomas alérgicos menos graves se tratan con medicamentos llamados *antihistamínicos* que neutralizan al mediador histamina. El tratamiento de los síntomas más graves puede incluir también medicamentos antiinflamatorios como los esteroides. Finalmente, la inmunización con dosis crecientes del alergeno puede cambiar la clase de los anticuerpos producidos de IgE a IgG. La IgG interacciona con el antígeno y no se une a los mastocitos, previniendo las interacciones con la relativamente escasa IgE, deteniendo los síntomas de alergia e inhibiendo la producción de más IgE. Este procedimiento se denomina *desensibilización*.

Hipersensibilidad de tipo retardado

La hipersensibilidad de tipo retardado (DTH, del inglés *delayed-type hypersensitivity*) o de tipo IV es una hipersensibilidad mediada por células y caracterizada por daño tisular debido a respuestas inflamatorias producidas por las células inflamatorias T_H1 (Tabla 30.3). Los síntomas de la hipersensibilidad de tipo retardado aparecen varias horas después de la exposición secundaria al antígeno inductor, con una respuesta máxima que ocurre usualmente entre las 24 y las 48 horas. Los antígenos típicos incluyen algunos microorganismos, unos pocos autoantígenos (**Tabla 30.5**) y varios compuestos químicos que se unen covalentemente a la piel, creando nuevos antígenos. La hipersensibilidad a estos antígenos de nueva creación se conoce como *dermatitis de contacto* y tiene como resultado, por ejemplo, las reacciones al veneno de hiedra (**Figura 30.6a**), alhajas, cosméticos, látex y otros compuestos químicos. Varias horas después de la exposición al agente, se siente picor en el sitio de contacto en la piel y aparecen enrojecimiento e hinchazón, indicando una respuesta inflamatoria local. Hay una destrucción localizada de tejido, a menudo en forma de quemadura.

Un ejemplo de hipersensibilidad de tipo retardado es el desarrollo de inmunidad al agente causal de la tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis* (Figura 30.6*b*). Esta respuesta inmunitaria celular protectora fue descubierta por Robert Koch en sus estudios clásicos sobre la tuberculosis (*véase* Sección 1.8) y ha sido ampliamente estudiada. Los antígenos derivados de la bacteria, cuando se inyectan subcutáneamente en un animal previamen-

Tabla 30.5 Enfermedades autoinmunes en el hombre

Enfermedad	*Organo o áreas afectada*	*Mecanismo (tipo de hipersensibilidad)*[a]
Diabetes juvenil (insulina-dependiente, diabetes mellitus)	Páncreas	Inmunidad mediada por células y autoanticuerpos frente a antígenos de superficie y citoplasma de los islotes de Langerhans (II y IV)
Miastenia grave	Músculo esquelético	Autoanticuerpos frente a los receptores de acetilcolina en el músculo esquelético (II)
Síndrome de Goodpasture	Riñón	Autoanticuerpos frente a la membrana basal del glomérulo renal (II)
Artritis reumatoide	Cartílago	Autoanticuerpos frente a anticuerpos IgG propios que forman complejos que se depositan en las articulaciones, causando inflamación y destrucción el cartílago (III)
Enfermedad de Hashimoto (hipotiroidismo)	Tiroides	Autoanticuerpos frente a antígenos de superficie del tiroides (II)
Infertilidad masculina (algunos casos)	Espermatozoides	Autoanticuerpos aglutinantes de los espermatozoides del hospedador (II)
Anemia perniciosa	Factor intrínseco	Autoanticuerpos que impiden la absorción de la vitamina B_{12} (III)
Lupus eritematoso sistémico	DNA, cardiolipina, nucleoproteínas, proteínas de coagulación sanguínea	Respuesta de autoanticuerpos frente a varios constituyentes celulares con formación de inmunocomplejos (III)
Enfermedad de Addison	Glándulas suprarrenales	Anticuerpos frente a antígenos de células suprarrenales (II)
Encefalitis alérgica	Cerebro	Respuesta celular frente a tejido cerebral (IV)
Esclerosis múltiple	Cerebro	Respuestas mediada por células y de autoanticuerpos frente al sistema nervioso central (II y IV)

[a] Referido a la tabla 30.3.

(a)

(b)

Figura 30.6 **Inmunidad mediada por células.** *(a)* Ampollas por veneno de hiedra en un brazo. El exantema en relieve alcanza su máximo en los individuos sensibilizados entre 24 y 48 horas después de la exposición a plantas del género *Rhus*. *(b)* Una prueba positiva de tuberculina, típica de hipersensibilidad retardada. El área elevada en la inflamación del antebrazo es de unos 1,5 cm de diámetro. Ambas reacciones resultan de la acción de macrófagos activados por células T_H1.

te infectado con *M. tuberculosis*, inducen una reacción cutánea característica que se desarrolla enteramente después de un período de 24-48 horas. (En contraste, las reacciones cutáneas debidas a hipersensibilidad inmediata mediada por IgE se desarrollan en unos minutos después de la inyección del antígeno.) En la reacción al antígeno introducido, las células T_H1 llegan a ser estimuladas por el antígeno y liberan citocinas que atraen y activan a un gran número de macrófagos, los cuales a su vez producen una reacción en el lugar de la inyección. La reacción en el sitio de la inyección del antígeno se caracteriza por inflamación, incluyendo endurecimiento, edema (hinchazón), eritema (enrojecimiento), dolor y calor localizados en la piel. Los macrófagos activados ingieren y destruyen al antígeno invasor. Esto es una reacción de hipersensibilidad de tipo retardado y es la base de la prueba de la tuberculina utilizada para determinar exposiciones previas a *M. tuberculosis* (Figura 30.6*b*).

Algunas infecciones microbianas inducen reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado. Además de la tuberculosis, se incluyen lepra, brucelosis, psitacosis (todas ellas infecciones bacterianas), parotiditis (viral), y coccidioidomicosis, histoplasmosis y blastomicosis (fúngicas). En todas estas reacciones de inmunidad celular, ocurren respuestas cutáneas específicas de antígeno similares a la reacción de la tuberculina (Figura 30.4*b*) después de la inyección de antígenos derivados de patógenos, que indican una exposición previa al patógeno.

Enfermedades autoinmunes

Normalmente, las células T y B destinadas a reaccionar con antígenos propios son eliminadas durante el proceso de maduración de los linfocitos. Sin embargo, en algunos individuos, las células T y B pueden activarse para producir reacciones inmunitarias frente a proteínas propias, conduciendo a enfermedades autoinmunes (Tabla 30.5). Por ejemplo, la hipersensibilidad retardada mediada por células T_H1 puede causar respuestas autoinmunes dirigidas frente a autoantígenos, como en el caso de la encefalitis alérgica. En la diabetes melitus tipo I (juvenil), las células T_H1 causan reacciones inflamatorias que destruyen las células beta del páncreas. Sin embargo, muchas enfermedades autoinmunes están mediadas por anticuerpos, como discutiremos ahora.

Algunas enfermedades autoinmunes están causadas por **autoanticuerpos**, anticuerpos que interaccionan con antígenos propios. En muchos casos, los anticuerpos se dirigen contra algunos antígenos específicos de órganos. Por ejemplo, en la *enfermedad de Hashimoto*, se hacen autoanticuerpos frente a la tiroglobulina, un producto de la glándula tiroides. La enfermedad afecta a la función tiroidea y se clasifica como hipersensibilidad de tipo II: los anticuerpos interaccionan con antígenos que se encuentran en la superficie de células del hospedador e inician la destrucción del tejido (Tabla 30.5). En este caso, los anticuerpos para la tiroglobulina fijan el complemento y causan la destrucción de las células de la glándula tiroides. En la diabetes juvenil, se observan autoanticuerpos frente a las células productoras de insulina en el páncreas, pero la destrucción del tejido ocurre primariamente a través de reacciones inflamatorias mediadas por células T_H1.

El *lupus eritematoso sistémico* (SLE) es un ejemplo de enfermedad causada por hipersensibilidad tipo III: esta enfermedad y otras parecidas están causadas por auto-

anticuerpos dirigidos frente a autoantígenos solubles, circulantes. En el SLE, los antígenos son nucleoproteínas y DNA. Los anticuerpos se unen a los antígenos solubles, produciendo complejos inmunes insolubles. La enfermedad ocurre cuando los complejos circulantes antígeno-anticuerpo se depositan en diferentes tejidos del cuerpo como los riñones, pulmones y bazo. La fijación del complemento y las respuestas lítica e inflamatoria resultantes causan daño celular local, a menudo grave, en el sitio de la deposición de los complejos. Los complejos se depositan en membranas de órganos y unen complemento, conduciendo a la destrucción del órgano. Por tanto, la hipersensibilidad de tipo III es una patología de complejos inmunes (Tabla 30.5).

Las enfermedades autoinmunes específicas de órgano tienen a veces un control clínico más fácil que las enfermedades que afectan a múltiples órganos, porque el producto de la función de un órgano, como la tiroxina en el hipotiroidismo autoinmune o la insulina en la diabetes autoinmune pueden a menudo aportarse en forma pura de otras fuentes. SLE, artritis reumatoide y otras enfermedades que afectan a múltiples órganos y sitios pueden ser controladas solamente por una terapia inmunosupresora general, como el uso de medicamentos esteroides. La inmunosupresión general, sin embargo, incrementa significativamente la incidencia de infecciones oportunistas.

La herencia influye la incidencia, tipo y gravedad de las enfermedades autoinmunes. Muchas enfermedades autoinmunes se correlacionan fuertemente con la presencia de determinados antígenos del complejo principal de histocompatibilidad (MHC) (*véanse* Secciones 29.6, 31.3 y 31.4). Los estudios de modelos de enfermedades autoinmunes en ratones apoyan esta asociación genética, pero las condiciones precisas necesarias para desarrollar autoinmunidad pueden depender también de otros factores, como el género, la edad y el estado de salud. Las mujeres, por ejemplo, tienen más de 20 veces más probabilidades de desarrollar SLE que los hombres.

30.7 Minirrevisión

La hipersensibilidad ocurre cuando antígenos extraños inducen respuestas de inmunidad celular o de anticuerpos, causando daño en los tejidos del hospedador. La autoinmunidad ocurre cuando la respuesta inmunitaria se dirige frente antígenos propios, con el resultado de daño para los tejidos del hospedador.

- Distinga entre la hipersensibilidad inmediata y la retardada, respecto a los antígenos y los efectores inmunitarios.
- Identifique las dos categorías principales de enfermedades autoinmunes en lo que se refiere a los antígenos y los efectores inmunitarios.

30.8 Superantígenos

Hemos discutido los mecanismos de acción de diferentes categorías de toxinas bacterianas en el Capítulo 28. La mayoría de las toxinas interactúan directamente con las células del hospedador para causar daño tisular. Las endotoxinas, por ejemplo, interaccionan directamente con muchos tipos celulares, causando la liberación de pirógenos endógenos y otros mediadores solubles y produciendo fiebre e inflamación general (*véanse* Secciones 28.10 y 28.11). Sin embargo, ciertas exotoxinas, los superantígenos, actúan indirectamente sobre las células del hospedador. Estas exotoxinas no actúan directamente sobre células diana del hospedador, sino que más bien subvierten el sistema inmunitario para causar un extenso daño en las células del hospedador.

Activación de células T por superantígenos

Los **superantígenos** son proteínas capaces de inducir una respuesta muy fuerte porque activan más células T que en una respuesta inmunitaria normal. Los superantígenos se producen por muchos virus y bacterias e interaccionan con los TCR. Estreptococos y estafilococos, por ejemplo, producen varios superantígenos diferentes y muy potentes (*véase* Tabla 28.4). La interacción de los superantígenos con el TCR, sin embargo, difiere de la unión del TCR con antígenos convencionales.

Los antígenos extraños convencionales se unen al TCR en un sitio de unión definido. En una respuesta inmunitaria típica, menos del 0,01% de todas las células T disponibles interaccionan con un antígeno extraño convencional. Sin embargo, los superantígenos se unen a un sitio del TCR que está fuera del sitio de unión específico para el antígeno. Un superantígeno se une a todos los TCRs con una estructura compartida, y muchos TCR diferentes comparten la misma estructura fuera del sitio de unión al antígeno. En algunos casos, los superantígenos pueden unirse al 5-25% de todas las células T. Los superantígenos también se unen a moléculas MHC de clase II en las APC, y también lo hacen en un sitio específico fuera del sitio normal de unión a péptidos (**Figura 30.7**). Estas interacciones en la superficie celular imitan la presentación de antígenos convencionales (*véase* Sección 29.6) y estimulan gran número de células T para crecer y dividirse. Estas células T, a su vez, producen citocinas que estimulan a otras células, como macrófagos y otros fagocitos. La amplia producción de citocinas desencadena una respuesta general mediada por célulascaracterizada por reacciones inflamatorias sistémicas, causando a menudo fiebre, diarrea, vómitos, producción de moco y choque sistémico. En casos extremos, la exposición a superantígenos puede ser fatal. El choque por superantígenos es virtualmente indistinguible del choque séptico (*véase* Sección 29.3).

Las enfermedades más notables debidas a superantígenos incluyen la intoxicación alimentaria por *Staphylo-*

www.medilibros.com

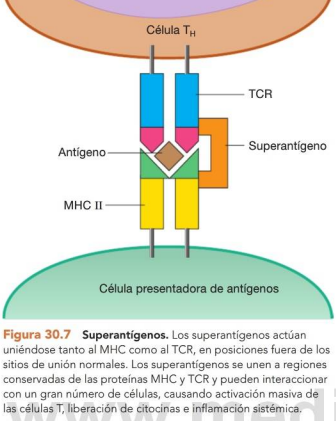


Figura 30.7 Superantígenos. Los superantígenos actúan uniéndose tanto al MHC como al TCR, en posiciones fuera de los sitios de unión normales. Los superantígenos se unen a regiones conservadas de las proteínas MHC y TCR y pueden interaccionar con un gran número de células, causando activación masiva de las células T, liberación de citocinas e inflamación sistémica.

coccus aureus, caracterizada por fiebre, vómitos y diarrea. Esta enfermedad común es causada por una de las varias enterotoxinas estafilocócicas que son superantígenos. *S. aureus* también produce el superantígeno responsable del *síndrome del choque tóxico*. *Streptococcus pyogenes* produce una toxina eritrogénica, el superantígeno responsable de la escarlatina (*véase* Figura 34.6).

30.8 Minirrevisión

Los superantígenos unen y activan gran número de células T. Las células T activadas por superantígenos pueden producir enfermedades sistémicas caracterizadas por reacciones inflamatorias sistémicas.

- Distinga entre activación normal de células T y activación por superantígenos.
- Identifique los sitios de unión para superantígenos en las células T y las APC.

www.medilibros.com

Glosario de términos

Anticuerpo: una proteína soluble, producida por células B, que interacciona específicamente con el antígeno; también se le llama inmunoglobulina.

Antígeno: una molécula capaz de interaccionar con componentes específicos del sistema inmunitario.

Autoanticuerpo: un anticuerpo que reacciona con antígenos propios.

Célula B: un linfocito que tiene receptores de superficie inmunoglobulínicos, produce inmunoglobulinas y puede presentar antígenos a las células T.

Célula madre: una célula que puede diferenciarse en distintos tipos celulares.

Célula T: linfocito responsable de interacciones celulares específicas de antígeno; las células T se dividen en subpoblaciones funcionales que incluyen células T citotóxicas T_C y células T cooperadoras T_H. Las células T_H se subdividen a su vez en células inflamatorias T_H1 y células cooperadoras T_H2 que ayudan a las células B en la formación de anticuerpos.

Citocina: una proteína soluble producida por un leucocito que modula la respuesta inmunitaria.

Clon: copias de linfocitos que responden a un mismo antígeno, usualmente en gran número.

Complejo principal de histocompatibilidad: una región genética que codifica varias proteínas importantes para el procesamiento y presentación de antígenos. Las proteínas MHC I se expresan en todas las células. Las proteínas MHC II se expresan solamente en células presentadoras de antígeno.

Especificidad: la capacidad de la respuesta inmunitaria para interaccionar con antígenos individuales.

Estructura molecular asociada a patógenos (PAMP): un componente estructural repetido de un microbio o virus reconocido por una molécula de reconocimiento de estructuras (PRM).

Hipersensibilidad: una respuesta inmunitaria que daña tejidos del hospedador.

Hipersensibilidad inmediata: una respuesta alérgica mediada por productos vasoactivos liberados por mastocitos tisulares.

Hipersensibilidad retardada: una respuesta inflamatoria mediada por linfocitos T.

Inflamación: una reacción inespecífica frente a estímulos nocivos como toxinas y patógenos, caracterizada por enrojecimiento (eritema), hinchazón (edema), dolor y calor (fiebre), usualmente localizada en el sitio de la infección.

Inmunidad adaptativa (inmunidad específica de antígeno): la capacidad adquirida para reconocer y destruir un patógeno particular o sus productos,

dependiente de una exposición previa al patógeno o sus productos.

Inmunidad innata: (inmunidad inespecífica) es la capacidad no inducible para reconocer y destruir un patógeno individual o sus productos que no depende de la exposición previa al patógeno o sus productos.

Inmunización (vacunación): inoculación de un hospedador con patógenos o productos de patógenos inactivados o atenuados para estimular la inmunidad protectora.

Inmunoglobulina (Ig): una proteína soluble producida por células B y plasmocitos que interacciona con antígenos; también llamada anticuerpos.

Leucocito: una célula nucleada presente en la sangre (glóbulo blanco).

Linfocito: una subpoblación de células nucleadas de la sangre que están implicadas en la respuesta inmunitaria.

Macrófago: un leucocito grande presente en tejidos que tiene capacidades fagocítica y de presentación de antígenos.

Molécula de reconocimiento de estructuras (PRM): una proteína unida a la membrana celular que reconoce una estructura molecular asociada a patógenos (PAMP).

Memoria (memoria inmunológica): capacidad para producir rápidamente grandes cantidades de células inmunitarias específicas o de anticuerpos después de exposiciones subsiguientes a un antígeno reconocido previamente.

Neutrófilo (leucocito polimorfonuclear) (PNM): un tipo de leucocito que exhibe propiedades fagocíticas, un citoplasma granular (granulocito) y un núcleo multilobular.

Plasmocito: célula B diferenciada que produce anticuerpos.

Receptor de células T (TCR): proteína receptora específica para antígenos sobre la superficie de las células T.

Respuesta primaria de anticuerpos: anticuerpos producidos tras la primera exposición al antígeno; principalmente son de la clase IgM.

Respuesta secundaria de anticuerpos: anticuerpos producidos tras exposiciones subsiguientes al antígeno; principalmente son de la clase IgG.

Suero: la porción líquida de la sangre de la que se han eliminado las proteínas de coagulación y las células.

Superantígeno: un producto de patógeno capaz de inducir una respuesta inmunitaria indebidamente fuerte por estimulación de un número mayor que el normal de células T.

Tolerancia: incapacidad para producir una respuesta inmunitaria a un antígeno específico.

Toxoide: una forma atenuada de una toxina que retiene la inmunogenicidad pero carece de toxicidad.

Vacuna: un patógeno inactivado o atenuado o un producto inocuo de patógeno usado para estimular la inmunidad protectora.

Vacunación (inmunización): inoculación de un hospedador con patógenos o productos de patógenos inactivados o atenuados para estimular la inmunidad protectora.

www.medilibros.com

Preguntas de repaso

1. Identifique las células que expresan moléculas de reconocimiento de estructuras (PRM). ¿Cómo se asocian las PRM con estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP) para promover la inmunidad innata (Sección 30.1)?
2. Identifique los linfocitos y los receptores específicos de antígenos implicados en la inmunidad adaptativa mediada por anticuerpos (Sección 30.2)
3. Identifique los linfocitos y los receptores específicos de antígenos implicados en la inmunidad adaptativa mediada por células (Sección 30.3)
4. Enumere las enfermedades para las cuales ha sido usted inmunizado. Enumere las enfermedades para las cuales usted puede haber adquirido inmunidad natural (Secciones 30.4 y 30.5)
5. Enumere las inmunizaciones recomendadas para niños en Estados Unidos (Sección 30.5).
6. Describa una estrategia de inmunización basada en biotecnología que haya sido adoptada para una vacuna aprobada. ¿Reemplaza esta vacuna a otra existente? Si es así, ¿qué ventajas tiene la vacuna biotecnológica sobre la convencional (Sección 30.6)?
7. Defina las diferencias entre hipersensibilidad inmediata y de tipo retardado en términos de efectores inmunitarios, tejidos diana, antígenos y resultado clínico (Sección 30.7).
8. Describa el mecanismo general usado por los superantígenos para activar las células T. ¿En qué se diferencia la activación de las células T por superantígenos de la activación por antígenos convencionales (Sección 30.8)?

Ejercicios prácticos

1. Describa la importancia relativa de la inmunidad innata comparada con la inmunidad adaptativa. ¿Es más importante una que otra? ¿Podríamos sobrevivir en un ambiente normal sin inmunidad?
2. Frente a muchas enfermedades infecciosas no hay vacunas eficaces. Elija varias de estas enfermedades (por ejemplo, SIDA, malaria, resfriado común) y explique por qué las actuales estrategias vacunales no son efectivas. Prepare algunas estrategias alternativas para la inmunización frente a las enfermedades que haya escogido.
3. Las reacciones con superantígenos, ¿son deseables para el hospedador? ¿Confieren protección al hospedador o son beneficiosas para el patógeno?

31

Inmunología molecular

I RECEPTORES E INMUNIDAD 983
31.1 Inmunidad innata y reconocimiento de estructuras 983
31.2 Inmunidad adaptativa y la superfamilia de las inmunoglobulinas 986
II EL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD 987
31.3 Estructura de las proteínas MHC 988
31.4 Polimorfismos MHC y unión del antígeno 989
III ANTICUERPOS 990
31.5 Proteínas anticuerpo y unión al antígeno 990
31.6 Genes de anticuerpos y diversidad 991
IV RECEPTORES DE CÉLULAS T 993
31.7 Receptores de células T: proteínas, genes y diversidad 993
V SEÑALES MOLECULARES EN LA INMUNIDAD 994
31.8 Selección clonal y tolerancia 995
31.9 Activación de células T y B 997
31.10 Citocinas y quimiocinas 999

www.medilibros.com

La respuesta inmunitaria se desencadena cuando los antígenos (virus, aquí en rojo) se unen a moléculas receptoras específicas sobre la superficie de las células inmunitarias.

Hemos visto que la respuesta inmunitaria emplea proteínas para marcar a los patógenos. Este capítulo discute sobre estas proteínas y sus complejas interacciones moleculares. Primero examinaremos las proteínas que marcan a los patógenos como parte de la respuesta de inmunidad innata. Entonces volveremos nuestra atención hacia las proteínas de la superfamilia de las inmunoglobulinas, que unen antígenos. En la sección final, investigaremos las interacciones moleculares que controlan la señalización celular y activan la respuesta inmunitaria.

I RECEPTORES E INMUNIDAD

Primero examinaremos las moléculas de reconocimiento de estructuras (PRM, del inglés *pattern recognition molecules*). Son proteínas de la inmunidad innata que interaccionan con dianas moleculares de los patógenos. Luego discutiremos la familia de supergenes de inmunoglobulinas y su implicación en la respuesta de inmunidad adaptativa.

31.1 Inmunidad innata y reconocimiento de estructuras

Los organismos pluricelulares deben reconocer y controlar la infección por patógenos. Un sistema básico para el reconocimiento *innato* del patógeno está ampliamente distribuido en la naturaleza. Desde las plantas primitivas hasta los animales vertebrados, los organismos tienen mecanismos de reconocimiento molecular que activan rápida y efectivamente las defensas del hospedador.

Estructuras moleculares asociadas a patógenos y moléculas de reconocimiento de estructuras

Las **estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP** del inglés *pathogen associated molecular pattens*) son componentes estructurales comunes a un grupo particular de agentes infecciosos. Los PAMP suelen ser macromoléculas e incluyen polisacáridos, proteínas, ácidos nucleicos o incluso lípidos. El lipopolisacárido (LPS) de la pared celular de bacterias gramnegativas (*véase* Sección 4.7) es un ejemplo excelente de PAMP.

Las **moléculas de reconocimiento de estructuras (PRM)** son un grupo de proteínas del hospedador, solubles y unidas a la membrana, que interaccionan con PAMP. Los PRM solubles como la lectina que une mananos y las proteínas del complemento han sido discutidas previamente (Sección 29.11) (**Tabla 31.1**). El PAMP reconocido por la lectina que une mananos es el azúcar manosa, que se encuentra como subunidad repetitiva en polisacáridos bacterianos (la manosa en las células de mamífero es inaccesible para la lectina que une mananos). El complemento se une a una diversidad de componentes superficiales de patógenos. La proteína C reactiva, otro PRM, es una *proteína de fase aguda*, producida por el hígado en respuesta a la inflamación. La proteína C reactiva interacciona con macromoléculas de fosforilcolina de la pared celular de bacterias grampositivas. Todos estos PRM marcan PAM de la superficie de patógenos, conduciendo a la lisis u opsonización de la célula marcada.

Conservados evolutivamente, los PRM de membrana se encuentran en la superficie de macrófagos, monocitos, células dendríticas y neutrófilos. Estas células inician la fagocitosis (la ingestión y destrucción de los patógenos). Los PRM se descubrieron inicialmente en *Drosophila* (la mosca de la fruta), donde se les llamó receptores Toll

Tabla 31.1 Receptores y dianas en la respuesta inmunitaria innata

Moléculas de reconocimiento de estructuras (PRM)	*Estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP) y organismos diana*	*Resultados de interacción*
Lectina que une mananos[a] (soluble)	Componentes con manosa de la superficie de la célula microbiana, como en bacterias gramnegativas	Activación del complemento
Proteína C reactiva (soluble)	Componentes de paredes celulares de grampositivos	
TLR-1[b]	Lipoproteínas de micobacterias	Transducción de señales, activación de fagocitos e inflamación[c]
TLR-2	Peptidoglicano de bacterias grampositivas, zimosan de hongos	
TLR-3	dsRNA de virus	
TLR-4	LPS (lipopolisacárido) de bacterias gramnegativas	
TLR-5	Flagelina de bacterias	
TLR-6	Lipoproteínas de micobacterias; zimosan de hongos	
TLR-7	ssRNA de virus	
TLR-8	ssRNA de virus	
TLR-9	Oligonucleótidos CpG no metilados de bacterias	

[a] Los PMR solubles son producidos por células del hígado en respuesta a citocinas inflamatorias.
[b] Los receptores tipo Toll son PRMs integrados en la membrana que se expresan en fagocitos. TLR-1, -2, -4, -5 y -6 están en la membrana citoplásmica. TLR-3, -7, -8 y -9 se encuentran en las membranas de orgánulos intracelulares como los lisosomas.
[c] Los receptores tipo Toll están implicados en la activación de los fagocitos por transducción de señales.

www.medilibros.com

Información adicional

Receptores Toll de Drosophila: una respuesta antigua a la infección

Organismos pluricelulares como los invertebrados y las plantas carecen de inmunidad adaptativa, pero tiene una respuesta innata bien desarrollada frente a una amplia variedad de patógenos. La respuesta a los patógenos de la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster* (**Figura 1**) ha ayudado a comprender los mecanismos de la respuesta inmunitaria innata en muchos otros grupos de organismos. Para el desarrollo de la mosca de la fruta se requieren varias proteínas que son también importantes para reconocer bacterias invasoras, funcionando como moléculas de reconocimiento de estructuras (PRM) que interaccionan con estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP) presentes en las macromoléculas producidas por el patógeno. El mejor ejemplo de PRM es *Drosophila* Toll, una proteína transmembrana implicada en la formación del eje dorso-ventral así como en la inmunidad innata de la mosca.

La señal inmunitaria de Toll se inicia por la interacción de un patógeno o sus componentes con la proteína Toll dispuesta en la superficie de los fagocitos. Sin embargo, Toll de *Drosophila* no interacciona directamente con el patógeno. Los acontecimientos de transducción de señal comienzan con la unión de un PAMP como el lipopolisacárido (LPS) de bacterias gramnegativas (Sección 4.7) por una o más proteínas accesorias (la Figura 31.1 muestra el sistema análogo TLR-4 en el ser humano). El complejo LPS-proteínas accesorias se une a Toll. La proteína Toll, integrada en la membrana, inicia una cascada de transducción de señal, activando un factor nuclear de transcripción e induciendo la transducción de varios genes que codifican péptidos antimicrobianos. Los factores de transcripción asociados a Toll inducen la transcripción de péptidos antimicrobianos, entre ellos la drosomicina, un péptido antifúngico, la diptericina, activa frente a bacterias gramnegativas, y una defensina, activa frente a bacterias grampositivas. Los péptidos, producidos en el cuerpo graso similar al hígado de *Drosophila*, son liberados en el sistema circulatorio de la mosca donde interaccionan con sus organismos diana y causan la lisis celular.

Estructuralmente, las proteínas Toll están relacionadas con las lectinas, un grupo de proteínas virtualmente presentes en todos los organismos pluricelulares, incluyendo vertebrados y plantas. Las lectinas interaccionan específicamente con ciertos monómeros oligosacarídicos. En el ser humano, los receptores tipo Toll (TLR) reaccionan con una amplia variedad de PAMP. Como Toll de *Drosophila*, el TLR-4 humanos aporta inmunidad innata frente a bacterias gramnegativas a través de la interacción indirecta con el LPS, iniciando una cascada de señales tipo quinasa que activan el factor nuclear NFκB. NFκB activa la transcripción de citocinas y otras proteínas de fagocitos que participan en las respuestas del hospedador (Figura 31.1).

Toll de *Drosophila* es un ancestro funcional, evolutivo y estructural de los receptores tipo Toll en los vertebrados superiores, incluyendo los seres humanos. Toll y sus homólogos son componentes evolutivamente antiguos y bien conservados del sistema de inmunidad innata en los animales e incluso han sido encontrados en plantas.

Figura 1 ***Drosophila melanogaster*, la mosca común de la fruta.** *En este insecto fue descubierta por primera vez la proteína Toll, un análogo de los receptores tipo Toll de vertebrados superiores.*

medilibros.com

(*véase* Información adicional, «Receptores Toll de *Drosophila:* una respuesta antigua a la infección»). Homólogos estructurales, funcionales y evolutivos de los receptores Toll, llamados **receptores tipo Toll** (**TLR** del inglés *Toll-like receptors*), están ampliamente expresados sobre los fagocitos de los mamíferos. Al menos nueve TLR en el ser

humano interaccionan con una diversidad de PAMP solubles y de la superficie de virus, bacterias y hongos. La Tabla 31.1 identifica algunos de los TLR conocidos, otros PRM y sus PAMP asociados.

Varios TLR interaccionan con más de un PAMP. Por ejemplo, TLR-4 es parte de la respuesta de inmunidad innata al LPS de gramnegativos y también responde a una molécula de respuesta del hospedador llamada *proteína de choque térmico*. Ni el LPS ni la proteína de choque térmico interaccionan directamente con TLR-4, sino que interaccionan con una proteína receptora que, a su vez, interacciona con TLR-4. En otros casos, el TLR une directamente al PAMP, como es el caso de TLR-5 y su diana, la flagelina.

La interacción de un PAMP con el TLR desencadena un mecanismo de transducción de señal transmembrana, iniciando la transcripción de DNA que conduce a la síntesis de proteínas específicas y a la activación del fagocito. La activación tiene como resultado un incremento de la fagocitosis y muerte de patógenos o contribuye a la inflamación (Secciones 29.2 y 29.3).

Transducción de señales

La membrana citoplasmática presenta una barrera a los PAMP. Las células eucariotas deben responder al peligro de estas moléculas no permitiendo la entrada de los PAMP en la célula. Las células transmiten señales desde los PAMP a través de la membrana utilizando los receptores de membrana PRM para conectar con vías comunes de activación denominadas *vías de transducción de señales* dentro de la célula. Estas vías inician la transcripción y traducción de proteínas de respuesta del hospedador de forma parecida a los mecanismos de transducción de señales de membrana en procariotas (Sección 9.5). Por ejemplo, la vía puede activarse por la unión de LPS (un PAMP) a TLR-4 (un PRM) (**Figura 31.1**). TLR-4 se une entonces a proteínas del citosol, iniciando una cascada de reacciones que activa a factores de transcripción como NFκB (factor nuclear kappa B), una proteína que se une a sitios reguladores específicos en el DNA, iniciando la transcripción de los genes contiguos en el sentido de la transcripción. Muchos de los genes regulados por NFκB codifican proteínas de respuesta innata del hospedador, tales como las citocinas que inician la inflamación.

TLR-4 consta de tres dominios proteínicos distintos, con funciones diferentes. El dominio externo de TLR-4 contiene un sitio de unión para el LPS acomplejado con la proteína de superficie celular CD14 (Figura 31.1). Un dominio transmembrana en TLR-4 conecta el dominio externo con un dominio citoplásmico. La unión del complejo CD14/LPS por el dominio externo de TLR-4 causa un cambio en la conformación del tercer dominio, el citoplásmico, exponiendo un sitio que interacciona con una proteína adaptadora. La proteína adaptadora, a su vez, se altera y se une a una segunda proteína adaptadora. La segunda proteína adaptadora inicia una cascada de quinasas, activando más proteínas a través de fosforilación mediada por ATP de TRAF6, otra quinasa que a su vez activa a IκK (inhibidor de la quinasa kappa). A continuación, IκK fosforila a la proteína IκB (inhibidor de kappa B), haciendo que se disocie de NFκB, el cual entonces se difunde a través de la membrana nuclear, se une a los

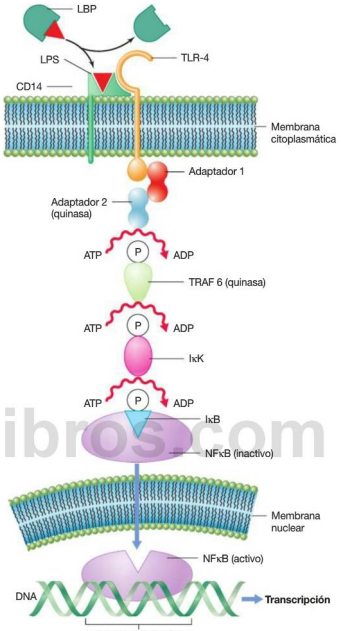


Figura 31.1 Transducción de señal en la inmunidad innata. La transducción de señal se inicia cuando el LPS, un PAMP, se une a LBP (proteína de unión al lipopolisacárido), la cual transfiere el LPS a CD14 en la superficie del fagocito. El complejo LPS-CD14 se une al receptor transmembrana TLR-4. La unión a TLR-4 inicia una serie de reacciones que implican proteínas adaptadoras y quinasas, con el resultado de la activación de NFκB (factor nuclear kappa B, un factor de transcripción). NFκB se difunde a través de la membrana nuclear, se une al DNA e inicia la transcripción de proteínas esenciales para la inmunidad innata.

www.libros.com

motivos de DNA con afinidad para NFκB e inicia la transcripción de los genes situados a continuación. Como muestra este ejemplo, las vías de transducción de señales inducen activación transcripcional a través de la unión de ligandos a receptores en la superficie celular. La interacción de ligandos y receptores fuera de la célula induce la unión y concentración de proteínas adaptadoras y enzimas quinasas dentro de la célula. Una única enzima quinasa puede catalizar la fosforilación de muchas dianas, amplificando el efecto de una única interacción ligando-receptor.

La transducción de señales conducente a la activación de factores de transcripción compartidos y a la producción de proteínas es también el mecanismo de activación para fagocitos y linfocitos en la inmunidad adaptativa. La unión del antígeno a la Ig de membrana y al TCR de las células B y T inicia cascadas de transducción de señales, que una vez más terminan con la activación de NFκB y otros factores de transcripción en los linfocitos que responden a antígenos.

31.1 Minirrevisión

Las interacciones entre PAMP y PRM del hospedador son componentes integrantes de la respuesta de inmunidad innata. Los PRM interaccionan con los PAMP compartidos por varios patógenos, activando complemento y fagocitos para marcar y destruir patógenos. Estas interacciones inician cascadas de transducción de señales que activan a las células efectoras.

- Identifique la diana de TLR-4 y el resultado para la célula del hospedador y para el patógeno que contiene la diana.
- Defina las características generales de un sistema de transducción de señales que empieza con la unión de un PAMP a un PRM transmembrana.

32.2 Inmunidad adaptativa y la superfamilia de las inmunoglobulinas

La **superfamilia de genes de las inmunoglobulinas** consiste en un gran número de genes y sus productos proteínicos que comparten características estructurales, evolutivas y funcionales con las inmunoglobulinas y sus genes. Las proteínas que unen antígenos en la respuesta de inmunidad adaptativa son parte de esta extensa familia.

Como hemos discutido en el Capítulo 29, tres proteínas de superficie diferentes interaccionan directamente con los antígenos durante la respuesta de inmunidad adaptativa. Son las **inmunoglobulinas** (Igs o anticuerpos) producidas por las células B que interaccionan con antígenos; los **receptores de células T** que unen antígenos (TCR) en la superficie de las células T; y las proteínas del **complejo principal de histocompatibilidad (MHC)** que presentan el antígeno. Cada una de estas tres proteínas que unen antígenos tiene una ubicación, estructura y función diferentes. Las proteínas MHC, presentes en la superficie de todas las células, presentan antígenos a los TCR presentes exclusivamente en las células T (Sección 29.6). Las Igs, presentes en la superficie de los linfocitos B y en el suero y ciertas secreciones, interaccionan directamente con antígenos extracelulares (Sección 29.9).

Estructura y evolución de las proteínas que unen antígenos

Las proteínas Ig, TCR y MHC comparten características estructurales y han evolucionado por duplicación y selección de receptores primordiales para antígeno. Algunas proteínas importantes de la superfamilia Ig se muestran en la **Figura 31.2**. Las proteínas constan de un número de **dominios** discretos, regiones de la proteína que tienen una estructura y función definidas. Cada proteína tiene al menos un dominio con una secuencia de aminoácidos altamente conservada, llamado *dominio constante (C)*. Típicamente, el domino C tiene alrededor de 100 aminoácidos y un puente disulfuro intracatenario que abarca 50-70 aminoácidos.

Los *dominios variables (V)* de las proteínas TCR, Ig y MHC tienen aproximadamente el mismo tamaño que los dominios constantes, pero las estructuras de los dominios V pueden diferir considerablemente entre sí y de los dominios C. Los dominios C aportan la integridad estructural para las moléculas que unen antígenos, unen a los dominios V a la membrana y dan a cada proteína su forma característica. Los dominios C también aportan sitios de reconocimiento para moléculas accesorias. Por ejemplo los dominios C de la mayoría de las proteínas IgG y de todas las IgM son dianas para el componente C1q del complemento, un primer paso crítico en la iniciación de la secuencia de activación del complemento (Sección 29.11). De similar manera, los dominios C de las moléculas MHC de clase I unen la proteína accesoria CD8 sobre las células T citotóxicas (T_C), y los dominios constantes homólogos de MHC de clase II unen CD4 sobre las células T cooperadoras (T_H). Las interacciones MHC I-CD8 y MHC II-CD4 son pasos críticos para la activación de las células T (Sección 29.6). Por contraste, los dominios V han evolucionado para interaccionar con antígenos no propios.

Cada una de las proteínas TCR, Ig y MHC consiste en dos polipéptidos no idénticos. El TCR consiste en una cadena α y una cadena β. Las proteínas MHC también poseen dos cadenas polipeptídicas diferentes, igualmente designadas α y β (Sección 29.6). Las Igs tienen cadenas pesadas y ligeras (Sección 29.9). Estos heterodímeros se expresan en una superficie celular y unen antígenos. Sin embargo, la función específica de cada una de estas moléculas es muy diferente. Las Igs pueden estar ancladas en la superficie de células B donde se unen a los patógenos y a productos suyos como las toxinas. Las Igs tam-

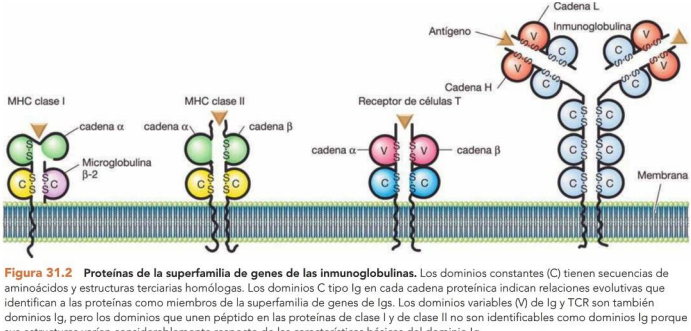


Figura 31.2 **Proteínas de la superfamilia de genes de las inmunoglobulinas.** Los dominios constantes (C) tienen secuencias de aminoácidos y estructuras terciarias homólogas. Los dominios C tipo Ig en cada cadena proteínica indican relaciones evolutivas que identifican a las proteínas como miembros de la superfamilia de genes de Igs. Los dominios variables (V) de Ig y TCR son también dominios Ig, pero los dominios que unen péptido en las proteínas de clase I y de clase II no son identificables como dominios Ig porque sus estructuras varían considerablemente respecto de las características básicas del dominio Ig.

bién se producen en grandes cantidades como proteínas séricas solubles. Los TCR, presentes exclusivamente en los linfocitos T, interaccionan con péptidos antigénicos derivados de proteínas procesadas de patógenos. Estos péptidos son presentados por las proteínas MHC sobre células diana o sobre APC. Las células T que responden al antígeno pueden entonces matar a la célula portadora de antígenos o producir proteínas que activen la respuesta inmunitaria (Secciones 29.7 y 29.8).

31.2 Minirrevisión

La superfamilia de genes Ig codifica proteínas que evolutiva, estructural y funcionalmente están relacionadas con las inmunoglobulinas. Las proteínas Igs, TCR y MHC, que unen antígenos, son miembros de esa familia.

- Describa las características estructurales del dominio constante de Ig.
- ¿En qué se diferencian las estructuras de los dominios V y C?
- Identificar los antígenos unidos por las proteínas Ig, TCR y MHC.

www.elibros.com

II EL COMPLEJO PRINCIPAL DE HISTOCOMPATIBILIDAD

El complejo principal de histocompatibilidad (MHC, del inglés *major histocompatibility complex*) es un grupo de genes que se encuentran en todos los vertebrados. Las proteínas del MHC juegan un papel crítico en la presentación de antígenos procesados a otros componentes del sistema inmunitario. El MHC abarca 4 Mbp sobre el cromosoma humano 6 y se le conoce como complejo de **antígenos de leucocitos humanos (HLA**, del inglés *Human leukocyte antigen*) (**Figura 31.3**).

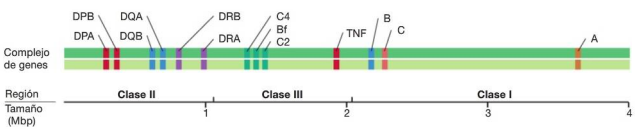


Figura 31.3 **El mapa génico de los antígenos de leucocitos humanos (HLA).** El complejo HLA, localizado en el cromosoma 6, tiene más de 4 millones de bases de longitud. Los genes de clase II, *DPA* y *DPB* codifican las proteínas de clase II Dpα y DPβ; *DQA* y *DQB* codifican DQα y DQβ; *DRA* y *DRB* codifican DRα y DRβ. Los genes de clase III codifican varias proteínas asociadas con el reconocimiento inmunitario, así como otras proteínas. Los genes *C4* y *C2* codifican las proteínas del complemento C4 y C2 (Sección 29.11). El gen *TNF* codifica una citocina, el factor necrosante de tumores. Las proteínas MHC de clase I, HLA-B, HLA-C y HLA-A están codificadas por los genes *B*, *C* y *A*.

UNIDAD 7

31.3 Estructura de las proteínas MHC

Las proteínas MHC constituyen la principal barrera antigénica para los trasplantes de tejidos, de ahí su nombre. La mayoría de los individuos tienen proteínas MHC ligeramente diferentes, y el tejido trasplantado de un individuo a otro es usualmente rechazado por una respuesta inmunitaria desencadenada por esas diferencias. Esta propiedad de las proteínas MHC insinúa su función natural. Las proteínas MHC se expresan siempre en la superficie celular formando un complejo con un péptido incrustado. En células normales, el péptido incrustado se deriva de los productos fragmentados del metabolismo celular. Por tanto, las proteínas MHC sujetan péptidos propios incrustados. En las células infectadas por un virus, sin embargo, algunos de los péptidos incrustados derivan del virus. Estos péptidos virales, cuando se acomplejan con las proteínas MHC, se parecen mucho a las pequeñas alteraciones de las proteínas MHC en un trasplante. Como resultado, los complejos péptido viral-MHC son reconocidos como no propios y marcados para su destrucción por las células T. Las proteínas MHC están diseñadas para presentar péptidos a las células T para su muestreo y posible marcaje (Sección 29.6).

Las proteínas MHC se dividen en dos clases estructurales. Las *proteínas MHC de clase I* se encuentran en la superficie de todas las células nucleadas. Como norma, las proteínas de clase I presentan péptidos antigénicos a las células T citotóxicas (T_C). Si los péptidos incrustados en clase I son reconocidos por células T_C, la célula que contiene los antígenos es marcada y destruída directamente (Sección 29.7). Las *proteínas MHC de clase II* están presentes sólo en la superficie de linfocitos B, macrófagos y células dendríticas, las APC profesionales (Sección 29.6). A través de las proteínas de clase II, las APC se implican en la presentación de antígenos a las células T_H (T cooperadoras), estimulando ya sea reacciones inflamatorias o respuestas de anticuerpos (Sección 29.8).

Proteínas MHC de clase I

Una **proteína MHC de clase I** consiste en dos polipéptidos (**Figura 31.4**). La cadena alfa (α) integrada en la membrana está codificada en la región MHC del cromosoma 6. El otro polipéptido de clase I, asociado de forma no covalente, es la beta-2 microglobulina (β_2m). La estructura tridimensional de la proteína MHC de clase I revela una forma distintiva que sugiere como esta proteína interacciona simultáneamente con el péptido antigénico y el TCR. La cadena α de clase I se pliega para formar una ranura, cerrada en ambos extremos, entre dos hélices tipo α que encuadran una hoja tipo β. En el retículo endoplasmático, la ranura MHC I se carga con péptidos que encajan en ella, de alrededor de ocho a diez aminoácidos de longitud, derivados de proteínas endógenas degrada-

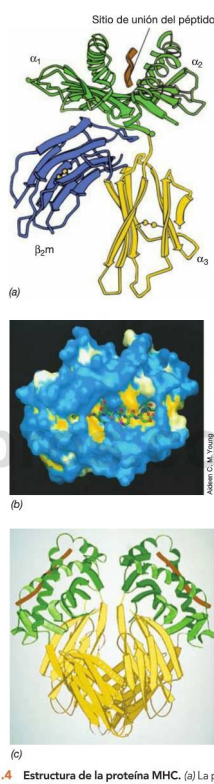


Figura 31.4 Estructura de la proteína MHC. *(a)* La proteína MHC de clase I. La β-2 microglobulina (β2m) se une de forma no covalente a la cadena α. *(b)* Una proteína MHC I con un péptido unido, visto desde arriba. Se muestra un péptido de nueve aminoácidos como una estructura en esqueleto de carbonos, incrustado en un modelo de espacio relleno de una proteína murina MHC I. *(c)* Una proteína dimérica de clase II. Los péptidos y sus posiciones en el sitio de unión a las proteínas MHC II asociadas están en marrón. Una forma helicoidal indica la estructura de la proteína en hélice alfa y una forma plana indica una hoja beta (Figura 3.16).

das. Por ejemplo, las proteínas virales producidas dentro de la célula son degradadas en péptidos, que se cargan en las proteínas MHC de clase I, y transitan hacia la superficie celular para ser reconocidas por los TCR de las células T_C (Secciones 29.6 y 31.7).

Proteínas MHC de clase II

Una **proteína MHC de clase II** consiste en dos polipéptidos integrados en la membrana y unidos de forma no covalente, α y β, presentes solo en APC. Un polipéptido α y otro β, expresados juntos, forman un heterodímero (Figura 31.4). Las proteínas de clase II pueden organizarse en parejas o trímeros que aumentan su estabilidad. Los dominios α1 y β1 de la proteína de clase II interaccionan para formar un sitio de unión de péptidos similar al de la clase I. Sin embargo, los extremos de la ranura están abiertos, permitiendo a la proteína de clase II unir y presentar péptidos que pueden superar los 10 aminoácidos. Los péptidos que se unen a clase II pueden ser de 10 a 20 o más aminoácidos de longitud y son generalmente fragmentos proteolíticos derivados de patógenos exógenos procesados por APC (Sección 29.6). Las APC usan los complejos clase II-péptido para interaccionar con los TCR de las células T_H, conduciendo a la activación T_H (Sección 29.8).

31.3 Minirrevisión

Las proteínas MHC de clase I se expresan en todas las células y funcionan presentando péptidos antigénicos endógenos a los TCRs de las células T_C. Las proteínas MHC de clase II se expresan sólo en APC. Funcionan presentando péptidos derivados de antígenos exógenos a los TCR de células T_H.

- Compare las estructuras de las proteínas MHC de clases I y II. ¿En qué difieren? ¿En qué se parecen?
- Compare los sitios de unión de péptidos de las proteínas MHC de clases I y II. ¿En qué difieren? ¿En qué se parecen?

31.4 Polimorfismo MHC y unión del antígeno

Hay al menos tres genes MHC humanos de clase I, *HLA-A*, *HLA-B* y *HLA-C*, y todos son muy polimórficos. El **polimorfismo** es la existencia de múltiples alelos (formas alternativas de un gen) para un locus específico (la posición de un gen en el cromosoma) en una población, en frecuencias que no pueden ser explicadas por mutaciones al azar. Por ejemplo, hay 313, 559 y 150 alelos diferentes en los loci HLA-A, HLA-B y HLA-C, respectivamente, en la población humana. Cada persona, sin embargo, tiene solamente dos de esos alelos en cada locus; un alelo es de origen paterno y otro materno. Las dos proteínas variantes alélicas se expresan de forma codominante (con igual intensidad).

De modo similar, alelos altamente polimórficos codifican proteínas de clase II en los loci *HLA-DR*, *HLA-DP* y *HLA-DQ*. También aquí, los productos de genes de clase II se expresan de forma codominante. Por tanto, un individuo usualmente presenta seis de muchos alelos estructural y genéticamente diferentes que codifican proteínas de clase I y seis que codifican distintas proteínas de clase II. Estas variaciones polimórficas en las proteínas MHC son las principales barreras para el éxito de los trasplantes de tejidos porque las proteínas MHC del tejido del donante (injerto) son reconocidas como antígenos extraños por el sistema inmune del receptor. Una respuesta inmunitaria dirigida frente a las proteínas MHC del injerto causa la muerte de las células y el rechazo del injerto.

Variaciones estructurales del MHC

Las variaciones alélicas en las proteínas MHC se traducen en cambios de aminoácidos que se concentran en la ranura donde se une el antígeno, y cada variación polimórfica de las proteínas MHC une un conjunto diferente de péptidos antigénicos. Los péptidos unidos por una determinada proteína MHC comparten una característica estructural común, o **motivo** peptídico, y cada proteína MHC diferente une un motivo diferente. Por ejemplo, todos los péptidos de ocho aminoácidos unidos por una cierta proteína de clase I pueden tener una fenilalanina en posición 5 y una leucina en posición 8. Por tanto, todos los péptidos con la secuencia X-X-X-X-fenilalanina-X-X-leucina (donde X es cualquier aminoácido) podrían ser unidos y presentados por la proteína MHC. Una proteína MHC de clase I codificada por un alelo diferente une un motivo diferente, con nueve aminoácidos y aminoácidos invariantes en posición 2, tirosina, y 9, isoleucina (X-tirosina-X-X-X-X-X-X-isoleucina).

Los aminoácidos invariantes en cada motivo son los *residuos de anclaje*: se unen directa y específicamente dentro de la ranura que une péptidos en una proteína MHC individual. Por tanto, una proteína MHC individual puede unir y presentar diferentes péptidos siempre que estos contengan los mismos residuos de anclaje. Cada proteína MHC une un motivo distinto con diferentes residuos de anclaje. De esta manera, las seis proteínas MHC I posibles en un individuo unen seis motivos diferentes y presentan un gran número de péptidos antigénicos diferentes. Las proteínas MHC II unen péptidos de una manera análoga. Como resultado, dentro de la especie humana, al menos unos pocos péptidos antigénicos de cada patógeno presentarán un motivo que será unido y presentado por proteínas MHC. Por otra parte, Ig y TCR también unen antígenos, pero cada Ig o TCR interacciona muy específicamente con un *único* antígeno. Estas proteínas emplean un mecanismo genético único para generar una diversidad virtualmente ilimitada (Sección 31.6).

www.medilib

31.4 Minirrevisión

Los genes MHC codifican proteínas usadas para presentar péptidos antigénicos a las células T. Los genes MHC de clases I y II son muy polimórficos. Los alelos MHC de clases I y II codifican proteínas que unen y presentan péptidos con motivos estructurales conservados.

- Defina el polimorfismo de los genes MHC.
- ¿Cómo pueden presentar las proteínas MHC individuales muchos péptidos diferentes a las células T?

III ANTICUERPOS

Los **anticuerpos** o inmunoglobulinas (Ig) son proteínas solubles del suero y otros fluidos corporales, donde la Ig funciona para neutralizar y opsonizar antígenos extraños, o receptores para antígenos en la superficie de las células B. En esta sección, veremos la estructura, la función de unir el antígeno, la organización genética y la generación de la diversidad en las infinitamente variables Ig.

31.5 Proteínas anticuerpo y unión al antígeno

Las inmunoglobulinas constan de cuatro polipéptidos, dos cadenas pesadas (H) y dos cadenas ligeras (L) (Figura 31.2). Una unidad completa de unión al antígeno consiste en un heterodímero de cadena pesada y ligera. Las cadenas pesadas y ligeras constan de dominios C (constante) y V (variable), siendo los dominios C responsables de funciones comunes como la unión del complemento, mientras que los dominios V de una cadena H y una cadena L interaccionan para formar un sitio de unión al antígeno (**Figura 31.5**). Aquí examinamos las características estructurales de los dominios V y del sitio de unión al antígeno.

Dominios variables

Las secuencias de aminoácidos son considerablemente diferentes en los dominios *variables* (dominios V) de diferentes Ig (Figura 31.5). La variabilidad de los aminoácidos es especialmente aparente en varias **regiones determinantes de complementaridad** (**CDR**, del inglés *complementarity-determining regions*). Las tres CDR en cada uno de los dominios V aportan la mayoría de los contactos moleculares con el antígeno. CDR1 y CDR2 difieren algo entre diferentes inmunoglobulinas, pero los CDR3 difieren muy notablemente unos de otros. El CDR3 de la cadena pesada tiene una estructura particularmente compleja, codificada por tres segmentos génicos distintos (*véase* más adelante). El CDR3 consiste en la porción carboxilo-terminal del dominio V, seguido por un corto segmento de «diversidad» (D) de unos tres aminoácidos, y un segmento mayor de «unión» (J, del inglés *joining*) de 13-15 aminoácidos de longitud. El CDR3 de la cadena ligera es similar, pero carece del segmento D. Todos los CDR de la cadenas pesadas y ligeras cooperan en la unión del antígeno.

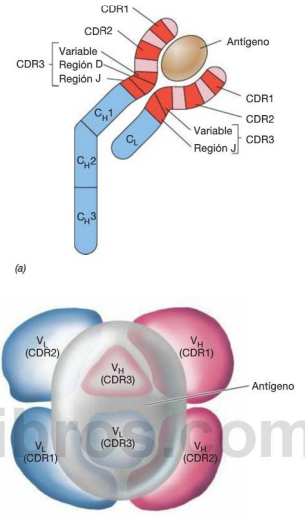


Figura 31.5 Unión al antígeno por las cadenas ligera y pesada de las inmunoglobulinas. *(a)* La mitad de una Ig se muestra esquemáticamente, con un antígeno unido. Los dominios variables (V) de las cadenas pesada (H) y ligera (L) se muestran en rojo, con las regiones de unión al antígeno CDR1, CDR2 y CDR3. C_H1, C_H2 y C_H3 son dominios constantes de la cadena pesada, y C_L es el dominio constante de la cadena ligera. *(b)* Las regiones determinantes de complementaridad (CDR) de las cadenas pesada y ligera en *(a)* están configuradas para construir un único sitio de unión al antígeno, o bolsillo, en la Ig. El sitio se muestra desde arriba. Las áreas de unión rojas pertenecen a la cadena pesada y las azules a la cadena ligera. Las regiones altamente variables CDR3 de ambas cadenas, pesada y ligera, cooperan en el centro del sitio. Un antígeno está representado en gris, solapando el sitio y contactando con todas las CDR. La forma real del sitio puede ser una ranura superficial o un bolsillo profundo, dependiendo del par anticuerpo-antígeno implicado.

www.medilibros.com

Unión del antígeno

La estructura tridimensional de la Ig se muestra en la Figura 29.16. El principio de todas las reacciones de anticuerpos reside en la combinación específica de los determinantes del antígeno con los dominios variables de las cadenas pesada y ligera asociadas. El sitio de unión al antígeno de una molécula de anticuerpo mide alrededor de 2×3 nm, lo bastante grande para acomodar una pequeña porción del antígeno, llamada un **epítope**, de unos 10 a 15 aminoácidos de largo. La unión del antígeno es finalmente una función del modo en que la Ig pliega las cadenas polipeptídicas pesada y ligera. Los pliegues de la Ig en la región V llevan a los seis CDR (CDR1, 2 y 3 de ambas cadenas, pesada y ligera) juntos en un extremo de la proteína Ig. El resultado es un sitio único y específico de unión al antígeno (*véanse* Figura 29.16 y Figura 31.5). En la próxima sección, examinamos los mecanismos genéticos que generan la tremenda diversidad encontrada en las proteínas Ig.

31.5 Minirrevisión

El sitio de unión al antígeno de una Ig se compone de los dominios V (variables) de una cadena pesada y una cadena ligera. Cada cadena pesada y ligera contiene tres regiones determinantes de complementaridad o CDR, que se pliegan juntas para formar el sitio de unión al antígeno.

- Dibuje una molécula de Ig completa e identifique los sitios de unión al antígeno del anticuerpo.
- Describa la unión del antígeno a las regiones CDR1, 2 y 3 de los dominios variables de las cadenas pesada y ligera.

31.6 Genes de anticuerpos y diversidad

Para la mayoría de las proteínas, un gen codifica una proteína. Sin embargo, este no es el caso con las cadenas pesada y ligera de las inmunoglobulinas. Ya que colectivamente, los anticuerpos deben reconocer y unir una amplia variedad de estructuras moleculares, el sistema inmunitario debe ser capaz de generar una casi ilimitada variación de anticuerpos. Curiosamente, esto se hace utilizando un número de genes muy limitado. La recombinación somática, la reorganización al azar de cadenas pesadas y ligeras, codificando para una diversidad compartida, y la hipermutación contribuyen a la casi ilimitada diversidad generada a partir de un número fijo, relativamente pequeño, de genes de Ig.

Genes de inmunoglobulinas

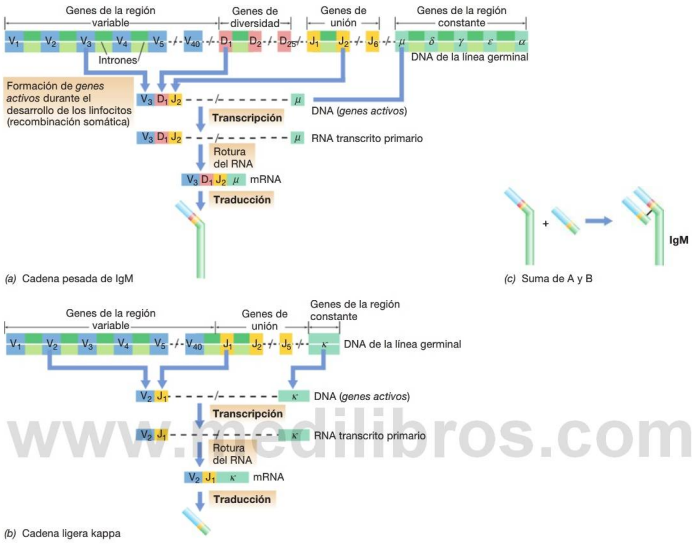
Los genes que codifican cada cadena H o L de inmunoglobulina están formados por varios segmentos de genes, y cada segmento codifica una porción del gen definitivo. En cada célula B, estos segmentos de genes sufren una serie de reorganizaciones somáticas (recombinación seguida de deleción de las secuencias que intervienen), formando un amplio número de genes de anticuerpos por recombinación de segmentos en todas las combinaciones posibles. Los estudios moleculares han verificado esta hipótesis de «genes en piezas», demostrando que los segmentos génicos V, D y J que codifican los dominios variables de las cadenas pesadas, así como los genes que codifican los dominios C, están separados unos de otros en el genoma. Los segmentos génicos, sin embargo, llegan a estar juntos (recombinados somáticamente) para formar un único gen maduro de cadena pesada de Ig en cada célula B madura (**Figura 31.6**). Un único gen V codifica CDR1 y CDR2, mientras que CDR3 es un mosaico del extremo 3′ del gen V, seguido de los genes D y J.

En cada célula B, solamente ocurre una reorganización productora de proteínas en los genes de cadenas pesadas y de cadenas ligeras. Este mecanismo, llamado *exclusión alélica*, asegura que cada célula B produce solamente una Ig. Por último, los dominios constantes que definen la clase de la Ig están codificados por genes separados. Por tanto, cuatro segmentos génicos diferentes, V, D, J y C, se recombinan para formar un gen funcional de cadena pesada. De forma similar, las cadenas ligeras están codificadas por productos de la recombinación de genes V, J y C de cadenas ligeras.

Los segmentos génicos requeridos para todas las Ig existen en todas las células pero sufren recombinación solamente en los linfocitos B en desarrollo. Como se muestra en la Figura 31.6, cada célula B contiene múltiples genes V y J para las cadenas ligeras kappa (κ) y lambda (λ), dispuestos en tándem. Cada célula B también contiene genes V, genes D y genes J en tandem para las cadenas pesadas. Además, están presentes los genes del dominio constante de las cadenas pesadas (C_H) y de las cadenas ligeras (C_L). Los genes V, D, J y C están separados por secuencias no codificantes (intrones), típicas de la disposición de los genes en eucariotas. La recombinación genética ocurre en cada célula B durante el desarrollo de los linfocitos B. Segmentos V, D y J seleccionados al azar se recombinan para formar un gen funcional de cadena pesada. En otro cromosoma, V y J también se recombinan al azar para formar un gen de cadena ligera. El gen activo, todavía conteniendo secuencias de intervención entre los segmentos génicos VDJ o VJ y los segmentos génicos C, se transcribe, y el RNA primario resultante se corta para producir el mRNA final. Entonces, el mRNA es traducido para hacer las cadenas pesadas y ligeras de la molécula de Ig.

Reorganización y unión VDJ

Hasta este punto, toda la diversidad de Igs se ha generado por recombinación de genes existentes. Los genes finales de las cadenas ligera y pesada expresados por una célula B dada resultan de la reorganización al azar de los segmentos génicos de las cadenas ligera y pesada (Figura 31.6). En el ser humano, por ejemplo, en base al número



www.edilibros.com

Figura 31.6 **Reorganización de los genes de inmunoglobulinas en células B humanas.** Los genes de Ig se disponen en tándem sobre tres cromosomas diferentes. *(a)* El complejo de genes de la cadena pesada (H) en el cromosoma 14. Las cajas rellenas representan genes que codifican Ig. Las líneas discontinuas indican las secuencias de intervención y no figuran a escala. *(b)* El complejo de la cadena ligera kappa (κ) en el cromosoma 2. Los genes de la cadena ligera lambda (λ) están en un complejo similar en el cromosoma 22. *(c)* Ensamblaje de media molécula de anticuerpo.

de genes en el locus de la cadena ligera kappa (κ), hay 40 V × 5 J reordenamientos posibles o sea 200 cadenas κ posibles. Para la cadena ligera alternativa lambda (λ), hay 30 V × 4 J, o 120 combinaciones posibles. Hay aproximadamente 40 V × 25 D × 6 J o 6.000 cadenas pesadas posibles. Asumiendo que cada cadena pesada y cada cadena ligera tiene iguales oportunidades para ser expresadas en cada célula, hay 6.000 × 200 o 1.200.000 posibles inmunoglobulinas con cadenas ligeras κ, y 6.000 × 120 o 720.000 inmunoglobulinas posibles con cadena λ. Por tanto, pueden expresarse al menos 1.920.000 anticuerpos posibles.

Se genera una diversidad adicional por el mecanismo de empalme del DNA. El empalme de los segmentos V-D o D-J en la cadena pesada o V-J en la cadena ligera es imprecisa y frecuentemente la secuencia de estas uniones codificantes varía en unos pocos nucleótidos. Todavía se genera más diversidad por adición de nucleótidos en las uniones codificantes V-D y D-J en los genes de la cadena pesada, y V-J en los genes de las cadenas ligeras. Pueden añadirse nucleótidos tanto al azar (N) como copiando un molde (P). Esta diversidad N y P en las uniones codificantes del dominio V cambia o añade aminoácidos en el CDR3 de ambas cadenas, pesada y ligera.

Hipermutación

Finalmente, la diversidad de los anticuerpos se expande todavía más en las células B por **hipermutación somática**, la mutación de los genes Ig a tasas mucho mayores que las observadas en otros genes. La hipermutación somática de los genes de Ig es típicamente evidente después de una segunda exposición a un antígeno inmunizante.

Como hemos visto, una segunda exposición al antígeno tiene como resultado un cambio en la clase predominante del anticuerpo producido, con un cambio de producción de IgM a IgG (Sección 29.10). La hipermutación somática ocurre solamente en las regiones V de los genes reorganizados de las cadenas pesada y ligera. En un proceso general al azar, las células B portadoras de receptores mutados compiten por el antígeno disponible. Este proceso selecciona a los receptores de células B que se unen mejor porque tienen mayor fuerza de unión al antígeno (afinidad) que el receptor B original. Este proceso de *maduración de afinidad* es uno de los factores responsables de la eficacia mucho mayor de la respuesta inmunitaria secundaria (*véase* Figura 29.21). Los mecanismos somáticos responsables de la maduración de afinidad añaden posibilidades virtualmente ilimitadas a la generación de la diversidad de Igs, haciendo el repertorio potencial de anticuerpos casi ilimitado.

31.6 Minirrevisión

La diversidad de las inmunoglobulinas se genera por varios mecanismos. La recombinación somática de segmentos de genes permite barajar los diversos segmentos de genes de Ig. La reorganización al azar de los genes de las cadenas pesadas y ligeras, el empalme impreciso de los segmentos VDJ y VJ y los mecanismos de hipermutación contribuyen a una casi ilimitada diversidad de inmunoglobulinas.

- Describa los acontecimientos de recombinación que producen un gen maduro de cadena pesada.
- Describa otros acontecimientos somáticos que adicionalmente incrementan la diversidad de los anticuerpos.

IV RECEPTORES DE CÉLULAS T

Loa TCR son los receptores de antígeno en la superficie de las células T, que reconocen péptidos antigénicos incrustados en las proteínas MHC. En esta sección, veremos la estructura, función de unión al antígeno y organización genética de los TCR.

31.7 Receptores de células T: proteínas, genes y diversidad

Las proteínas TCR están integradas en la membrana de la superficie de las células T. Los TCR constan de dos polipéptidos, la cadena alfa (α) y la cadena beta (β). El TCR α/β une específicamente péptidos extraños que están incrustados en las moléculas MHC en la superficie de APC o células diana (Sección 29.6). Por tanto, los TCR unen una proteína MHC propia y un péptido extraño. Los TCR llevan a cabo esta función dual a través de un sitio de unión compuesto por los dominios V de las cadenas α y β. Los dominios V de las cadenas α y β de los TCR contienen segmentos CDR1, CDR2 y CDR3 que interaccionan directamente con el complejo MHC-péptido antigénico.

Proteínas TCR

La estructura tridimensional del complejo TCR-MHC-péptido se muestra en la **Figura 31.7.** Ambas proteínas TCR y MHC unen directamente el péptido antigénico. La proteína MHC une una cara del péptido, el motivo MHC, mientras el TCR une la otra cara del péptido, el epítope para células T. Las regiones CDR del TCR unen directamente el complejo MHC-péptido y cada CDR tiene una función específica de unión. Las regiones CDR3 de las cadenas α y β del TCR se unen al epítope; las regiones CDR1 y CDR2 de las cadenas α y β del TCR se unen principalmente a las proteínas MHC.

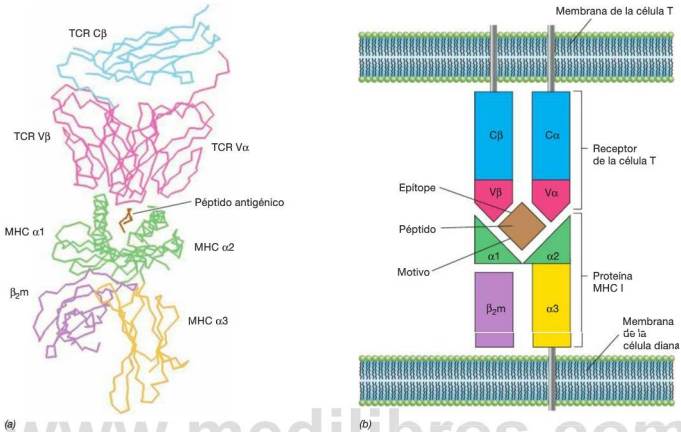
Genes del TCR y diversidad

Las cadenas α y β del TCR están codificadas por segmentos génicos distintos para los dominios variable y constante. Igual que los genes de las Igs, los genes de la región V del TCR están organizados como series de segmentos en tándem. La cadena α tiene alrededor de 80 genes variables (V) y 61 segmentos de unión (J), mientras que la cadena β tiene 50 genes variables (V), 2 genes de diversidad (D) y 13 segmentos de unión (J) (**Figura 31.8**). Los genes V, D y J de la cadena β y los genes V y J de la cadena α sufren recombinación para formar genes funcionales de las regiones V. Como en las Ig, hay una diversidad adicional resultante de la diversidad N y P en las uniones codificantes V-D y D-J en la cadena β y V-J en la cadena α. Finalmente, la región D de la cadena β puede transcribirse en tres fragmentos de lectura abierta, lo que lleva a la producción de tres transcritos separados de cada gen de la región D y crea mayor diversidad de la esperada para un segmento D solo. Como hemos discutido para la reorganización de las cadenas H y L de las Igs, las cadenas α y β individuales son producidas por cada célula T al azar y se unen para formar un heterodímero completo α:β. La hipermutación somática no genera diversidad TCR. La diversidad TCR potencial, sin embargo, es también muy amplia, y pueden generarse del orden de 10^{15} TCR diferentes.

31.7 Minirrevisión

Los receptores de células T unen péptidos antigénicos presentados por proteínas MHC. Las regiones CDR3 de ambas cadenas, α y β, unen el epítope, mientras las regiones CDR1 y CDR2 unen la proteína MHC. El dominio V de la cadena β del TCR está codificado por segmentos V, D y J. El dominio V de la cadena α del TCR está codificado por segmentos V y J. La diversidad del

UNIDAD 7



www.medilibros.com

Figura 31.7 El complejo TCR-péptido- proteína MHC I. *(a)* Una estructura tridimensional que muestra la orientación del TCR, el péptido (marrón) y la proteína MHC. Esta estructura se ha derivado de datos depositados en el Banco de Datos de Proteínas. *(b)* Un diagrama de la estructura MHC-péptido-TCR. Notar que el péptido está unido a las dos proteínas, MHC y TCR y que tiene distintas estructuras superficiales para interaccionar con cada una de ellas.

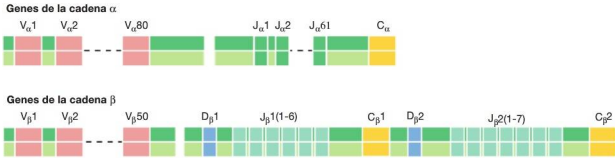


Figura 31.8 Organización de los genes humanos del TCR α y β. Los genes de la cadena α se localizan en el cromosoma 14 y los genes de la cadena β están sobre cromosoma 6.

TCR se genera por varios mecanismos genéticos y tiene como resultado una diversidad prácticamente ilimitada en la unión al antígeno.

- Distinga entre las funciones de las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 del TCR.
- ¿Qué mecanismos de generación de diversidad son exclusivos de los TCR? ¿Qué mecanismos son exclusivos de las Ig?

V SEÑALES MOLECULARES EN LA INMUNIDAD

Aquí exploraremos primero la selección clonal, los mecanismos por los cuales las células reactivas de antígeno responden a los antígenos extraños mientras ignoran los autoantígenos. Luego examinaremos los pares de señales moleculares que son responsables de la activación de células portadoras de receptores específicos para el antíge-

no. Finalmente, introduciremos las citocinas y quimiocinas, proteínas solubles producidas por células activadas para reclutar y activar otras células en la respuesta inmunitaria.

31.8 Selección clonal y tolerancia

Las células T deben ser capaces de discriminar entre los peligrosos antígenos extraños y los inocuos antígenos propios que componen nuestros tejidos corporales. Por tanto, las células T deben adquirir **tolerancia**, o ausencia de respuesta específica a los autoantígenos. Para adquirir tolerancia, sólo se mantienen los linfocitos que interaccionan únicamente con antígenos extraños derivados de patógenos peligrosos.

Selección clonal

La teoría de la **selección clonal** establece que cada célula B o T reactiva a antígenos tiene en su superficie receptores para un único epítope antigénico. Cuando se estimula por interacción con el antígeno, cada célula puede replicarse, y las células B y T estimuladas por antígenos crecen y se diferencian. Como resultado, las células estimuladas por antígenos se dividen, produciendo un grupo de células que expresan los mismos receptores específicos. Un *clon* comprende la progenie idéntica de la célula inicial reactiva al antígeno (**Figura 31.9**). Las células que no han interaccionado con el antígeno no se multiplican.

Para responder a la aparentemente infinita variedad de antígenos, se necesita un número casi infinito de células reactivas al antígeno en el cuerpo. Como hemos dicho previamente (Secciones 31.6 y 31.7), el sistema inmunitario genera un gran número de receptores específicos de antígeno en las células B y T. Inevitablemente, algunos de estos receptores tendrán el potencial de iniciar reacciones inmunitarias frente a los antígenos propios del hospedador. Como resultado, el sistema inmunitario debe eliminar o suprimir estos clones autorreactivos al mismo tiempo que selecciona los clones que pueden ser útiles frente a antígenos no propios.

Selección de células T y tolerancia

Las células T experimentan una selección inmunitaria para las células potencialmente reactivas a antígenos y una selección en contra de aquellas células que reaccionan fuertemente con antígenos propios. La selección contra los clones autorreactivos tiene como resultado el desarrollo de tolerancia. Un fallo en el desarrollo de tolerancia puede tener como resultado peligrosas reacciones contra los antígenos propios, una condición denominada *autoinmunidad* (Sección 30.7).

Los linfocitos que están destinados a convertirse en células T abandonan la médula ósea y entran en el timo, un órgano linfoide primario, a través de la corriente sanguínea (**Figura 31.10**). Durante el proceso de maduración de células T en el timo, las células T inmaduras sufren un

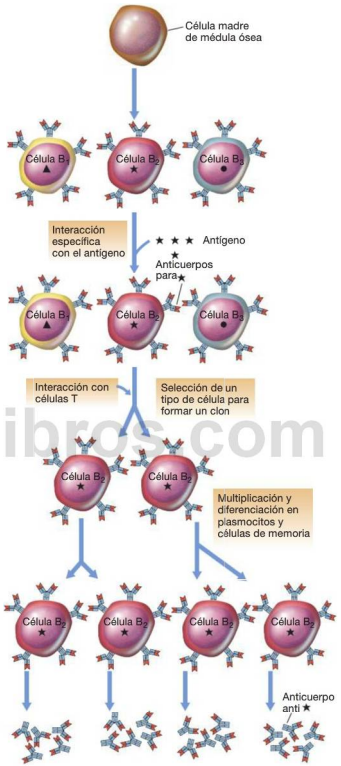
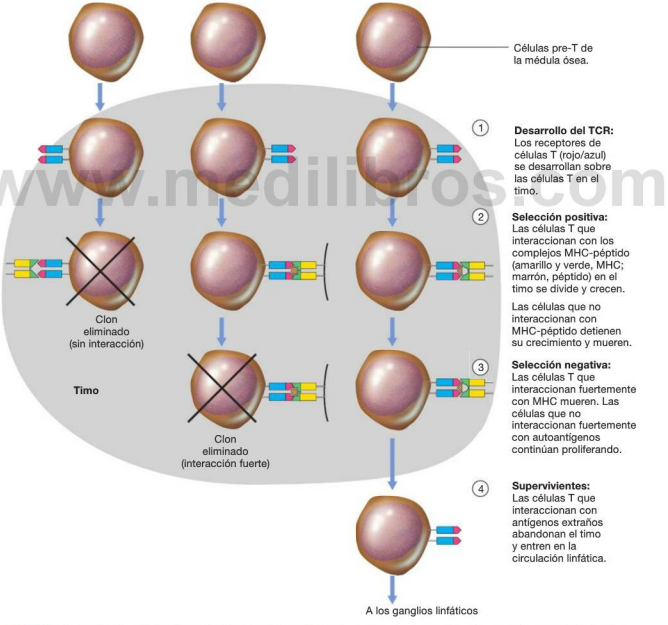


Figura 31.9 Selección clonal. Las células B individuales, específicas para un único antígeno, proliferan y se expanden para formar un clon después de la interacción con el antígeno específico. El antígeno dirige la selección y la proliferación de la célula B específica para un antígeno individual. Las copias clonales de la célula original reactiva al antígeno tienen el mismo anticuerpo específico en su superficie. La exposición continuada al antígeno tiene como resultado la expansión del clon.

www.freelibros.com

proceso de selección doble, para (1) seleccionar las células potencialmente capaces de responder a antígenos (selección positiva) y (2) eliminar las células que reaccionan con autoantígenos (selección negativa). La **selección positiva** requiere la interacción de las nuevas células T con autoantígenos en el timo. Usando sus TCR, algunas células T se unen a complejos MHC-péptido en el tejido tímico. Las células T que no unen complejos MHC-péptido sufren un proceso llamado *apoptosis*, o muerte celular programada. Por contraste, aquellas células T que unen proteínas MHC tímicas reciben señales de supervivencia y continúan dividiéndose y creciendo. Por tanto, la selección positiva retiene las células T que reconocen MHC-péptido y elimina las células T que no reconocen las proteínas MHC propias las cuales serían incapaces de presentarles péptidos.

En la segunda etapa de maduración de células T, la **selección negativa**, las células T seleccionadas positivamente continúan interaccionando con los complejos tímicos MHC-péptido (Sección 29.6). Los antígenos peptídicos en el timo son de origen propio. Las células T que reaccionan con autoantígenos tímicos son potencialmente peligrosas si reaccionan fuertemente con dichos antígenos (autoinmunidad). Estas células T fuertemente autorreactivas se unen fuertemente a las células del timo y no pueden dividirse, y eventualmente mueren. Este proceso de doble selección tímica para seleccionar células T reactivas a antígenos y autotolerantes tiene como resulta-



www.medilibros.com

Figura 31.10 **Selección de células T y deleción clonal.** Las células T experimentan una selección para el reconocimiento de antígenos peligrosos, no propios, en el timo.

do la **deleción de clones**. Los precursores de los clones de células T que son inútiles (no se unen) o perjudiciales (se unen muy fuertemente) mueren; más del 99% de todas las células T que entran en el timo no sobreviven al proceso de selección.

Las restantes células T seleccionadas están destinadas a interaccionar muy fuertemente con antígenos no propios. No son destruídas en el timo porque su interacción de unión débil con los autoantígenos tímicos les proporciona señales para crecer. Las células T seleccionadas que crecen abandonan el timo y migran al bazo, al tejido linfoide asociado a mucosas y a los ganglios linfáticos, donde entrarán en contacto con los antígenos extraños presentados por los linfocitos B y otras APC.

Tolerancia de células B

La adquisición de la tolerancia inmunitaria en las células B también es necesaria porque los anticuerpos producidos por células B autorreactivas (autoanticuerpos) pueden causar autoinmunidad y dañar los tejidos del hospedador. Las células B también sufren un proceso de deleción clonal. Muchas células B autorreactivas son eliminadas durante su desarrollo en la médula ósea, el órgano linfoide primario responsable del desarrollo de las células B en los mamíferos (Sección 29.1).

Además de la deleción clonal, la **anergia clonal** (falta de respuesta) también juega un papel en la selección final del repertorio de las células B. Algunas células B inmaduras son reactivas frente antígenos propios pero no llegan a ser activadas, incluso aunque se expongan a grandes cantidades de antígenos propios. Esto es porque la activación de las células T requiere una segunda señal de las células T, como ahora veremos. Si las células T reactivas frente a autoantígenos son eliminadas durante la selección de células T, no se genera una segunda señal y la célula B permanece sin responder.

31.8 Minirrevisión

El timo es un órgano linfoide primario que provee un ambiente para la maduración de las células T reactivas a antígenos. Las células T inmaduras que no interaccionan con las proteínas MHC (selección positiva) o que reaccionan fuertemente con antígenos propios (selección negativa) son eliminadas en el timo por deleción clonal. Las células T que sobreviven a la selección positiva y negativa abandonan el timo y pueden participar en una respuesta inmunitaria eficaz. La reactividad de las células B a los autoantígenos se controla a través de la deleción, selección y anergia clonal.

- Distinga entre selección positiva y negativa de células T.
- Identifique el papel de las células tímicas en la selección de células T.
- Para las células B, distinga entre deleción clonal y anergia clonal.

31.9 Activación de celulas T y B

Las células T y B requieren dos señales moleculares para su activación. La interacción con el antígeno a través de TCR o Ig es la primera señal. Se necesita una segunda señal antes de que las células T y B puedan responder a los antígenos.

Activación de células T

Como hemos discutido, las células T que reaccionan con autoantígenos son eliminadas en el timo. Sin embargo, muchos autoantígenos no se expresan en el timo. Como resultado, muchos clones de células T que responden a antígenos no tímicos evitan la deleción clonal en el timo. Estas células T autorreactivas llegan a ser anérgicas pero pueden persistir como células T que no responden. La clave para mantener la anergia clonal en estas células T autorreactivas potencialmente peligrosas es el mecanismo de dos señales utilizado para activar a las células T una vez que han abandonado el timo.

Cuando las células T seleccionadas positiva y negativamente abandonan el timo, migran hacia los órganos linfoides secundarios (ganglios linfáticos, bazo y tejido linfoide asociado a mucosas) (Sección 29.1). Estas células T no han sido todavía expuestas al antígeno y son, por tanto, células T vírgenes o no comprometidas. Las células T vírgenes deben ser activadas por una APC para llegar a ser células efectoras competentes (Sección 29.6).

La primera etapa en la activación de las células T vírgenes es la unión al complejo péptido antigénico-proteína MHC sobre la APC, mediante el TCR (**Figura 31.11**). Esta es la señal 1 y es absolutamente necesaria para la activación. Sin la señal 1, una célula T_C no puede activarse. La siguiente etapa requiere la interacción de dos proteínas, una presente en la APC y llamada B7, y otra presente sólo en células T, llamada CD28. La unión de B7 a CD28 es la señal 2 que activa a la célula T_C, convirtiéndola en una célula efectora. En ausencia de la señal 2, la célula T no se activa (Figura 31.11). Una célula T_C activada matará a cualquier célula diana que le presente el antígeno, incluso aunque esa célula no presente CD28. Una vez que una célula T ha sido activada, sólo es necesaria la señal 1 (péptido-MHC) para inducir la actividad efectora. Una situación análoga ocurre con las células T_H.

Anergia de células T

El requisito de una segunda señal de activación tiene importantes implicaciones en el establecimiento y mantenimiento de la anergia clonal. Por ejemplo, una célula T_C virgen que interacciona con un antígeno propio que no está en una APC recibe sólo la señal 1, porque las células que no son APC no presentan la proteína B7 necesaria para completar la señal 2. En ausencia de la señal 2, esta célula T_C está en anergia permanente y nunca se activará (Figura 31.11). Por tanto, la segunda señal B7-CD28 es absolutamente necesaria para la activación. La ausencia

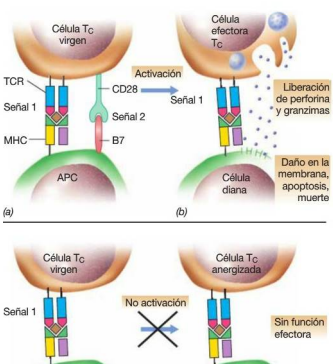


Figura 31.11 Activación de células T: señal 1 y señal 2. *(a)* Una célula T_C virgen interacciona vía TCR con el complejo péptido-MHC sobre una APC. Esta es la señal 1. La célula T_C tiene también una proteína CD28 que interacciona con la proteína B7 de la APC. Esta es la señal 2. Las interacciones simultáneas de la célula T_C y la APC a través de las señales 1 y 2 activa a la célula T virgen. *(b)* La célula T_C activada es entonces capaz de matar cualquier célula diana siempre que tenga lugar una señal 1. *(c)* Una célula T_C virgen interacciona vía TCR con el complejo péptido-MHC sobre cualquier célula. Aunque se cumple la condición de la señal 1 (interacciones vía TCR con el complejo péptido-MHC), la señal 2 no puede ser generada porque solamente las APC presentan la proteína B7. *(d)* En ausencia de la señal 2, la célula T_C permanece sin respuesta, o anergizada.

de la señal 2 en presencia de la señal 1 induce anergia permanente. Los linfocitos vírgenes T_H1 y T_H2 se activan de la misma manera, usando también la segunda señal que B7 le da al correceptor CD28.

Activación de células B

La célula B también requiere dos señales independientes para la activación y la producción de anticuerpos. Sin embargo, comparadas con las señales de activación de las células T, las señales que activan a las células B son diferentes. Como hemos visto, las células B son responsables de la ingestión, procesamiento y presentación del antígeno (Sección 29.6), así como de la producción de anticuerpos específicos. Para las células B, la señal 1 es la unión del antígeno y el entrecruzamiento de la inmunoglobulina de superficie (**Figura 31.12**). Esta interacción antígeno-Ig genera un acontecimiento de transducción de señal transmembrana, estimulando a la célula B a expresar CD40 en su superficie. Mientras tanto, la célula B ingiere el antígeno unido a las Ig, procesa el antígeno ingerido y presenta péptidos antigénicos incrustados en MHC II a las células T_H2 vecinas (Figura 29.6). A causa de su proximidad en el tejido linfático, una célula T_H2 con reactividad hacia el antígeno presentado puede interaccionar con la célula B presentadora del antígeno. La interacción con el complejo péptido-MHC II tiene como resultado la expresión de CD40L (el ligando de CD40) por la célula T_H2, el cual a su vez se une a CD40 en la célula B. La interacción CD40-CD40L inicia un acontecimiento de transducción de señal en la célula TH2, conduciendo a la transcripción de un número de genes de la célula T y la producción de una serie de proteínas incluyendo citocinas solubles, como discutiremos enseguida.

Estas citocinas son la señal 2 para la célula B. Interaccionan con receptores en las células B y estimulan la producción de anticuerpos. Una vez que la células B está ac-

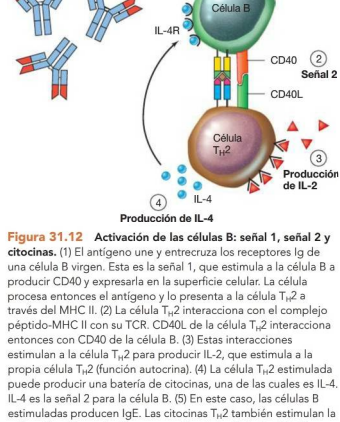


Figura 31.12 Activación de las células B: señal 1, señal 2 y citocinas. (1) El antígeno une y entrecruza los receptores Ig de una célula B virgen. Esta es la señal 1, que estimula a la célula B a producir CD40 y expresarla en la superficie celular. La célula procesa entonces el antígeno y lo presenta a la célula T_H2 a través del MHC II. (2) La célula T_H2 interacciona con el complejo péptido-MHC II con su TCR. CD40L de la célula T_H2 interacciona entonces con CD40 de la célula B. (3) Estas interacciones estimulan a la célula T_H2 para producir IL-2, que estimula a la propia célula T_H2 (función autocrina). (4) La célula T_H2 estimulada puede producir una batería de citocinas, una de las cuales es IL-4. IL-4 es la señal 2 para la célula B. (5) En este caso, las células B estimuladas producen IgE. Las citocinas T_H2 también estimulan la activación, diferenciación y expansión de los linfocitos T y B.

www.medilibros.com

tivada, ya no necesita más la interacción con o las citocinas de la célula T para hacer anticuerpos. Estas células previamente activadas se denominan *células B memoria* y desempeñan un papel fundamental en la respuesta inmunitaria durante las exposiciones subsiguientes a un antígeno, después de una respuesta inmunitaria primaria (Sección 29.10).

31.9 Minirrevisión

Muchas células T autorreactivas son eliminadas durante el desarrollo y maduración en el timo. Las células T vírgenes se activan en los órganos linfoides secundarios por la unión del péptido-MHC con los TCR (señal 1), seguida de la unión de la proteína B7 de la APC con la proteína CD28 de la célula T (señal 2). La activación de la célula B comienza con la interacción del antígeno con la inmunoglobulina de superficie (señal 1), seguida de la interacción de la proteína CD40 de la célula B con CD40L sobre la célula T para generar la producción de citocinas (señal 2).

- Defina la señal 1 y la señal 2 para una célula T virgen.
- Defina las señales de activación para una célula B virgen.

31.10 Citocinas y quimiocinas

La comunicación intercelular en el sistema inmunitario se realiza en muchos casos a través de una familia heterogénea de proteínas solubles conocidas como **citocinas**, que son producidas por leucocitos y otras células. Las citocinas regulan las funciones celulares en las células inmunitarias y activan varios tipos de células. Las citocinas producidas por linfocitos se llaman linfocinas o interleucinas (IL).

Las citocinas secretadas por una célula se unen a receptores en la superficie de otras células. Algunas citocinas se unen a receptores en la propia célula que las ha producido. Por tanto, estas citocinas tiene capacidad autocrina (autoestimuladora). Otras citocinas se unen a receptores en otras células. La unión de una citocina a su receptor generalmente activa vías de transducción de señales (Sección 31.1), trasmitiendo información a través de la membrana citoplásmica para controlar actividades como la transcripción y la síntesis de proteínas. Finalmente, estas señales pueden tener como resultado el crecimiento y la diferenciación celular, y la proliferación clonal.

La **Tabla 31.2** enumera algunas citocinas importantes, las células que las producen, sus células diana más comunes y sus efectos biológicos más importantes. Se conocen más de 50 citocinas, la mayoría de las cuales son producidas por células T, monocitos y macrófagos. Ahora examinaremos la actividad de dos citocinas implicadas en la inducción de una respuesta inmunitaria mediada por anticuerpos específicos.

IL-2, IL-4 y producción de anticuerpos

Las células B son responsables de la incorporación, procesamiento y presentación de antígenos así como de la producción de anticuerpos específicos. Como hemos discutido en la sección previa, las células B requieren dos

Tabla 31.2 Propiedades de algunas de las principales citocinas y quimiocinas

Citocina	*Productores*	*Dianas principales*	*Efectos*
IL-1[a]	Monocitos	T_H	Activación
IL-2	Células T activadas	Células T	Crecimiento, diferenciación
IL-3	T_H1	Células madre hematopoyética	Factor de crecimiento
IL-4	T_H2	Células B	Síntesis de IgG e IgE
IL-5	T_H2	Células B	Síntesis de IgA
IL-10	T_H2	T_H1	Inhibición de T_H1
IL-12	Macrófagos, células dendríticas	T_H1, células NK	Diferenciación, activación
IFN-α[b]	Leucocitos	Células normales	Antiviral
IFN-γ	T_H1	Macrófagos	Activación
GM-CSF[c]	T_H1	Células madre mieloides	Diferenciación a granulocitos, monocitos
TGF-β[d]	T_H1 y T_H2	Macrófagos	Inhibición de la activación
TNF-α[e]	T_H1,macrófagos, células NK	Macrófagos	Activación
TNF-β	T_H1	Macrófagos	Activación
Quimiocinas			
CXCL8 (IL-8)	Macrófagos, fibroblastos, queratinocitos	Neutrófilos, células T	Atrayente y activado
CCL2 (MCP-1[f])	Macrófagos, fibroblastos, queratinocitos	Macrófagos, células T	Atrayente y activador

[a]IL, interleucina; [b]IFN, interferón; [c]GM-CSF, factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos; [d]TGF, factor de crecimiento de células T; [e]TNF, factor de necrosis tumoral; [f]MCP, proteína quimioatrayente de macrófagos.

UNIDAD 7

www.medilibros.com

señales independientes para la activación y producción de anticuerpos. Las células B son activadas por la unión del antígeno a la inmunoglobulina de superficie (señal 1) seguida de interacciones entre CD40 de la célula B y CD40L de la célula T (Figura 31.12). La célula T_H2 activada responde con producción de IL-2, que es secretada y se une a IL-2R en la superficie de las células T_H2. Por tanto, IL-2 puede activar a la misma célula que la ha secretado. Bajo la influencia de IL-2, la célula se divide, haciendo copias clonales. En el proceso, la célula T_H2 también produce otras citocinas como IL-4. IL-4 se une a IL-4R en la superficie de la célula B que presentó originalmente el antígeno.

La interacción de IL-4 con su receptor IL-4R estimula a la célula B a diferenciarse en plasmocitos, que finalmente producen anticuerpos (Sección 29.10). La IL-4 generada por la célula T que responde es la segunda señal (señal 2) necesaria para iniciar la producción de anticuerpos. Además, la interacción con IL-4 puede señalar un cambio en la clase de inmunoglobulina. Por ejemplo, la interacción entre IL-4 e IL-4R puede cambiar la producción de anticuerpos de una célula B de IgM a IgE. Por tanto, las citocinas IL-2 e IL-4 son mediadores y activadores solubles para los linfocitos T y las células B, que interaccionan para producir la respuesta de inmunidad mediada por anticuerpos. IL-4 no solamente controla la activación de la célula B, sino que también controla la calidad de la respuesta de anticuerpos, induciendo un cambio de clase de producción de IgM a producción de IgE.

Otras citocinas

La tabla 31.2 muestra las actividades de otras varias citocinas. Como IL-4, muchas citocinas afectan a células implicadas en la inmunidad específica. Sin embargo, muchas citocinas no afectan a los linfocitos T o B, sino que actúan sobre otras células; las células activadas por citocinas sirven a su vez como importantes moduladores de las respuestas innatas del hospedador. Por ejemplo, los interferones (IFN-α e IFN-β) son producidos por leucocitos e inhiben la replicación viral en prácticamente todas las células del cuerpo. Los factores necrosantes de tumores TNF-α y TNF-β pueden matar ciertos tumores si las células que los producen tiene acceso al tumor. TNF-α es también un activador crucial de la inflamación (Sección 29.3). Los interferones y TNF, producidos por células T así como por fagocitos, no tienen especificidad de célula diana, pero amplifican los efectos de las células inmunitarias.

Quimiocinas

Las **quimiocinas** son un grupo de pequeñas proteínas que funcionan como quimioatrayentes para fagocitos y linfocitos. Son producidas por linfocitos y otras muchas células en respuesta a productos bacterianos, virus y otros agentes que causan daño en las células del hospedador. Las quimiocinas atraen a los fagocitos y a las células T al sitio del daño, estimulando una respuesta inflamatoria así como potenciando una respuesta de inmunidad específica.

Se conocen alrededor de 40 quimiocinas. Quizás las quimiocinas mejor estudiadas son CXCL8 (IL-8) y CCL2 (proteína 1 quimioatrayente de macrófagos, o MCP-1) (Tabla 31.2). CXCL8 es producida por monocitos, macrófagos, fibroblastos (células de tejido conectivo), queratinocitos (células de la piel), células endoteliales y otras células. CXC8 es secretada por las células afectadas y se une a receptores de las células T y neutrófilos, donde actúa como quimioatrayente. El resultado es una respuesta inflamatoria mediada por neutrófilos seguida por una respuesta inmunitaria específica a cargo de las células T atraídas. Como en el caso de los receptores de citocinas, los receptores de quimiocinas activados en las células diana actúan a través de vías de transducción de señales (Sección 31.1) para inducir la activación de neutrófilos o células T.

También MCP-1 es producida por una diversidad de células y atrae a basófilos, eosinófilos, monocitos, células dendríticas, células asesinas naturales y células T, estimulando la producción de mediadores inflamatorios y organizando potencialmente una respuesta inmunitaria específica de antígeno. Por tanto, las quimiocinas son potentes iniciadores de reacciones inflamatorias no específicas que pueden conducir al reclutamiento de células T y a reacciones inmunitarias específicas para antígenos.

31.10 Minirrevisión

Las citocinas, producidas por leucocitos y otras células, son mediadores solubles que regulan interacciones entre células. Varias citocinas, como IL-2 e IL-4, afectan a los linfocitos y son componentes cruciales en la generación de respuestas inmunitarias específicas. Otras citocinas, como IFN-λ y TNF-α, afectan a una amplia variedad de tipos celulares. Las quimiocinas producidas por varias células se liberan en respuesta a daños y son atrayentes potentes para células inflamatorias no específicas y células T.

- ¿Qué diferencias hay entre citocinas y quimiocinas respecto de sus células productoras? ¿Y respecto de sus células diana?
- ¿Qué acontecimientos estimulan la producción de citocinas? ¿Y la de quimiocinas?

Glosario de términos

Anergia clonal: la incapacidad para producir una respuesta inmunitaria a antígenos específicos debido a la neutralización de las células efectoras.

Anticuerpo: una proteína soluble, producida por las células B, que interacciona con el antígeno; también llamada inmunoglobulina.

Antígenos de leucocitos humanos (HLA): antígenos de leucocitos humanos codificados por los genes del complejo principal de histocompatibilidad en el ser humano.

Citocina: una proteína pequeña, soluble, producida por un leucocito, que modula reacciones inflamatorias e inmunidad en las células diana.

Complejo principal de histocompatibilidad: una región genética que codifica varias proteínas importantes para la presentación de antígenos y otras funciones defensivas del hospedador.

Deleción clonal: para la selección de células T en el timo, la muerte de los clones inútiles o autorreactivos.

Dominio: una región de una proteína con una estructura y función definidas.

Epítope: la porción de un antígeno que es reconocida por una inmunoglobulina o un receptor de célula T.

Estructura molecular asociada a patógeno (PAMP): un componente estructural de un patógeno o producto de patógeno que es reconocido por una molécula de reconocimiento de estructuras.

Hipermutación somática: las mutaciones de los genes de inmunoglobulinas a tasas mayores que aquellas observadas en otros genes.

Inmunoglobulina (Ig): una proteína soluble, producida por células B, que interacciona con el antígeno; también llamada anticuerpo.

Molécula que reconoce estructuras (PRM): una molécula que reconoce estructuras moleculares asociadas a patógenos (PAMP), tales como componentes de la estructura superficial de la célula microbiana.

Motivo: en la presentación de antígenos, una secuencia conservada de aminoácidos presente en todos los péptidos que se unen a una proteína MHC dada.

Polimorfismo: la presencia en una población de múltiples alelos en un locus con frecuencias que no pueden ser explicadas por mutaciones aleatorias recientes.

Proteína MHC de clase I: molécula presentadora de antígenos presente en todas las células nucleadas de los vertebrados.

Proteína MHC de clase II: molécula presentadora de antígenos presente en macrófagos, células B y células dendríticas (células presentadoras de antígenos).

Quimiocina: una proteína pequeña, soluble, que modula reacciones inflamatorias y de inmunidad en células diana.

Receptor de células T (TCR): proteína receptora específica de antígeno en la superficie de las células T.

Receptor tipo Toll (TLR): una molécula de reconocimiento de estructuras presente en los fagocitos, estructural y funcionalmente relacionada con los receptores Toll en *Drosophila*.

Región determinante de la complementaridad (CDR): una secuencia variable de aminoácidos dentro de los dominios variables de las inmunoglobulinas o los receptores de células T y donde se hace el mayor contacto molecular con el antígeno.

Selección clonal: la producción por las células B o T de copias de sí mismas después de la interacción con el antígeno.

Selección negativa: en la selección de las células T, deleción de las células T que interaccionan con antígenos propios en el timo (*véase* deleción clonal).

Selección positiva: en la selección de células T, el crecimiento y desarrollo de células T que interaccionan con proteínas MHC propias en el timo.

Superfamilia de genes de inmunoglobulinas: una familia de genes que están relacionados evolutiva, estructural y funcionalmente con las inmunoglobulinas.

Tolerancia: incapacidad para producir una respuesta inmunitaria a un antígeno específico.

www.elmanualdelmedico.com

Preguntas de repaso

1. Identifique al menos una molécula de reconocimiento de estructuras (PRM), la estructura molecular asociada a patógenos (PAMP) que interacciona con ella, y la respuesta resultante (Sección 31.1).
2. Defina los criterios utilizados para asignar un gen y la proteína que codifica a la superfamilia de las inmunoglobulinas (Sección 31.2).
3. Identifique las principales características estructurales de las proteínas MHC de clases I y II (Sección 31.3).
4. El polimorfismo implica que cada proteína MHC diferente une un motivo peptídico distinto. Para los polimorfismos MHC de clase I, ¿cuántas proteínas MHC diferentes puede expresar un individuo? ¿Y la población humana entera (Sección 31.4)?
5. ¿Qué cadenas de Ig se usan para construir un sitio completo de unión al antígeno? ¿Qué dominios? ¿Qué CDR (Sección 31.5)?
6. Calcule el número total de dominios V_H y V_L que pueden construirse con los genes de Ig disponibles. ¿Cuántas proteínas Ig completas pueden producirse a partir del reordenamiento de todas las cadenas pesadas y ligeras posibles (Sección 31.6)?

7. Describa la interacción del TCR con el péptido antigénico y la proteína MHC. Asegúrese de identificar los papeles de los CDR en el TCR (Sección 31.7).
8. En los TCR, la diversidad puede generarse por acontecimientos de recombinación y reorganización tal como en las Ig. Como en el caso de las Ig, se genera diversidad adicional con acontecimientos somáticos como la adición de nucleótidos en la región N y la lectura del fragmento D (diversidad) en tres fragmentos de lectura abierta. Explique estos mecanismos de generación de diversidad (Sección 31.7).
9. Explique la selección positiva y negativa en las células T (Sección 31.8).
10. ¿Qué interacciones moleculares son necesarias para la activación de células T vírgenes? ¿Y para la activación de células B vírgenes (Sección 31.9)?
11. ¿Cuáles son los principales efectos de las citocinas y quimiocinas? ¿Cuáles son las principales diferencias entre citocinas y quimiocinas (Sección 31.10)?

Ejercicios prácticos

1. Identifique las consecuencias de una mutación genética que eliminase un PRM, prediciendo las consecuencias para el hospedador. Haga esto para al menos un PRM soluble y un PRM asociado a membrana.
2. Construya una tabla que enumere las características comunes de las proteínas codificadas por miembros de la superfamilia de genes de las Ig. Identifique los componentes estructurales que figuran entre estas características comunes para las proteínas Ig, TCR y MHC.
3. El polimorfismo implica que cada proteína MHC diferente une un motivo peptídico distinto. Sin embargo, para las proteínas MHC de clase I, un individuo sólo puede reconocer 6 motivos peptídicos, mientras que la población humana entera puede reconocer más de 350 motivos. ¿Qué ventaja supone esto para la población? ¿Y para el individuo?
4. Mientras los acontecimientos de recombinación genética son importantes para generar una diversidad significativa en los sitios de unión al antígeno de las Ig, los acontecimientos somáticos post-recombinatorios pueden llegar a ser más importantes para alcanzar la diversidad total de las Ig. ¿Está de acuerdo o en desacuerdo con esta afirmación? Explíquelo.
5. ¿Qué podría ocurrir con el repertorio de las células T en ausencia de selección positiva? ¿Y en ausencia de selección negativa?
6. ¿Cuál podría ser el resultado de la activación de todas las células T periféricas que contactan con antígenos? ¿Cómo previene el esquema de la segunda señal que esto ocurra?

www.medilibros.com

32

Microbiología e inmunología diagnósticas

I MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DEPENDIENTES DEL CULTIVO 1004

32.1 Aislamiento de patógenos de muestras clínicas **1004**

32.2 Métodos de identificación dependientes del cultivo **1010**

32.3 Pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos **1013**

32.4 Seguridad en el laboratorio de microbiología **1016**

II INMUNOLOGÍA Y MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO 1018

32.5 Inmunoensayos para las enfermedades infecciosas **1018**

32.6 Anticuerpos policlonales y monoclonales **1020**

32.7 Reacciones antígeno-anticuerpo *in vitro*: serología **1021**

32.8 Aglutinación **1024**

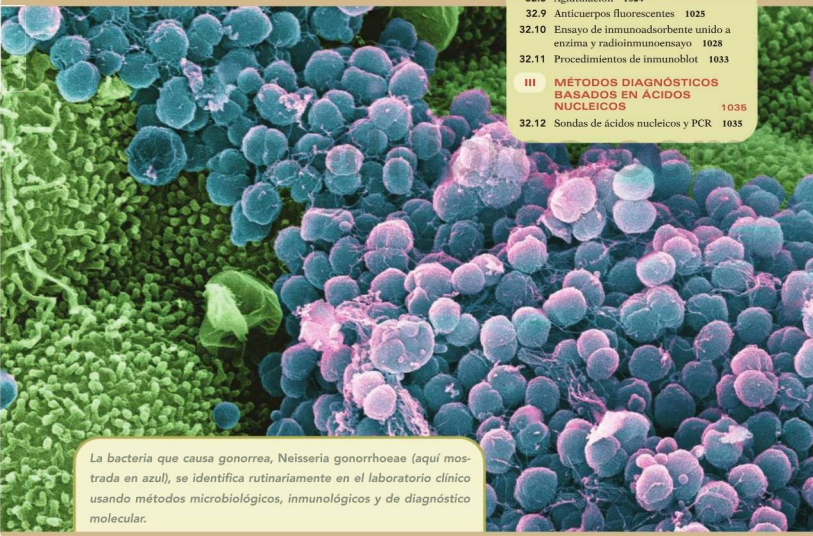
32.9 Anticuerpos fluorescentes **1025**

32.10 Ensayo de inmunoadsorbente unido a enzima y radioinmunoensayo **1028**

32.11 Procedimientos de inmunoblot **1033**

III MÉTODOS DIAGNÓSTICOS BASADOS EN ÁCIDOS NUCLEICOS 1035

32.12 Sondas de ácidos nucleicos y PCR **1035**



La bacteria que causa gonorrea, Neisseria gonorrhoeae *(aquí mostrada en azul), se identifica rutinariamente en el laboratorio clínico usando métodos microbiológicos, inmunológicos y de diagnóstico molecular.*

La tarea más importante del microbiólogo clínico es identificar los microorganismos que causan enfermedades infecciosas. Los laboratorios clínicos deben ser capaces de cultivar, aislar e identificar la mayoría de las bacterias patógenas que se encuentran rutinariamente dentro de un plazo de 48 horas tras la toma de muestra. Los métodos inmunológicos y moleculares también se utilizan para identificar muchos patógenos. Estos métodos son particularmente importantes para la identificación de bacterias que son difíciles de cultivar y aislar, así como para la identificación de virus y protozoos.

I MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DEPENDIENTES DEL CULTIVO

El aislamiento y cultivo de patógenos a partir de tejidos del hospedador es una etapa importante en la definición de la causa de muchas enfermedades infecciosas. Una vez que un patógeno has sido positivamente identificado y estudiada su sensibilidad a agentes antimicrobianos, puede formularse un plan específico de tratamiento.

32.1 Aislamiento de patógenos de muestras clínicas

Si un médico sospecha que una enfermedad está causada por un agente infeccioso, se recogerán muestras de tejidos o fluidos para análisis microbiológicos, inmunológicos y de biología molecular (**Figura 32.1**). Las muestras pueden ser sangre, orina, heces, esputos, fluido céfalo-raquídeo, o pus de una herida. Se pueden utilizar escobillones para obtener muestras de áreas en las que se sospecha infección, como piel, nasofaringe o garganta (**Figura 32.2**). El escobillón se usa entonces para inocular la superficie de una placa de agar o un tubo con medio de cultivo líquido. En algunos casos, se pueden obtener pequeños fragmentos de tejido para cultivo. La **Tabla 32.1** resume las recomendaciones para el cultivo inicial de microorganismos aislados de muestras clínicas.

Si se van a aislar e identificar microorganismos de relevancia clínica, las muestras deben ser obtenidas y manipuladas apropiadamente para asegurar la supervivencia del patógeno. Primero, la muestra debe ser obtenida del sitio real de infección. La muestra debe tomarse asépticamente para evitar contaminaciones con microorganismos irrelevantes. A continuación, el tamaño de la muestra debe ser lo suficientemente grande para asegurar un inóculo suficiente. Finalmente, los requerimientos metabólicos para la supervivencia de los microorganismos deben mantenerse durante la toma, el almacenamiento y el trasporte de la muestra. Por ejemplo, las muestras procedentes de lugares anóxicos deben obtenerse, conservarse y trasportarse en condiciones anóxicas para asegurar

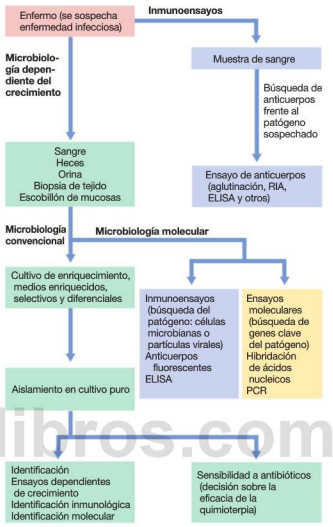


Figura 32.1 Identificación de laboratorio de patógenos clínicos. Los métodos diagnósticos usados para la identificación de los patógenos infecciosos incluyen ensayos microbiológicos dependientes del cultivo, inmunoensayos, y ensayos de biología molecular. Los inmunoensayos pueden usarse para medir la respuesta inmunitaria del enfermo, indicio de la exposición al patógeno, o pueden usarse para identificar directamente al patógeno en los tejidos del hospedador o en cultivos.

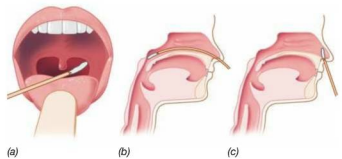


Figura 32.2 Métodos para obtener muestras del tracto respiratorio superior. *(a)* Escobillón en la garganta. (b) Escobillón nasofaríngeo pasado a través de la nariz. *(c)* Escobillón para el interior de la nariz.

www.medilibros.com

Tabla 32.1 Medios enriquecidos y selectivos recomendados para el aislamiento primario de patógenos

	Medios[a]				
Muestra	***Agar sangre***	***Agar entérico***	***AC***	***MTM***	***ANA***
Fluidos de tórax, abdomen, pericardio, articulaciones	+	+	+	−	+
Heces: escobillones rectales o en medio de transporte entérico[b]	+	+	+	−	−
Biopsias de tejido quirúrgico	+	+	−	−	+
Garganta, esputo, amígdalas, nasofaringe, pulmón, ganglios linfáticos	+	+	+	−	−
Uretra, vagina, cérvix	+	+	+	+	−
Orina	+	+	−	−	−
Sangre[c]	+	+	+	−	+
Heridas, abscesos, exudados	+	+	+	−	+

[a] Agar sangre, agar de triptícasa soja suplementada con 5% de sangre entera de cordero; agar entérico, ya sea agar eosina-azul de metileno (EMB) o agar MacConkey; AC, agar chocolate (sangre calentada); MTM, agar modificado de Thayer-Martin; ANA, agar para anaerobios, agar sangre con tioglicolato o agar tioglicolato suplementado, incubados anaeróbicamente.

[b] El medio especial para enteropatógenos, SMAC (agar MacConkey con sorbitol), se usa también para cultivar muestras fecales y entéricas. SMAC es un medio selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento y la identificación de enteropatógenos no fermentadores de sorbitol, tales como *Escherichia coli* enteropatógeno.

[c] La sangre se cultiva inicialmente en caldo. Según las características de la tinción de Gram de los aislamientos, el subcultivo se hace en agar MacConkey (gramnegativos) o agar chocolate (grampositivos).

Fuente: Adaptado de Murria, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgenson, M.A. Pfaller y R.H. Yolken. 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8.ª edición. American Society for Microbiology, Washington, DC.

la supervivencia de potenciales patógenos anaerobios. Una vez que se han obtenido las muestras, deben ser analizadas tan pronto como sea posible.

Medios de crecimiento y cultivo

Los **cultivos de enriquecimiento**, el uso de medios de cultivo y condiciones de incubación seleccionadas para aislar microorganismos de las muestras (Sección 22.1), constituyen una herramienta importante en el laboratorio clínico. La mayoría de los microorganismos de importancia clínica pueden crecer y ser aislados e identificados usando medios especializados de cultivo. Las muestras clínicas se cultivan inicialmente en **medios generales**, como el agar sangre que permite el crecimiento de la mayoría de los microorganismos aerobios y facultativos (Figura 28.18). A menudo, los microorganismos aislados en estos medios se subcultivan en medios más especializados (Tabla 32.1). Los **medios de enriquecimiento** contienen factores de crecimiento específicos que estimulan el crecimiento de algunos patógenos exigentes, tales como *Neisseria gonorrhoeae*, el microorganismo que causa la gonorrea. Los **medios selectivos** permiten crecer a algunos microorganismos mientras que inhiben el crecimiento de otros debido a agentes inhibidores. Finalmente, los **medios diferenciales** son medios especiales que permiten la identificación de microorganismos por las características de su crecimiento en el medio, basándose a menudo en diferencias de color (*véase* Figura 32.7).

Cultivos de sangre

La **bacteremia** es la presencia de bacterias en la sangre. La bacteremia es muy rara en individuos sanos, aunque puede ocurrir de forma transitoria en respuesta a un procedimiento invasivo como la cirugía dental o un trauma. La presencia prolongada de bacterias en la sangre generalmente es indicativa de una infección sistémica. Entre los patógenos más comunes encontrados en sangre figuran *Pseudomonas aeruginosa*, bacterias entéricas, en especial *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*, y los cocos grampositivos *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*.

La **septicemia** es el resultado de una infección en la sangre por un microorganismo virulento que entra en la circulación desde un foco infeccioso, se multiplica y viaja a varios tejidos del cuerpo para iniciar nuevas infecciones. La septicemia puede causar varios síntomas sistémicos graves, como fiebre y escalofríos seguidos de postración. Los casos graves de septicemia pueden desembocar en un *choque séptico*, una condición sistémica que puede ser mortal y que se caracteriza por una grave disminución de la presión arterial y fracaso orgánico múltiple, que afecta al corazón, riñones y pulmones (Sección 29.3). Los cultivos de sangre o hemocultivos constituyen la única forma inmediata de aislar e identificar al agente causal. En los hemocultivos, las bacterias son habitualmente detectadas por indicadores del crecimiento microbiano en sistemas automatizados, examen microscópico y subcultivos.

El procedimiento estándar para el cultivo de sangre es tomar asépticamente 20 ml de sangre de una vena e inyectarlos en dos frascos de hemocultivo que contienen un anticoagulante y un medio de cultivo general. Algunos sistemas de hemocultivo emplean un agente químico que lisa los glóbulos rojos y blancos, liberando a los patógenos intracelulares. Uno de los frascos se incuba al aire y el otro en condiciones anóxicas (35 °C). Ambos frascos se examinan varias veces cada hora durante 5 días. Los sistemas automatizados de hemocultivo detectan el creci-

www.medil

miento por monitorización de la producción de dióxido de carbono y de la turbidez medidas cada diez minutos. Las bacterias con significación clínica se detectan generalmente en los dos primeros días, pero la detección del crecimiento de microorganismos más exigentes puede llevar de 3 a 5 días.

Entre el 2 y el 3% de los hemocultivos se contaminan por microorganismos introducidos desde la piel durante la toma de la muestra de sangre. Típicamente figuran entre estos microorganismos *Staphylococcus epidermidis*, bacterias corineformes y propionibacterias. Sin embargo, estos microorganismos también pueden infectar el corazón (endocarditis bacteriana subaguda) o colonizar dispositivos intravasculares como válvulas cardiacas artificiales. Por tanto, los resultados del hemocultivo deben establecerse de acuerdo con el problema clínico para un diagnóstico preciso.

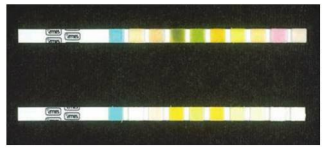


Figura 32.3 Tiras para análisis de orina. Se muestra una tira control debajo de la tira de prueba. De izquierda a derecha, la tira mide niveles anormales de glucosa, bilirrubina, cuerpos cetónicos, densidad, sangre, pH, proteínas, urobilinógeno, nitritos y leucocitos (esterasa) en una muestra de orina. Las lecturas anormales para la esterasa (señal positiva, en el extremo derecha) y nitritos (fuertemente positiva, segundo por la derecha) indican bacteriuria. El subsiguiente cultivo de la muestra indicó presencia de *Escherichia coli*.

Cultivos de orina

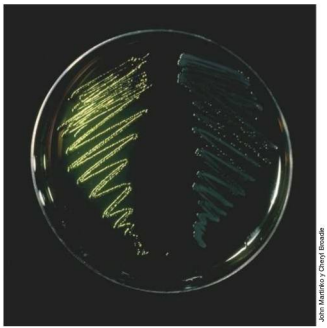
Las infecciones del tracto urinario son muy comunes, especialmente en las mujeres. La interpretación de los datos microbiológicos de los urocultivos pueden ser confusas, porque los agentes causales de la enfermedad son a menudo miembros de la microbiota normal (por ejemplo, *E. coli*). En la mayor parte de los casos, el tracto urinario es infectado por microorganismos que ascienden por la uretra desde el exterior hasta la vejiga de la orina. Las infecciones del tracto urinario son también la forma más común de infecciones nosocomiales, o sea, adquiridas en hospitales (Sección 33.7).

Una infección urinaria significativa tiene típicamente recuentos bacterianos de 10^5 o más microorganismos por mililitro de una muestra de orina tomada de la fracción media de la micción previa limpieza. En ausencia de infección, la contaminación de la orina desde los genitales externos (de alguna manera casi inevitable) da lugar a menos de 10^3 microorganismos por mililitro. Los patógenos más comunes del tracto urinario son bacterias entéricas, como *E. coli* que es responsable del 90% de los casos. Otros patógenos del tracto urinario incluyen a *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Enterococcus faecalis*. *N. gonorrhoeae*, el agente causal de la gonorrea, no crece en la orina propiamente dicha, sino en el epitelio uretral, y se diagnostica por métodos que se discutirán más adelante.

El examen microscópico directo de la orina puede usarse para buscar *bacteriuria*, la presencia de un número anormalmente alto de bacterias en la orina. Sin embargo, dado que casi todas las orinas contienen algún nivel de crecimiento bacteriano, usualmente se monitoriza la bacteriuria con el uso de pruebas en tiras disponibles comercialmente. Por ejemplo, una prueba en tiras monitoriza la reducción de nitratos detectando el producto de reducción, el nitrito; esta forma de respiración anaerobia es común entre las enterobacterias (Sección 21.7). Una prueba positiva indica un alto número de bacterias y se revela por un cambio de color en la tira (**Figura 32.3**). Dado que la producción significativa de nitritos aparece en la orina sólo cuando está presente un número grande de microorganismos ($>10^5$ por mililitro), este método constituye un chequeo muy rápido para las infecciones del tracto urinario. Otras pruebas en tiras para las infecciones del tracto urinario, usadas a menudo junto con la reducción de nitratos, detectan esterasas (producidas por leucocitos) y peroxidasa (producida por una diversidad de bacterias). Las pruebas en tiras positivas indican infección y deben ir seguidas por el cultivo de orina.

En las muestras de orina con bacteriuria también puede hacerse directamente una tinción de Gram (Figura 2.4) para identificar la morfología de patógenos potenciales del tracto urinario. Estos incluyen bacilos gramnegativos como las enterobacterias, cocos gramnegativos como *Neisseria*, y cocos grampositivos como *Enterococcus*. La tinción de Gram y otros métodos de tinción directa son también útiles para la detección de bacterias en otros fluidos del cuerpo como esputos y exudados de heridas.

Para cultivar patógenos potenciales del tracto urinario, se usan normalmente dos tipos de medios: (1) agar sangre como medio general, y (2) agar MacConkey o agar eosina-azul de metileno, medios selectivos para enterobacterias (**Figura 32.4**). Estos medios entéricos selectivos y diferenciales permiten la diferenciación inicial entre los fermentadores de lactosa y los no fermentadores de lactosa, e inhiben el crecimiento de microorganismos grampositivos como las especies de *Staphylococcus*, contaminantes comunes de la piel. Los microbiólogos clínicos pueden a menudo hacer un intento de clasificación de una cepa aislada observando el color y la morfología de las colonias del posible patógeno crecido en varios medios como se describe en la **Tabla 32.2.** Esta identificación presuntiva es seguida de pruebas más detalladas para hacer una identificación positiva. Los urocultivos pueden hacerse cuantitativamente para contar las colo-



John Martinko y Cheryl Blaudis

Figura 32.4 Una placa de agar eosina-azul de metileno (EMB). La placa muestra un fermentador de lactosa, *Escherichia coli* (izquierda) y un no fermentador, *Pseudomonas aeruginosa* (derecha). El brillo verde metálico de las colonias de *E. coli* es inequívoco de la fermentación de lactosa.

nias en agar sangre o en un medio de agar selectivo, usando una cantidad calibrada de orina, generalmente 1 µl, como inóculo por placa.

Si no hay crecimiento bacteriano a pesar de que hay síntomas persistentes de infección del tracto urinario, un médico puede pedir cultivos directos para microorganismos exigentes como *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, especies de *Branhamella*, micoplasmas o diversos microorganismos anaerobios.

Cultivos fecales

La recogida apropiada y preservación de las heces es importante para el aislamiento de patógenos intestinales. Durante su almacenamiento, la acidez fecal se incrementa, por lo que debe evitarse un retraso apreciable entre la toma de muestra y el procesamiento. Esto es especialmente importante para el aislamiento de *Shigella* y *Salmonella*, que son sensibles a la acidez.

Las muestras fecales recién recogidas se colocan en un vial con tampón fosfato para su trasporte al laboratorio. Las heces que contienen sangre o pus así como las heces de enfermos con sospecha de infecciones trasmitidas por agua o alimentos se inoculan en varios medios selectivos para el aislamiento de bacterias individuales. Los patógenos eucariotas intestinales se identifican por observación microscópica de quistes en muestras de heces o mediante pruebas de detección de antígenos más que por métodos de cultivo. Muchos laboratorios usan también ciertos medios selectivos y diferenciales y condiciones de incubación para identificar *E. coli* O157:H7 y *Campylobacter*, dos importantes patógenos intestinales típicamente adquiridos por alimentos o agua contaminados (Secciones 37.8 y 37.9).

www.medilibros.com

Heridas y abscesos

En las infecciones asociadas con lesiones traumáticas como mordiscos de animales o humanos, quemaduras, cortes, o la penetración de objetos extraños, las muestras deben tomarse con precauciones para recuperar el patógeno relevante, y los resultados deben interpretarse cui-

Tabla 32.2 Características de las colonias de los bacilos gramnegativos que se aíslan con frecuencia en varios medios de cultivo de utilidad clínica

				Medios con agar[a]	
Organismo	***EMB***	***MC***	***SS***	***BS***	***HE***
Escherichia coli	Centro oscuro con brillo metálico verdoso	Rojas o rosas	Rojas o rosas	La mayoría inhibidas	Amarillas-rosa
Enterobacter	Similar a *E. coli* pero las colonias son más grandes	Rojas o rosas	Blancas o beige	Colonias mucosas con brillo plateado	Amarillas-rosa
Klebsiella	Grandes, mucosas, marrones	Rosas	Rosadas	La mayoría inhibidas	Amarillas-rosa
Proteus	Traslucidas, incoloras	Trasparentes, incoloras	Centro negro, periferia clara	Verdes	Claras
Pseudomonas	Traslucidas, de incoloras a doradas	Trasparentes, incoloras	La mayoría inhibidas	No crecen	Claras
Salmonella	Traslucidas, de incoloras a doradas	Traslucidas, incoloras	Opacas	Negras a verde oscuro	Verdes o trasparentes con centro negro
Shigella	Traslucidas, de incoloras	Trasparentes, incoloras	Opacas	Marrones o inhibidas	Verdes o trasparentes

[a] BS, Agar sulfito de bismuto; EMB, agar eosina-azul de metileno; MC, agar MacConkey; SS, agar *Salmonella-Shigella*; HE, agar entérico Hektoen.

Fuente: Adaptado de Murria, P.R., E.J. Baron, J.H. Jorgenson, M.A. Pfaller y R.H. Yolken. 2003. *Manual of clinical microbiology*, 8ª edición. American Society for Microbiology, Washington, DC.

dadosamente. Las infecciones de heridas y abscesos se contaminan frecuentemente con microbiota normal, y las muestras tomadas de estas lesiones con escobillones suelen ser engañosas. Para abscesos y otras lesiones purulentas, el mejor método de muestreo es aspirar el pus con una jeringa estéril tras la desinfección de la superficie de la piel. Las muestras de lesiones purulentas internas se toman por biopsia o de tejidos extraídos quirúrgicamente.

Varios patógenos pueden asociarse con infecciones de heridas. Dado que algunos de ellos son anaerobios, una evaluación adecuada requiere que las muestras sean obtenidas, trasportadas y cultivadas bajo condiciones anóxicas en vez de en aerobiosis. Por ejemplo, los patógenos potenciales que se asocian comúnmente con descargas de pus en heridas infectadas son *S. aureus*, bacterias entéricas, *Pseudomonas aeruginosa* y anaerobios tales como especies de *Bacteroides* y de *Clostridium*. Los principales medios de aislamiento son agar sangre, varios medios selectivos para enterobacterias (Tablas 32.1 y 32.2) y agar sangre con suplementos adicionales y agentes reductores para los anaerobios obligados. La tinción de Gram de estas muestras se examina directamente al microscopio.

Muestras genitales y diagnóstico de laboratorio de la gonorrea

En los varones, una descarga uretral purulenta es el síntoma clásico de la gonorrea, una enfermedad de trasmisión sexual (Sección 34.13). Si no hay descarga, se puede obtener una muestra usando un escobillón estéril de pequeño diámetro que se inserta en el interior de la uretra, se deja en su lugar unos segundos para que absorba cualquier exudado, y se extrae para el cultivo e identificación de *N. gonorrhoeae*, el agente causal. Alternativamente, es frecuente que una muestra de la primera orina de la mañana de un individuo infectado contenga células viables de *N. gonorrhoeae*. En mujeres, las muestras se obtienen usualmente con escobillón de la cérvix o la uretra.

Los procedimientos de microbiología clínica son fundamentales para el diagnóstico de la gonorrea. *N. gonorrhoeae* (conocida clínicamente como gonococo) coloniza la superficie mucosa de la uretra, cérvix uterina, recto, garganta y conjuntiva. Es un microorganismo sensible a la desecación y, por tanto, se transmite casi exclusivamente por contacto directo de persona a persona, usualmente por relaciones sexuales. Las medidas de salud pública para controlar la gonorrea incluyen la identificación de los portadores asintomáticos y esto requiere análisis microbiológicos.

N. gonorrhoeae se encuentra usualmente como un diplococo gramnegativo, pero puede ser pleomórfico (Figura 15.21*a*). No se observan microorganismos similares en la microbiota normal del tracto urogenital. Por tanto, un frotis vaginal o cervical que muestre diplococos gramnegativos es un indicador presuntivo de gonorrea. En la gonorrea aguda, el examen microscópico de la descarga purulenta revela usualmente diplococos gramnegativos fagocitados por neutrófilos (**Figura 32.5a**).

La mayoría de las pruebas de laboratorio de muestras urogenitales para *N. gonorrhoeae* (y *Chlamydia trachomatis*, a menudo asociada) (Sección 34.14) se hacen usando sondas de ácido nucleico o amplificación del DNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa (Sección 32.12). Sin embargo, las muestras obtenidas de fuentes no urogenitales, como los ojos o el recto, deben también ser cultivadas.

Un medio enriquecido no selectivo para el aislamiento de *N. gonorrhoeae* contiene sangre lisada por calor y se denomina *agar chocolate* por su color marrón oscuro. La sangre calentada interacciona con los componentes del medio, absorbiendo compuestos que normalmente son tóxicos para *N. gonorrhoeae*. Uno de los varios medios selectivos usados para el aislamiento primario es el agar Thayer-Martin modificado (MTM) (Figura 32.5). Este medio contiene los antibióticos vancomicina, nistatina, trimetoprime y colistina para suprimir el crecimiento de

libros.com

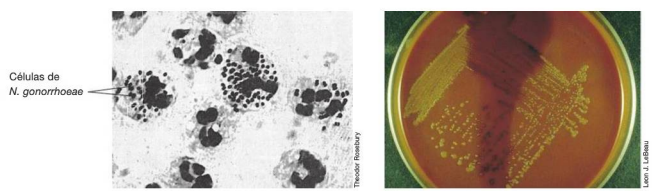


Figura 32.5 **Identificación de *Neisseria gonorrhoeae*.** *(a)* Fotomicrografía de *Neisseria gonorrhoeae* dentro de leucocitos polimorfonucleares de un exudado uretral. Notar las parejas de diplococos. *(b) N. gonorrhoeae* crecida en agar de Thayer-Martin. La placa ha sido teñida en su mitad con un reactivo que hace a las colonias azules si las células contienen citocromo c (la prueba de la oxidasa). Las colonias de *N. gonorrhoeae* en contacto con el reactivo son azules, indicando que son oxidasa positivas.

la microbiota normal. Estos antibióticos no tienen efecto sobre *N. gonorrhoeae* ni sobre *N. meningitidis*, que causa meningitis bacteriana (Sección 34.6).

Las placas inoculadas se incuban en un ambiente húmedo y en una atmósfera que contenga 3-7% de CO_2, requerido para el crecimiento de los gonococos. Las placas se examinan después de 32 y 48 horas y sobre las colonias crecidas se realiza la prueba de la oxidasa porque las especies de *Neisseria* son oxidasa-positivas (Figura 32.5*b*). Si el inóculo procede de muestras genitourinarias, los diplococos gramnegativos oxidasa-positivos que crecen en agar chocolate o en medios selectivos son muy probablemente gonococos. La identificación definitiva de *Neisseria gonorrhoeae* requiere la determinación del espectro de utilización de carbohidratos y pruebas inmunológicas o de ácidos nucleicos.

Cultivo de microorganismos anaerobios

Las bacterias anaerobias obligadas o estrictas son causa frecuente de infección, y su identificación requiere métodos especiales de aislamiento y cultivo. En general, los medios para anaerobios no difieren gran cosa de los utilizados para aerobios, excepto que (1) son usualmente más ricos en componentes orgánicos, (2) contienen agentes reductores (usualmente cisteína o tioglicolato) para eliminar el oxígeno, y (3) contienen un indicador redox para confirmar que las condiciones son anóxicas. La toma de muestras, manipulación y procesamiento se diseñan para excluir contaminación con oxígeno, dado que el oxígeno es tóxico para los anaerobios estrictos.

Varios hábitats en el cuerpo, como partes de la cavidad oral y el intestino grueso son generalmente anóxicos y permiten el crecimiento de una microbiota anaerobia. Otras partes del cuerpo, sin embargo, pueden volverse anóxicas como resultado de daño o trauma tisular, que reduce el aporte sanguíneo y la perfusión de oxígeno en el sitio dañado. Estos lugares anóxicos pueden ser colonizados por anaerobios estrictos. En general, las bacterias patógenas anaerobias forman parte de la microbiota y son patógenos oportunistas. Dos excepciones importantes son los anaerobios patógenos *Clostridium tetani* (causa del tétanos) y *Clostridium perfringens* (causa de la gangrena gaseosa y de un tipo de intoxicación alimentaria), ambas bacterias formadoras de endosporas, que son predominantemente microorganismos del suelo.

El aislamiento, cultivo e identificación de patógenos anaerobios es complicado por la contaminación de las muestras así como por el desafío adicional de mantener un ambiente de cultivo anóxico durante la toma, trasporte y cultivo de las muestras. Las muestras recogidas por aspiración con jeringa o por biopsia deben ser colocadas inmediatamente en un tubo con atmósfera libre de oxígeno, usualmente con una solución diluída de sales que contenga un agente reductor como el tioglicolato y un indicador redox como la resazurina. La resazurina carece de color cuando está reducida y se vuelve rosa cuando se oxida, indicando que la muestra se ha contaminado con oxígeno. Si no se dispone de tubos de trasporte de anaerobios, debe usarse la propia jeringa para trasportar la muestra; se retira la aguja y la jeringa se cierra con un tapón de goma.

Para la incubación anóxica, se colocan las placas de agar en un contenedor cerrado (jarra de anaerobiosis), que se hace anóxico reemplazando la atmósfera de la jarra por una mezcla libre de oxígeno (usualmente una mezcla de N_2 y CO_2) o eliminando el O_2 del recipiente cerrado por algún medio químico. Por ejemplo, como se muestra en la **Figura 32.6**, se genera químicamente hidrógeno (H_2) en la jarra. En presencia de un catalizador de paladio, el H_2 se combina con el O_2 libre en la jarra, formando agua y eliminando el oxígeno contaminante. Otros medios alternativos para suministrar condiciones anóxicas son el uso de medios de cultivo que contienen agentes reductores o el uso de cámaras aislantes anóxicas rellenas con un gas libre de oxígeno, como el nitrógeno o el hidrógeno (Figura 6.28*b*).

31.1 Minirrevisión

Para aislar bacterias con vistas a identificar patógenos potenciales, se requieren técnicas apropiadas de toma de muestra y de cultivo. La selección de condiciones apropiadas de toma de muestra y cultivo requiere el conocimiento de la ecología, fisiología y nutrición de las bacterias.

- ¿Por qué los cultivos de orina casi siempre dan positiva la detección de crecimiento bacteriano?
- Describa los métodos usados para mantener condiciones óptimas para el aislamiento de patógenos anaerobios.

Figura 32.6 Jarra sellada para incubar cultivos bajo condiciones anóxicas. El catalizador y el sobre con el generador de hidrógeno producen y mantienen un ambiente reductor (anóxico).

www.elibros.com

32.2 Métodos de identificación dependientes del cultivo

Si tras la siembra de un medio general hay crecimiento bacteriano, el microbiólogo clínico debe identificar el o los microorganismos presentes. Muchos aislamientos clínicos pueden identificarse mediante una serie de pruebas que requieren crecimiento bacteriano. Algunos de estos métodos se consideran aquí.

Crecimiento en medios selectivos y diferenciales

De acuerdo con sus características de crecimiento en los medios de aislamiento primario, un posible patógeno se subcultiva en medios especializados diseñados para medir una de muchas reacciones bioquímicas diferentes. Alguna de estas importantes pruebas bioquímicas se enumeran en la **Tabla 32.3.** Usualmente, los medios especializados se disponen en equipos (*kits*) que contienen varios me-

Tabla 32.3 Pruebas importantes de diagnóstico clínico para bacterias

Prueba	*Principio*	*Procedimiento*	*Uso más común*
Fermentación de Hidratos de carbono	Producción de ácidos y/o gases con azúcares o alcoholes azucarados durante el crecimiento fermentativo	Medio líquido con hidratos de carbono y rojo fenol como indicador de pH, tubo invertido para los gases	Diferenciación de bacterias entéricas
Catalasa	Enzima que descompone el peróxido de hidrógeno, H_2O_2	Añadir una gota de H_2O_2 sobre un cultivo denso y observar la formación de burbujas (O_2)	Diferencia *Bacillus* (+) de *Clostridium* (−); *Streptococcus de Micrococcus* (−); *Staphylococcus* (+)
Utilización de citrato	Utilización de citrato como única fuente de carbono, produciendo la alcalinización del medio.	Medio de citrato con azul de bromotimol como indicador de pH. Buscar la formación de un color azul intenso (pH alcalino)	Diferencia *Klebsiella-Enterobacter* (+) de *Escherichia* (−); *Edwardsiella* (−) de *Salmonella* (+)
Coagulasa	Enzima que causa la coagulación del plasma sanguíneo	Mezclar una suspensión líquida densa de bacteria con plasma, incubar, y observar la formación de un coágulo de fibrina	Diferencia *Staphylococcus aureus* (+) de *S. epidermidis* (−)
Descarboxilasas (lisina, ornitina, arginina)	La descarboxilación del aminoácido libera CO_2 y amina	Medio enriquecido con aminoácidos. Púrpura de bromocresol como indicador de pH, que vira a púrpura (pH alcalino) si actúa la enzima	Ayuda en la determinación del grupo dentro de las bacterias entéricas
Prueba de la β-galactosidasa (ONPG)	El ortonitrofenil-β-galactósido (ONPG) es un sustrato artificial para la enzima. Cuando es hidrolizado se forma nitrofenol (amarillo)	Incubar una suspensión densa de un cultivo lisado con ONPG. Buscar color amarillo	Diferencia *Citrobacter* (+) de *Salmonella* (−). Identificación de algunas especies de *Shigella* y *Pseudomonas.*
Licuefacción de la Gelatina	Muchas proteasas hidrolizan la gelatina y destruyen el gel	Incubar en caldo con un 12% de gelatina. Enfriar para comprobar la formación del gel. Si se hidroliza la gelatina, el tubo quedará líquido al enfriar	Ayuda en la identificación de *Serratia Pseudomonas, Flavobacerium, Clostridium*
Producción de sulfhídrico (H_2S)	El H_2S se produce por rotura de aminoácidos azufrados o por reducción del tiosulfato	El H_2S se detecta en un medio rico en hierro debido a la formación de sulfuro ferroso negro (muchas variantes: agar hierro de Kligler y agar hierro triple azúcar que también detectan la fermentación de hidratos de carbono)	En bacterias entéricas ayuda a la identificación de *Salmonella, Edwardsiella* y *Proteus*
Prueba del indol	Conversión del triptófano de las proteínas en indol	Detección de indol en un medio que contiene dimetil-aminobenzaldehído (color rojo) o sobre colonias extendidas sobre un papel con dimetilaminocinamaldehído (color azul)	Distinguir *Escherichia* (+) de la mayoría de *Klebsiella* (−) y de *Enterobacter* (−); *Edwardsiella* (+) de *Salmonella* (−); *Proteus vulgaris* (+) de *Proteus mirabilis* (−)
Prueba del rojo de metilo	Fermentación ácido mixta que produce ácidos suficientes para disminuir el pH por debajo de 4.3	Caldo con glucosa. Adicionar indicador rojo de metilo a la muestra tras la incubación	Diferencia *Escherichia* (+, cultivo rojo) de *Enterobacter* y *Klebsiella* (usualmente −, cultivo amarillo)

www.medicos.com

Tabla 32.3 ***(continuación)***

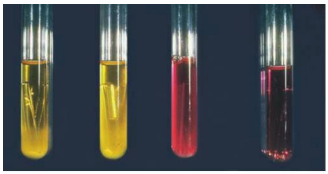
Prueba	*Principio*	*Procedimiento*	*Uso más común*
Reducción de nitrato	El nitrato (NO_3^-) como aceptor alternativo de electrones, reducido a NO_2^- o N_2	Caldo con nitrato. Después de la incubación, detectar nitrito con α-naftilamina-ácido sulfanílico (color rojo). Si es negativo confirmar que el NO_3^- está todavía presente adicionando polvo de zinc que reduce NO_3^- a NO_2^-. Si no hay color después del zinc, Significa que $NO_3^- \rightarrow N_2$	Ayuda en la identificación de bacterias entéricas (usualmente +)
Prueba de la oxidasa	El citocromo c oxida el aceptor artificial de electrones: tetrametil p-fenilendiamina (reactivo de Kovac) o dimetil p- fenilendiamina (reactivo de Gordon y McLeod	Las colonias son extendidas sobre un papel impregnado con el reactivo. Las colonias oxidasa-positivas producen un color púrpura oscuro-negro en 10-15 s con el reactivo de Kovac y color azul en 10-30 m con el reactivo de Gordon y McLeod	Diferencia *Neisseria* y *Moraxella* (+) de *Acinetobacter* (−), pseudomonas (+) y *Vibrionaceae* (+) de *Enterobacteriaceae* (−). Ayuda en la identificación de *Aeromonas* (+)
Prueba de oxidación-fermentación (O/F)	Algunos organismos producen ácidos solamente cuando crecen en anaerobiosis	Producción de ácidos en la parte alta del tubo de cultivo que contiene azúcar.	Diferencia *Micrococcus* (sólo produce ácidos aeróbicamente) de *Staphylococcus* (produce ácidos anaeróbicamente). Para diferenciar *Pseudomonas* (producción aeróbica de ácidos) de bacterias entéricas (producen ácidos anaeróbicamente).
Prueba de la fenilalanina desaminasa	Determinación de la producción de ácido fenilpirúvico, que se detecta en una prueba colorimétrica	Medio enriquecido con fenilalanina. Después del crecimiento, añadir cloruro férrico y buscar color verde	Caracterización de los géneros *Proteus* y *Providencia*
Hidrólisis del almidón	El yodo-yoduro produce color azul con el almidón	Crecimiento del organismo en una placa que contiene almidón. Inundar la placa con yodo de Gram y buscar zonas claras alrededor de las colonias	Identificar a los típicos hidrolizadores del almidón como *Bacillus* spp.
Prueba de la ureasa	La urea $H_2N—CO—NH_2$ se rompe en 2 NH_3 + CO_2	Medio con un 2% de urea e indicador rojo fenol el amonio liberado eleva el pH, color rojo-rosado intenso	Distingue *Klebsiella* (+) de *Escherichia* (−), y *Proteus* (+) de *Providencia* (−). Para identificar *Helicobacter pylori* (+)
Prueba de Voges-Proskauer	Producción de acetoína por fermentación de azúcares	Prueba química para la acetoína, usando α-naftol	Separa *Klebsiella* y *Enterobacter* (+) de *Escherichia* (−). Para caracterizar miembros del género *Bacillus*

www.medilibros.com

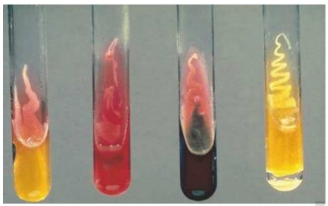
dios, en pocillos separados, todos los cuales pueden inocularse a la vez (**Figura 32.7**).

Los medios empleados son selectivos, diferenciales o ambas cosas a la vez. El agar eosina-azul de metileno (EMB, del inglés *eosin methifene blue*), por ejemplo, es un medio selectivo y diferencial ampliamente usado para el aislamiento y diferenciación de enterobacterias. El azul de metileno es un colorante que inhibe el crecimiento de bacterias grampositivas, por lo que solamente pueden crecer bacterias gramnegativas. El agar EMB tiene un pH inicial de 7.2 y contiene lactosa y sacarosa, pero no glucosa, como fuente de energía. La acidificación cambia la eosina de incolora a roja o negra. Las bacterias que fermentan intensamente la lactosa, como *Escherichia coli*, acidifican el medio y las colonias aparecen negras con un brillo verdoso. La enterobacterias que producen butanodiol, tales como *Klebsiella* o *Enterobacter*, producen menos ácido, y las colonias en EMB son de rosas a rojas. Las colonias de los no fermentadores de lactosa, como *Salmonella*, *Shigella* y *Pseudomonas*, son traslúcidas o rosadas (Figura 32.4). Por tanto, el EMB selecciona preferentemente para su crecimiento a bacterias gramnegativas y al mismo tiempo diferencia entre sus representantes más comunes.

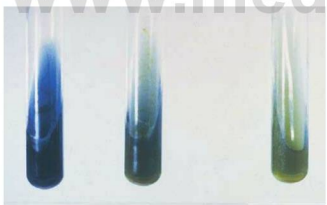
Los medios diferenciales incorporan pruebas bioquímicas para medir la presencia o ausencia de enzimas implicadas en el catabolismo de uno o varios sustratos específicos. Por ejemplo, la fermentación de azúcares se mide incorporando un indicador de pH que cambia de color con la acidificación (Figura 32.7*a*). La producción de hidrógeno o de dióxido de carbono durante la fermentación de azúcares se mide por la producción de gas, ya sea en viales que lo recogen o en agar (Figura 32.7*a*,*b*). La producción de sulfuro de hidrógeno (H_2S) se detecta por cre-



(a)



(b)



(c)

(d)

(e)

Figura 32.7 Métodos de diagnóstico dependientes del cultivo, usados para la identificación de aislados clínicos por cambios de color en varios medios diagnósticos. *(a)* Uso de un medio diferencial para investigar la fermentación de azúcares. La producción de ácido se indica por un cambio de color del colorante indicador de pH añadido al medio líquido. Si ocurre producción de gas, aparece una burbuja en el vial invertido en cada tubo. De izquierda a derecha: ácido, ácido y gas, negativo, no inoculado. *(b)* Una prueba diagnóstica convencional para enterobacterias en el agar triple azúcar hierro (TSI, del inglés *triple sugar iron*). El medio se inocula en la superficie inclinada y en profundidad. El medio contiene una pequeña cantidad de glucosa y una gran cantidad de lactosa y de sacarosa. Los microorganismos que fermentan solamente la glucosa causan formación de ácidos solamente en profundidad, mientras que los que fermentan la lactosa o la sacarosa producen ácidos también en la superficie inclinada. La formación de gas se revela por fracturas en el medio en profundidad. La formación de sulfuro de hidrógeno (ya sea por la degradación de proteínas o por la reducción del tiosulfato que lleva el medio) se indica por el ennegrecimiento debido a la reacción del H_2S con el hierro ferroso del medio. De izquierda a derecha: fermentación de glucosa sólo; reacción negativa; formación de sulfuro de hidrógeno; fermentación de glucosa y de otro azúcar. *(c)* Medida de la utilización del citrato por *Salmonella* en el agar citrato de Simmons. El cambio en el pH causa un cambio en el color del indicador. De izquierda a derecha: positivo, negativo, no inoculado. *(d)* Equipos de medios usados para la identificación rápida de aislamientos clínicos. El principio es el mismo que en (*a*), pero la disposición del conjunto se ha miniaturizado para que se puedan realizar numerosas pruebas a la vez. Se muestran cuatro tiras separadas, cada una con un cultivo diferente. (*e*) Otra disposición de un equipo miniaturizado de pruebas. Este define la utilización de azúcares por microorganismos no fermentativos.

www.medilibros.com

cimiento en un medio que contiene hierro férrico. Si se produce sulfuro, el ión férrico reacciona con el H_2S para formar FeS, visible como un precipitado negro (Figura 32.7*b*). La utilización del ácido cítrico, un ácido tricarboxílico, causa una elevación en el pH, y el medio para esta prueba lleva un colorante que cambia de color en condiciones alcalinas (Figura 32.7*c*). Se han desarrollado centenares de pruebas diferentes para uso clínico, pero tan sólo una veintena se utiliza rutinariamente (Figura 32.7*d*).

Las reacciones bioquímicas características de los patógenos se almacenan en un banco de datos computerizados. Cuando se introducen los resultados de diferentes pruebas realizadas a un patógeno desconocido, el ordenador compara las características del desconocido con los perfiles metabólicos de los patógenos conocidos, permitiendo la identificación. Con tan solo tres o cuatro pruebas clave puede ser suficiente para clasificar con precisión a muchos patógenos. Sin embargo, en algunos casos se requieren procedimientos de identificación más sofisticados.

Identificación y diagnóstico

A menudo se usan sistemas rápidos de identificación dependientes del crecimiento para identificar enterobacterias, porque estos microorganismos son agentes causales comunes de infecciones de los tractos urinario e intestinal (Figura 32.7*d*, *e*). Estos sistemas consisten en medios que son selectivos y diferenciales para grupos de patógenos importantes o incluso para especies bacterianas individuales. Por ejemplo, se han desarrollado kits que contienen múltiples medios para identificación de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae* y *Mycobacterium tuberculosis*. Hay otros kits disponibles para la identificación de los hongos patógenos (eucariotas) *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans* (Sección 35.8).

El microbiólogo clínico decide qué pruebas diagnósticas utilizar, basado en el origen de la muestra clínica, las características básicas (morfología y tinción de Gram) de un cultivo puro crecido de la muestra en un medio general, y la experiencia previa en casos similares.

32.2 Minirrevisión

Los métodos de identificación de un patógeno dependientes de su crecimiento dependen de reacciones metabólicas que se observan en medios especializados, selectivos y diferenciales. Las pruebas que dependen del crecimiento suministran los resultados necesarios para identificar con precisión al patógeno.

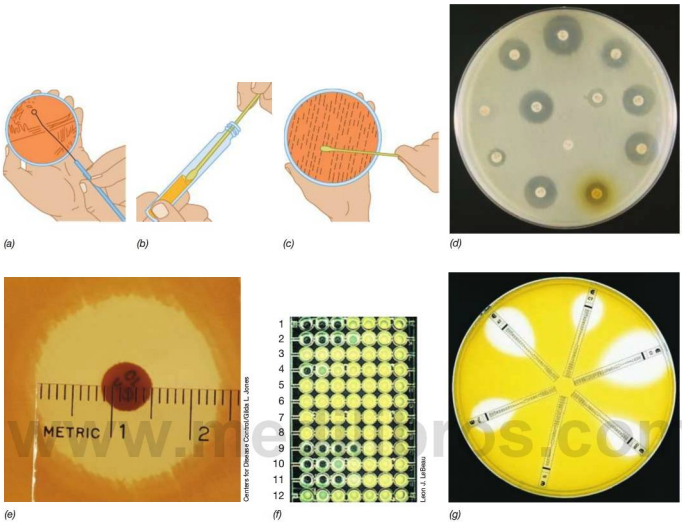
- Distinga entre medios selectivos y diferenciales. Dé un ejemplo de un medio usado para cada finalidad.
- Sugiera medios generales, selectivos, y diferenciales, para aislar patógenos de (1) un urocultivo y (2) un hemocultivo.

32.3 Pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos

Los patógenos aislados de muestras clínicas son identificados para confirmar el diagnóstico médico y para orientar sobre la terapia antimicrobiana. Para muchos patógenos, el tratamiento antimicrobiano apropiado y eficaz se basa en la experiencia y prácticas actuales. Sin embargo, para un selecto grupo de patógenos, las decisiones acerca de una terapia antimicrobiana apropiada deben hacerse caso por caso. Estos patógenos incluyen aquellos para los cuales es frecuente la resistencia a antimicrobianos (por ejemplo, las enterobacterias gramnegativas), los que causan enfermedades que ponen en riesgo la vida (por ejemplo, las meningitis bacterianas) y aquellos que requieren agentes bactericidas más que bacteriostáticos para prevenir el progreso de la enfermedad y el daño tisular. Esta última categoría puede incluir microorganismos que causan endocarditis bacteriana, donde la muerte total y rápida del patógeno es necesaria para la supervivencia del enfermo.

Algunos fundamentos de la medida de actividades antimicrobianas se han discutido en el Capítulo 27. La sensibilidad de un cultivo puede determinarse fácilmente por un método de difusión en agar o usando una técnica de diluciones en tubos para determinar la *concentración mínima inhibitoria (CMI)* de un agente que es suficiente para inhibir el crecimiento (Sección 27.4). Las regulaciones de la U.S. Food and Drug Administration controlan los instrumentos automatizados que se utilizan para las pruebas de sensibilidad en los Estados Unidos. Procedimientos y estándares, incluyendo los puntos finales experimentales para cada microorganismo y antibiótico, son actualizados constantemente por el Clinical and Laboratory Standard Institute, una organización altruista que desarrolla y establece estándares consensuados voluntariamente para las pruebas de antimicrobianos así como para otras tecnologías sanitarias (**http://www.clsi.org**).

El procedimiento estándar para establecer la actividad antimicrobiana es la *prueba de difusión desde discos* (**Figura 32.8*a-e***). Un medio con agar se inocula por diseminación uniforme de una suspensión de un cultivo puro, ajustada a una densidad definida, sobre la superficie del agar. Entonces, se colocan sobre el agar inoculado discos de papel de filtro con una cantidad definida (en microgramos por disco) de un agente antimicrobiano. Después de un período determinado de incubación, se mide el diámetro de la zona de inhibición del crecimiento alrededor de cada disco. La **Tabla 32.4** presenta tamaños de la zona para diferentes antibióticos. Los diámetros de la zona de inhibición se interpretan en categorías de sensibilidad en base al tamaño de la zona. Los estándares para la eficacia de diferentes agentes antimicrobianos frente a diferentes patógenos bacterianos son suministrados por la Food and Drug Administration o el Clinical and Laboratory Standard Institute.



www.medilibros.com

Figura 32.8 **Pruebas de sensibilidad a antibióticos.** Métodos para determinar la sensibilidad de un microorganismo a los antibióticos. La prueba de difusión desde discos: *(a)* Se homogeneizan colonias aisladas puras en un tubo con un medio líquido apropiado hasta alcanzar una densidad determinada que se valora por comparación con un estándar de turbidez; *(b)* se moja un escobillón de algodón estéril en la suspensión bacteriana y se elimina el exceso de fluido presionando el algodón contra las paredes del tubo; *(c)* con el escobillón se hacen estrías uniformemente en la superficie de un medio apropiado con agar; *(d)* después de la inoculación con el cultivo bacteriano, se colocan sobre la superficie del agar discos que contienen cantidades conocidas de diferentes antibióticos; *(e)* después de la incubación, se observan y miden las zonas de inhibición. Con estos datos, se establecen las categorías de sensibilidad del microorganismo por referencia a una carta interpretativa de los tamaños de las zonas (Tabla 32.4). *(f)* Sensibilidad a los antibióticos determinada por el método de dilución en caldo. El microorganismo es *Pseudomonas aeruginosa*. Cada fila tiene un antibiótico distinto. La placa de microtitulación permite la automatización de estas pruebas. El punto final lo da el pocillo con menor concentración de antibiótico que no muestra crecimiento bacteriano visible. Las mayores concentraciones de antibiótico están en los pocillos de la izquierda; se han hecho diluciones seriadas dobladas hacia la derecha. Por ejemplo, en las filas 1 y 2, el punto final es el tercer pocillo. En la fila 3, el antibiótico no es eficaz a las concentraciones probadas, ya que crecimiento bacteriano en todos los pocillos. En la fila 4, el punto final está en el primer pocillo. *(g)* Sensibilidad a los antibióticos determinada por el E-test (AB BIODISK, Solna, Suecia) para diferentes antibióticos (desde las 8 en punto, PTc, piperacilina/tazobactam; AT, aztreonam; CT, cefotaxima; CI, ciprofloxacino; GM, gentamicina; IP, imipenem). Cada tira se ha calibrado en términos de la concentración mínima inhibitoria (CMI) en μg/ml comenzando con la concentración más baja en el centro de la placa. La menor concentración de antibiótico que inhibe el crecimiento bacteriano es el valor de CMI para cada agente en particular (Sección 27.4). Por ejemplo, la CMI para la cefotaxima (CT) es 16 μg/ml. Este microorganismo es resistente a imipenem (IP); CMI > 32 μg/ml.

Los procedimientos de CMI para las pruebas de sensibilidad emplean una técnica de dilución de antibióticos, ya sea en tubos de cultivo (Figura 27.10) o en pocillos de una placa de microtitulación (Figura 32.8*f*). Los pocillos que contienen diluciones seriadas de los antibióticos se inoculan con una cantidad estándar del microorganismo que se va a probar. El crecimiento en presencia de cada antibiótico se observa midiendo la turbidez. La sensibilidad al an-

Tabla 32.4 Estándares para las pruebas de sensibilidad a antimicrobianos por difusión desde discos[a]

		Diámetro de la zona de inhibición(mm)		
Antibiótico	***Cantidad en el disco***	***Resistente***	***Intermedio***	***Sensible***
Ampicilina[b]	10 µg	13 o menos	14-16	17 o más
Ampilina[c]	10 µg	28 o menos	—	29 o más
Ceftriaxona	30 µg	13 o menos	14-20	21 o más
Cloranfenicol	30 µg	12 o menos	13-17	18 o más
Clindamicina	2 µg	14 o menos	15-20	21 o más
Eritromicina	15 µg	13 o menos	14-22	23 o más
Gentamicina	10 µg	12 o menos	13-14	15 o más
Meticilina[b]	5 µg	9 o menos	10-13	14 o más
Nitrofurantoína	300 µg	14 o menos	15-16	17 o más
Penicilina G[d]	10 unidades	28 o menos	—	29 o más
Penicilina G[e]	10 unidades	14 o menos	—	15 o más
Estreptomicina	10 µg	6 o menos	7-9	10 o más
Sulfonamida	10 µg	12 o menos	13-16	17 o más
Tetraciclina	30 µg	14 o menos	15-18	19 o más
Trimetroprima-sulfametoxazol	1.25/ 23.75 µg	10 o menos	11-15	16 o más
Tobramicina	10 µg	12 o menos	13-14	15 o más
Vancomicina[f]	10 µg	14 o menos	15-16	17 o más
Vancomicina[g]	10 µg	14 o menos (hacer CMI)	—	15 o más

[a] Los estándares se definen y actualizan por el *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, una organización internacional sin ánimo de lucro que desarrolla estándares voluntarios por consenso para las pruebas de antibióticos y otras tecnologías sanitarias (http://www.clsi.org).
[b] Para *Enterobacteriaceae*.
[c] Para estafilococos y organismos muy sensibles a la penicilina.
[d] Para estafilococos.
[e] Para organismos como enterococos que pueden causar algunas infecciones sistémicas tratables con altas dosis de penicilina G.
[f] Para enterococos.
[g] Para estafilococos.

www.edlibros.com

tibiótico se expresa usualmente como la mayor dilución (la menor concentración) de antibiótico que inhibe completamente el crecimiento. Esto define el valor de la CMI.

El E-test (AB BIODISK, Solna, Suecia) es una técnica que no se basa en la difusión sino que emplea un gradiente preformado y predefinido de un agente antimicrobiano inmovilizado en una tira de plástico. El gradiente de concentración cubre un rango de CMI a través de 15 diluciones dobladas. Cuando se aplica sobre la superficie de una placa de agar inoculada, el gradiente se transfiere de la tira al agar y permanece estable por un período que cubre el amplio rango de tiempos críticos asociados con las características de crecimiento de diferentes microorganismos. Después de incubar durante una noche o más, se desarrolla una zona elíptica de inhibición centrada a lo largo del eje de la tira. El valor de la CMI (en microgramos por mililitro) puede leerse en el punto donde el borde de la elipse interseccíona con la tira precalibrada de E-test, suministrando una CMI precisa (Figura 32.8g). Este valor puede ser interpretado usando los estándares actualizados de la Food and Drug Administration o el Clinical and Laboratory Standard Institute.

Muchos de los patógenos para los cuales se necesitan pruebas de susceptibilidad son *patógenos asociados a hospitales* o *patógenos nosocomiales*, adquiridos en hospitales o en otros centros de salud. Los microbiólogos que controlan las infecciones hospitalarias generan y examinan datos de sensibilidad para producir informes periódicos denominados **antibiogramas**. Estos informes definen las sensibilidades de los microorganismos aislados clínicamente respecto de los antibióticos actualmente en uso. Los antibiogramas se utilizan para monitorizar el control de los patógenos conocidos, para seguir la pista de la emergencia de nuevos patógenos y para identificar la emergencia de resistencias a antibióticos, todo a nivel local.

32.3 Minirrevisión

Los agentes antimicrobianos se utilizan ampliamente para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Para asegurar una terapia apropiada, hay que determinar la sensibilidad de los patógenos peligrosos a los antimicrobianos.

- Describa la prueba de difusión en discos para la sensibilidad a antimicrobianos. ¿Qué indican los resultados para un microorganismo individual y un agente antimicrobiano?

▮ ¿Cuál es el valor de las pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos para el microbiólogo, el médico, y el enfermo, tanto en la infecciones adquiridas en la comunidad como en las infecciones nosocomiales?

32.4 Seguridad en el laboratorio de microbiología

Los laboratorios de microbiología clínica presentan riesgos biológicos significativos para los trabajadores y los que están en contacto con ellos. Para prevenir infecciones accidentales en el laboratorio, se han establecido normas de laboratorio para la manipulación de las muestras clínicas. En los Estados Unidos, la ley obliga a cada institución clínica y de investigación que trabaje con tejidos humanos o de primate a tener un plan de control de la exposición ocupacional para la manipulación de patógenos vehiculizados por la sangre. Esta ley se ha diseñado específicamente para proteger a los trabajadores de infecciones por el virus de la hepatitis B (VHB, que causa la hepatitis infecciosa, *véase* Sección 34.12) y virus de la inmunodeficiencia humana (VIH, que causa el SIDA, *véase* Sección 34.15), pero limita eficazmente la infección por todos los patógenos debido a la implementación de estrictos controles de infección en el laboratorio.

Las dos causas más comunes de accidentes de laboratorio son la ignorancia y la falta de precauciones. Sin embargo, la formación y ejecución de procedimientos establecidos de seguridad pueden prevenir muchos accidentes. Desafortunadamente, la mayoría de las infecciones adquiridas en el laboratorio no son el resultado de exposiciones o accidentes identificables, sino más bien de la manipulación rutinaria de las muestras de los enfermos. Los aerosoles infecciosos generados durante el procesamiento de las muestras son la causa más común de infecciones de laboratorio. Los laboratorios clínicos siguen las normas de seguridad que se resumen a continuación (requeridas por la ley en los Estados Unidos) para minimizar la exposición del personal sanitario a los agentes infecciosos y por tanto reducir el número de infecciones de laboratorio no asociadas a accidentes.

1. El acceso a los laboratorios que trabajan con material peligroso debe estar restringido al personal que trabaja en el laboratorio y al personal de apoyo imprescindible. Estas personas deben conocer los riesgos biológicos del laboratorio y actuar en consecuencia.
2. Deben mantenerse procedimientos eficaces de descontaminación. Los materiales infecciosos y los residuos, incluyendo muestras, agujas y jeringas, medios inoculados, cultivos bacterianos, cultivos de tejidos, animales de experimentación, vidrio, instrumentos y superficies deben ser completamente descontaminados, sin excepción. Una solución de lejía al 5.25% o de otro desinfectante aprobado debe usarse para descontaminar el material infeccioso vertido. Todos los residuos potencialmente infecciosos deben quemarse en un incinerador certificado o manejados por un manipulador de residuos autorizado.
3. El personal que trabaja con agentes infecciosos o vacunas peligrosos (por ejemplo, vacunas de rabia, polio o difteria-tosferina-tétanos) debe ser adecuadamente vacunado frente a estos agentes. El personal que trabaja con tejidos humanos o de primates debe vacunarse frente al VHB.
4. Todas las muestras clínicas deben considerarse como infecciosas y manipularse apropiadamente. Esto es especialmente importante para prevenir la hepatitis adquirida en el laboratorio, dada la relativa frecuencia con la que los virus de hepatitis están presentes en las muestras de sangre.
5. Todos los pipeteados deben realizarse con sistemas automáticos de pipeteo (nunca con la boca).
6. Los animales deben ser manipulados sólo por personal de laboratorio debidamente entrenado. Deben usarse anestésicos y tranquilizantes para evitar daños tanto al personal como a los animales.
7. El personal de laboratorio debe vestir batas o monos de laboratorio, zapatos cerrados, guantes de látex, mascarillas, protección ocular, sistemas de respiración cuando sean necesarios y otros dispositivos de barrera adecuados al nivel de exposición y a la gravedad de la infección potencial. Estas barreras deben ser adecuadamente descontaminadas y almacenadas después de su uso. El personal de laboratorio también debe practicar una buena higiene personal en lo que se refiere al lavado de manos. Nunca se permitirá comer, beber, fumar, aplicarse cosméticos o pintarse los labios, o llevar lentes de contacto en el laboratorio clínico.
8. Dado el riesgo especial asociado con el SIDA, todas las muestras clínicas (humanas) deben tratarse como si contuvieran VIH. Deben llevarse guantes protectores cuando se manipulen muestras de cualquier tipo. Siempre que haya alguna posibilidad de que se formen aerosoles al preparar las muestras, se llevarán mascarillas o protectores del rostro entero. Las agujas de jeringas no deben ser recalentadas, dobladas o rotas; se colocarán en un contenedor marcado expresamente diseñado para este fin, que debe ser sellado y descontaminado antes de su eliminación.

Estas normas de seguridad deben seguirse en todos los laboratorios que manejen agentes potencialmente infecciosos. Los laboratorios clínicos especializados pueden tener normas adicionales para garantizar un ambiente seguro de trabajo, como se discute más adelante. Sin embargo, en última instancia es responsabilidad del personal de laboratorio mantener la seguridad en su puesto de trabajo. Cualquier laboratorio clínico tiene riesgos biológicos potenciales, y este peligro se incrementa para

el personal no entrenado y para los que no toman las precauciones necesarias para prevenir las infecciones adquiridas en el laboratorio.

Niveles de contención biológica y de bioseguridad en el laboratorio

El nivel de contención usado para prevenir la infección accidental o la contaminación ambiental accidental (escape) en los laboratorios clínicos, de investigación y de enseñanza debe ajustarse para contrarrestar el riesgo biológico potencial de los microorganismos que se manejan en el laboratorio. Los laboratorios se clasifican de acuerdo con su potencial de contención o *nivel de bioseguridad* (*BL*, del inglés *biosafety level*), y se designan como BL1, BL2, BL3 y BL4. El personal que trabaja en los laboratorios de cualquier nivel de seguridad debe observar buenas prácticas de laboratorio, que aseguren una limpieza básica y limiten la contaminación, y las superficies del laboratorio deben ser descontaminadas después de cada turno de trabajo o siempre que ocurra un vertido. El personal no puede consumir comida ni bebida en el laboratorio y debe lavarse las manos al abandonarlo. En todo momento, el acceso al laboratorio debe estar restringido al personal de laboratorio.

Los laboratorios BL1 están en el nivel de contención más bajo. El trabajo puede realizarse en mesas sin protección (sin cabina) con microorganismos que presentan un bajo riesgo de infección; se trata de microorganismos como *Bacillus subtilis*, que no son patógenos en hospedadores normales. Un ejemplo de instalación BL1 sería un laboratorio de enseñanza para estudiantes de microbiología, donde no se usan patógenos.

Los laboratorios BL2 están diseñados para contener microorganismos que presentan un moderado riesgo de infección por ingestión accidental, inyección percutánea, o exposición de mucosas a aerosoles. El trabajo con patógenos tales como *Escherichia coli* o *Streptococcus pyogenes* se realiza en laboratorios BL2 o algunas veces en niveles de contención mayores. Los procedimientos normales pueden realizarse encima de la mesa, pero, cuando sea necesario, deben usarse sistemas barrera como protecciones de la cara y los ojos, guantes y batas de laboratorio. La mayor parte de los laboratorios microbiológicos de investigación, clínicos o de enseñanza mantienen estándares de contención BL2.

Los laboratorios BL3 están diseñados para contener patógenos que tienen muy alta capacidad para causar infecciones, especialmente por aerosoles. Por ejemplo, si el personal del laboratorio maneja patógenos muy infecciosos que se transmiten por el aire, como *Mycobacterium tuberculosis*, agente causal de la tuberculosis, el laboratorio debe estar dotado de características especiales como habitaciones con presión negativa y filtros de aire para prevenir la liberación accidental del patógeno desde el laboratorio. Para la manipulación en un laboratorio BL3 se requieren cabinas de seguridad biológica (Figura 27.4); el trabajo no debe hacerse en mesas descubiertas. En algunos casos especiales, microorganismos que normalmente se manejarían en BL2 deben pasar al nivel BL3. Por ejemplo, *Staphylococcus aureus* puede manipularse en placas de cultivo en BL2. Sin embargo, cuando se cultivan grandes cantidades, y, especialmente, si estas grandes cantidades han de centrifugarse, el trabajo debe realizarse en una instalación BL3 para contener los aerosoles potencialmente infecciosos. Las instalaciones especializadas de investigación y enseñanza a menudo tienen un laboratorio BL3.

Los laboratorios BL4 están diseñados para la contención máxima de patógenos que pueden poner en riesgo la vida, con una elevada probabilidad de trasmisión por aerosoles y para los cuales no hay inmunización ni tratamiento eficaces. En las instalaciones BL4, la contención física requiere el aislamiento total del microorganismo, mediante la manipulación con guantes en una cabina de seguridad biológica sellada, o con personal que vista un traje entero con presión positiva y suministro de aire (**Figura 32.9**). Los virus de fiebres hemorrágicas (Lassa, Marburg, Ebola, *véase* Sección 33.10), el virus de la viruela (Sección 33.11) y las cepas de *Mycobacterium tuberculosis* resistentes a antimicrobianos (Sección 34.5) son ejemplos de patógenos que deben ser manipulados en instalaciones BL4. Los laboratorios BL4 están diseñados y equipados específicamente para manejar a los patógenos más peli-

www.elibros.com

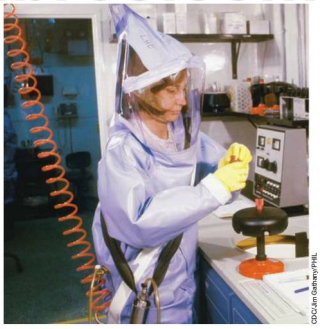


Figura 32.9 Una trabajadora en un laboratorio BL4 (nivel de seguridad biológica 4). El BL4 es el grado más alto de control biológico, que brinda la máxima protección al trabajador y la mayor contención para los patógenos. La trabajadora lleva un traje cerrado, de cuerpo entero, con un aporte externo de aire y un sistema de ventilación. Todos los accesos al laboratorio están controlados por esclusas de aire. Todo el material que sale del laboratorio es autoclavado o descontaminado químicamente.

grosos. Usualmente pertenecen a instalaciones gubernamentales como las de los Centers for Disease Control and Prevention (Atlanta, Georgia, USA) o laboratorios de universidades especializados en enfermedades infecciosas.

32.4 Minirrevisión

La seguridad en el laboratorio clínico requiere formación, planificación y precauciones para prevenir la infección del personal de laboratorio por patógenos. Deben tomarse precauciones específicas y procedimientos apropiados de descontaminación para materiales como cultivos vivos, medios de cultivo inoculados, agujas hipodérmicas usadas, y muestras de enfermos.

- ¿Cuáles son las principales precauciones necesarias para prevenir la diseminación de un patógeno transmitido por la sangre al personal de laboratorio?
- ¿Cuáles son las principales causas de las infecciones de laboratorio?
- Identifique las características básicas de la contención de riesgos biológicos en laboratorios, desde el BL1 hasta el BL4.

II INMUNOLOGÍA Y MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Los inmunoensayos se usan en laboratorios clínicos, de referencia y de investigación para detectar patógenos específicos o productos de patógenos. Cuando los métodos de cultivo para patógenos no están disponibles rutinariamente o son prohibitivamente difíciles de realizar, como en el caso de muchas infecciones virales, los inmunoensayos aportan a menudo medios eficaces y relativamente sencillos para identificar patógenos individuales o detectar la exposición a patógenos.

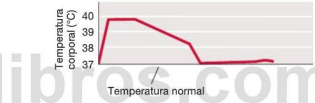
32.5 Inmunoensayos para las enfermedades infecciosas

La respuesta inmune se discutió en los capítulos 29-31. Los aspectos principales de la inmunidad están resumidos en las Figuras 30.1-30.3. Muchos inmunoensayos utilizan anticuerpos específicos para patógenos o sus productos en pruebas *in vitro* diseñadas para detectar agentes infecciosos individuales. En algunos casos, como discutiremos ahora, se examinan las respuestas inmunitarias de los enfermos para obtener evidencias de la infección por un patógeno.

Títulos de anticuerpos, pruebas cutáneas y diagnóstico de enfermedades infecciosas

No siempre el aislamiento de un patógeno es posible o práctico para confirmar el diagnóstico de una enfermedad infecciosa. Una aproximación alternativa, que aporta una fuerte evidencia circunstancial de infección por un patógeno particular consiste en medir el **título** (cantidad) de anticuerpos específicos frente a uno o varios antígenos producidos por el patógeno sospechoso. Si un individuo se infecta con un patógeno sospechoso, la respuesta inmunitaria —en este caso, el título de anticuerpos— para ese patógeno debe ser alto. El título de anticuerpos puede medirse por los métodos explicados en las Secciones 32.7-32.11. Pruebas como la aglutinación, el ensayo de inmunoadsorbente unido a enzima y el radioinmunoensayo se utilizan comúnmente. Se preparan diluciones seriadas del suero del enfermo y se ensayan por el método elegido. El título se define como la mayor dilución (menor concentración) de suero con la que se observa reacción antígeno-anticuerpo (**Figura 32.10**). Estos métodos se denominan *pruebas serológicas* porque utilizan los anticuerpos del suero del enfermo.

Una única medida del título de anticuerpos indica exposición previa o infección con el patógeno. Para patóge-



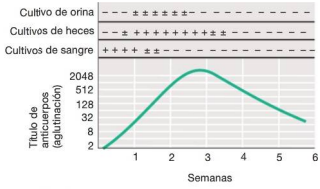


Figura 32.10 El curso de la infección en un enfermo típico de fiebres tifoideas no tratado. La medida de la temperatura corporal suministra una medida de la evolución de los síntomas clínicos. El título de anticuerpos se midió determinando la mayor dilución de suero (diluciones dobladas) que produjo aglutinación con una cepa estándar de *Salmonella typhi*. El título se presenta como el recíproco de la mayor dilución que mostró una reacción de aglutinación. Se determinó la presencia de bacterias viables en orina, heces y sangre mediante cultivos periódicos. Nótese que el patógeno desaparece de la sangre conforme se eleva el título de anticuerpos, mientras que la eliminación en las heces y la orina requiere más tiempo. La temperatura corporal desciende gradualmente hacia la normalidad conforme se eleva el título de anticuerpos. Los datos usados no representan a un único enfermo sino que son una composición de los modelos observados en un gran número de enfermos.

www.edilibros.com

nos de escasa incidencia en la población, la presencia de anticuerpos puede ser suficiente para indicar una infección en curso, activa. Este es el caso, por ejemplo, del VIH-SIDA (sección 34.15). Los métodos para determinar los niveles de anticuerpos para el VIH se discuten en las Secciones 32.10 y 32.11.

En la mayoría de los casos, sin embargo, la mera presencia de anticuerpos no indica una infección activa. Típicamente, los títulos de anticuerpos persisten detectables por largos períodos después de que una infección previa se ha curado. Para relacionar una enfermedad aguda con un patógeno particular, es esencial mostrar una elevación en el título de anticuerpos de muestras de suero tomadas de un enfermo durante la enfermedad aguda y luego durante la fase de convalecencia de la enfermedad. Frecuentemente, el título de anticuerpos es bajo durante la fase aguda de la infección y se eleva durante la convalecencia (Figura 32.10). Una elevación en el título de anticuerpos es el mejor indicador de que la enfermedad se debe al patógeno sospechoso. Desafortunadamente, no todas las infecciones tienen como resultado una inmunidad sistémica. En algunos casos, la presencia de anticuerpos en el suero puede deberse a una inmunización reciente. De hecho, la medida de la elevación del título de anticuerpos después de una inmunización es una de las mejores maneras de determinar que la inmunización ha sido eficaz.

Las pruebas cutáneas son otro método para determinar la exposición a un patógeno. La prueba cutánea usada más comúnmente es la *prueba de la tuberculina*, que consiste en una inyección intradérmica de un extracto soluble de células de *Mycobacterium tuberculosis*. Una reacción inflamatoria positiva en el sitio de la inyección en 48 horas indica infección actual o exposición previa a *M. tuberculosis*. Esta prueba identifica la respuesta debida a células T_H1 específicas para el patógeno (Figura 30.6*b*). Las pruebas cutáneas se usan rutinariamente para el diagnóstico de la tuberculosis, lepra, algunas enfermedades fúngicas y otras enfermedades infecciosas en las cuales la respuesta de anticuerpos es débil o inexistente. Las pruebas inmunodiagnósticas comunes para patógenos se muestran en la **Tabla 32.5.**

Si un patógeno está muy localizado, puede haber una inducción escasa de respuesta inmunitaria y no ocurrir

Tabla 32.5 Procedimientos inmunológicos para la identificación de agentes infecciosos

Patógeno/enfermedad	*Antígeno*	*Procedimiento*[a]
VIH/SIDA	Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)	ELISA Inmunoblot
Borrelia burgdorferi (enfermedad de Lyme)	Flagelina Proteínas de superficie	ELISA Inmunoblot
Brucella (brucelosis)	Antígenos de la pared celular	Aglutinación
Candida albicans (infecciones por levaduras)	Extracto soluble de proteínas fúngicas	Prueba cutánea
Corynebacterium diphtheriae (difteria)	Toxina	Prueba cutánea (prueba de Schick)
Virus de la influenza (gripe)	Suspensiones del virus de la gripe Células de nasofaringe que contienen virus de la gripe	Ensayo basado en el complemento Inmunofluorescencia
Mycobacterium leprae (lepra)	Lepromina (extracto soluble de proteínas bacterianas)	Prueba cutánea
Mycobacterium tuberculosis (tuberculosis)	Tuberculina (derivado de proteínas purificado, PPD)	Prueba cutánea
Neisseria meningitidis (meningitis)	Polisacárido cápsular	Hemaglutinación pasiva (polisacárido de N. meningitidis adsorbido en hematíes)
Pneumocystis carinii (infección pulmonar)	Células de *P. carinii*	Inmunofluorescencia
Enfermedades por rickettsias (fiebre Q, tifus, fiebre botonosa)	Células muertas de rickettsias	Ensayos basados en el complemento o pruebas de aglutinación celular ELISA
Salmonella (gastroenteritis)	Antígeno O y H	Aglutinación (prueba de Widal) ELISA
Streptococcus (grupo A) (anginas, escarlatina)	Estreptolisina O (exotoxina) DNasa (proteína extracelular)	Neutralización de la hemolisis Neutralización de la enzima
Treponema pallidum (sífilis)	Cardiolipina-lecitina-colesterol	Prueba de floculación [Venereal Disease Research Laboratory (VDRL)]
Vibrio cholerae (cólera)	Antígeno O	Aglutinación Prueba bactericida (en presencia de complemento) ELISA

[a] Las pruebas de nnmunofluorescencia usan anticuerpos preformados para detectar la presencia del patógeno indicado en una muestra del enfermo. Las pruebas cutáneas para *C. albicans*, M. *tuberculosis*, y *M. leprae* indican una hipersensibilidad retardada mediada por TH1. La prueba de Schick para *C. diphtheriae* detecta anticuerpos séricos mediante una reacción de neutralización de la toxina en la piel. Todas las otras pruebas miden niveles de anticuerpos séricos.

www.medilibros.com

la elevación del título de anticuerpos o la reactividad de la prueba cutánea, incluso aunque el patógeno prolifere profusamente en el sitio de la infección. Un buen ejemplo es la gonorrea, causada por la infección de superficies mucosas con *Neisseria gonorrhoeae*. Como se discutirá en la Sección 34.13, la gonorrea no induce una respuesta de inmunidad sistémica o protectora, no hay título de anticuerpos ni reactividad cutánea, y la reinfección de los individuos es común.

32.5 Minirrevisión

A menudo, el resultado natural de la infección es una respuesta inmunitaria. Las respuestas de inmunidad específica, particularmente los títulos de anticuerpos y las pruebas cutáneas, pueden monitorizarse para suministrar evidencias de infecciones pasadas, infecciones actuales y convalecencia.

- Explique las razones para los cambios en los títulos de anticuerpos para un único agente infeccioso, desde la fase aguda hasta la convalecencia de la infección.
- Describa el método, intervalo de tiempo y razones para la prueba cutánea TB. ¿Qué componente de la respuesta inmunitaria detecta esta prueba?

32.6 Anticuerpos policlonales y monoclonales

La respuesta inmunitaria a un patógeno tiene como resultado típico la producción de inmunoglobulinas (Ig) dirigidas frente a los numerosos determinantes antigénicos presentes en el patógeno (Sección 29.10). Solamente unas pocas de las muchas Ig están dirigidas frente a cada uno de los determinantes antigénicos. El antisuero resultante es una mezcla compleja de anticuerpos diferentes, llamados **anticuerpos policlonales** derivados de muchas células B individuales. El suero se denomina *antisuero policlonal*. Los antisueros policlonales suministran una adecuada protección inmunitaria al hospedador, pero no son reproducibles con precisión, porque son la suma de las respuestas de anticuerpos de un individuo a un antígeno complejo en un momento concreto.

Hibridomas y anticuerpos monoclonales

Cada Ig es producida por un único linfocito B (Sección 29.10). Como resultado, un clon de células B *in vitro* puede producir cantidades limitadas de un único anticuerpo monoespecífico; a esto se le llama **anticuerpo monoclonal**. Sin embargo, las células B productoras de anticuerpos mueren después de varias semanas en cultivo celular (*in vitro*). Para producir clones de células B de larga vida, las células B productoras de anticuerpos se fusionan con células B tumorales llamadas *mielomas*. Los mielomas son capaces de dividirse indefinidamente y son por tanto líneas celulares inmortales. Las líneas celulares inmortales que resultan de la fusión célula B-mieloma son líneas de células híbridas llamadas *hibridomas*. Las líneas de hibridomas comparten propiedades de las dos células parentales. Crecen indefinidamente *in vitro* y producen anticuerpos (**Figura 32.11**).

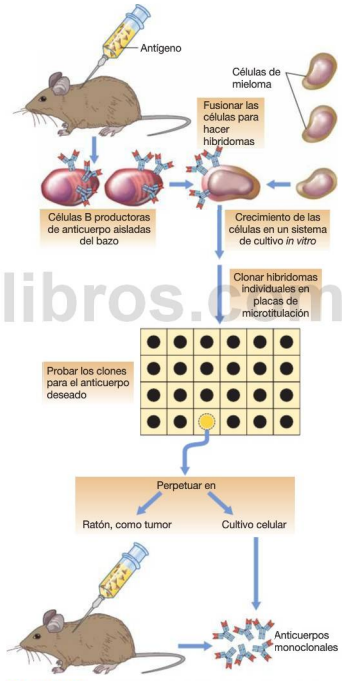


Figura 32.11 La técnica de hibridoma y la producción de anticuerpos monoclonales. Los hibridomas pueden cultivarse indefinidamente por pases a través de animales como un tumor. Las células de hibridoma también pueden almacenarse congeladas y reconstituirse cuando sea necesario en cultivo de tejidos o en un hospedador animal apropiado.

www.medilibros.com

Para producir un anticuerpo monoclonal, se inmuniza un ratón con el antígeno que interesa. Durante varias semanas siguientes, las células B específicas de antígeno proliferan y empiezan a producir anticuerpos en el ratón. Se extrae del ratón tejido del bazo o de los ganglios linfáticos, rico en células B, y las células B se fusionan con células de mieloma (Figura 32.11). Muchas células se fusionan y empiezan a crecer en el cultivo, pero sólo un pequeño número son hibridomas productores de anticuerpos. Los hibridomas se seleccionan de las otras células por adición de Hipoxantina, Aminopterina y Timidina (HAT) al medio de cultivo de las células *in vitro*. El medio HAT detiene el crecimiento de las células de mieloma que no se han fusionado porque las células de mieloma, aunque capaces de crecer indefinidamente en cultivo celular, son incapaces de usar los metabolitos hipoxantina y timidina para superar el bloqueo metabólico causado por la aminopterina, un veneno celular. En cambio, las células de hibridoma fusionadas pueden usar la hipoxantina y timidina para superar el bloqueo de la aminopterina y crecen normalmente en el medio HAT; poseen los genes necesarios para utilizar hipoxantina y timidina, recibidos de la célula B parental. Las células B no fusionadas mueren en pocos días porque no pueden crecer indefinidamente en cultivo. Después de la fusión, se identifican los clones de hibridoma productores del anticuerpo deseado.

Un ensayo de inmunoabsorbente unido a enzima (ELISA, del inglés *enzyme-linked immunosorbent assay*) (Sección 32.10) puede usarse para identificar hibridomas que producen anticuerpos monoclonales. De una fusión típica, se aíslan varios clones distintos, cada uno de los cuales hace un anticuerpo monoclonal. Una vez que se han identificado los clones de interés, pueden crecer en ratones bajo la forma de un tumor productor de anticuerpos, o pueden crecer en cultivo celular. El anticuerpo puede recogerse de un tumor o del sobrenadante de un cultivo celular. Los hibridomas pueden crecer indefinidamente o pueden almacenarse como células congeladas y posteriormente reconstituirse para suministrar los anticuerpos monoclonales deseados. Los anticuerpos monoclonales han reemplazado a los anticuerpos policlonales en muchas aplicaciones inmunodiagnósticas porque son biorreactivos más específicos. La **Tabla 32.6** compara las propiedades de los anticuerpos policlonales y monoclonales.

Usos diagnósticos y terapéuticos

Los anticuerpos monoclonales son ampliamente usados en pruebas de diagnóstico clínico, tipado inmunológico de bacterias, e identificación de células portadoras de antígenos extraños en su superficie (por ejemplo, células infectadas con virus). También se han usado anticuerpos monoclonales en ingeniería genética para identificar y medir niveles de productos de genes que no pueden detectarse por otros métodos, y también para incrementar la especificidad de pruebas clínicas como el tipado de sangre y de tejidos.

Tabla 32.6 Características de la producción de anticuerpos policlonales y monoclonales

Policlonales	*Monoclonales*
Contienen muchos anticuerpos que reconocen muchos determinantes en un antígeno	Contiene un solo anticuerpo que reconoce sólo un único determinante
Están presentes varias clases de anticuerpos (IgG, IgM, y otros)	Se produce una sola clase de anticuerpo
Puede obtenerse un anticuerpo específico usando sólo antígeno altamente purificado	Puede obtenerse un anticuerpo específico usando un antígeno impuro
Difícil reproducibilidad y estandarización	Altamente reproducible

A causa de su especificidad, los anticuerpos monoclonales también se usan para detectar y tratar cánceres humanos. Las células malignas poseen antígenos superficiales no expresados en células normales. Estos antígenos tumorales son proteínas únicas, específicas de la célula tumoral. Los anticuerpos monoclonales preparados frente a antígenos tumorales marcan específicamente a las células malignas y se han utilizado como vehículos para liberar toxinas directamente en ellas. Anticuerpos monoclonales específicos para tumores, unidos covalentemente a toxinas, están actualmente en ensayos clínicos. La especificidad de los tratamientos con anticuerpos monoclonales puede mejorar mucho la terapia del cáncer, ofreciendo una alternativa a la quimioterapia y la radioterapia que daña a las células normales del hospedador. **www.microbiologyplace.com Tutorial en línea 32.1: Producción de anticuerpos monoclonales**

32.6 Minirrevisión

Los anticuerpos policlonales y monoclonales se usan para aplicaciones de investigación y de diagnóstico. La tecnología de los hibridomas suministra de forma reproducible anticuerpos específicos para un amplio rango de fines clínicos, diagnósticos, y de investigación.

- ¿Cómo puede una preparación de anticuerpos policlonales reconocer varios determinantes antigénicos?
- ¿Qué ventajas tienen los anticuerpos monoclonales en comparación con los policlonales? ¿Qué ventajas tienen los anticuerpos policlonales?

32.7 Reacciones antígeno-anticuerpo *in vitro*: serología

El estudio de las reacciones antígeno-anticuerpo *in vitro* se llama **serología**. Las reacciones serológicas se usan para muchas pruebas inmunológicas de diagnóstico. Las reacciones antígeno-anticuerpo dependen de la interac-

ción específica del determinante antigénico con la región *variable* de la molécula de anticuerpo (Sección 29.9). Se usan varias pruebas serológicas para identificar antígenos, dependiendo de las propiedades del antígeno y de las condiciones elegidas para la reacción (**Tabla 32.7**).

Especificidad y sensibilidad

La utilidad de las pruebas serológicas para fines diagnósticos depende la especificidad y sensibilidad de las pruebas. La **especificidad** es la capacidad de una preparación de anticuerpos para reconocer un antígeno único. La especificidad óptima implica que el anticuerpo es específico para un único antígeno, que no ocurrirán reacciones cruzadas con otro antígeno y que, por tanto, no se obtendrán datos falsamente positivos. La especificidad debe definirse en términos de reacciones con antígenos de controles positivo y negativo. La especificidad para cada prueba debe determinarse experimentalmente y verificarse cada vez que se utiliza dicha prueba.

La **sensibilidad** define la menor cantidad de antígeno que puede detectarse. El mayor nivel de sensibilidad requiere que, en una prueba, el anticuerpo sea capaz de identificar una sola molécula de antígeno. Una sensibilidad alta previene las reacciones falsamente negativas. La sensibilidad para las pruebas más comunes, en términos de la cantidad de anticuerpo necesaria para detectar antígeno, se muestra en la **Tabla 32.8**. La cantidad de antígeno detectada por cada sistema de pruebas es proporcional a la cantidad de anticuerpo usado. Por ejemplo, las técnicas de inmunoprecipitación requieren una gran cantidad de anticuerpos y generalmente detectan cantidades de 0,1-1,0 mg de antígeno. Por eso, las pruebas de precipitación son las pruebas serológicas menos sensibles. En contraste, las pruebas ELISA (Sección 32.10) requieren 100.000 veces menos anticuerpos y pueden detectar 1 millón de veces menos antígeno (cantidades de 0,1-1,0 ng) que las pruebas de precipitación. Por tanto, las pruebas ELISA están entre las pruebas serológicas más sensibles.

Neutralización

La **neutralización** es la interacción de un anticuerpo con un antígeno, en la que el antígeno queda suficientemente bloqueado o distorsionado como para reducir o eliminar su actividad biológica. Las reacciones de neutralización pueden ocurrir *in vivo* e *in vitro*.

Por ejemplo, la neutralización de una toxina microbiana por anticuerpos específicos ocurre cuando la toxina y el anticuerpo se combinan de forma que la porción activa de la toxina se bloquea (**Figura 32.12**). Las reacciones de neutralización pueden bloquear los efectos de muchas exotoxinas bacterianas, incluyendo muchas de las listadas en la Tabla 28.4. Un antisuero que contiene anticuerpos que neutralizan una toxina se denomina *antitoxina*. La terapia con antitoxinas se usa para tratar botulismo, tétanos y difteria, todas ellas enfermedades causadas por exotoxinas bacterianas.

Tabla 32.7 Tipo de reacciones antígeno-anticuerpo

Localización del antígeno	*Factores accesorios requeridos*	*Reacción observada*
Soluble	Ninguno	Precipitación
En la célula o en una partícula inerte	Ninguno	Aglutinación
Flagelo	Ninguno	Inmovilización o aglutinación
En la célula bacteriana	Complemento	Lisis
En la célula bacteriana	Complemento	Muerte
En el eritrocito	Complemento	Hemolisis
Toxina	Ninguno	Neutralización
Virus	Ninguno	Neutralización
En la célula bacteriana	Fagocito, complemento	Fagocitosis y opsonización

Tabla 32.8 Sensibilidad de los ensayos de inmunodiagnóstico

Ensayo	*Sensibilidad (µg de anticuerpo/ml)**
Reacción de precipitación	
En fluidos	24-160
En geles (inmunodifusión doble)	24-160
Reacciones de aglutinación	
Directa	0,4
Pasiva	0,08
Radioinmunoensayo (RIA)	0,0008-0,008
Enzimoinmunoensayo (ELISA)	0,0008-0,008
Inmunofluorescencia	8,0

* Mínima cantidad de anticuerpo necesaria para dar una reacción positiva en presencia del antígeno.

libros.com

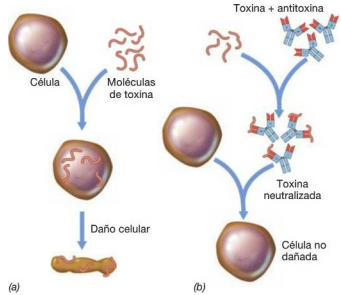


Figura 32.12 Neutralización de una exotoxina por un anticuerpo antitoxina. *(a)* La toxina no tratada destruye a la célula. *(b)* El anticuerpo antitoxina neutraliza la toxina y previene la destrucción de la célula.

También pueden ocurrir reacciones de neutralización cuando los virus se unen a anticuerpos específicos. Por ejemplo, los anticuerpos dirigidos frente a las proteínas hemaglutinina y neuraminidasa del virus de la gripe previene la adsorción de los viriones a sus receptores específicos en las células del hospedador (Sección 34.9). Las reacciones de neutralización pueden usarse para pruebas *in vitro* utilizando suero del enfermo, pero no se emplean de forma rutinaria en los laboratorios de diagnóstico porque requieren sistemas de prueba biológicamente activos.

Precipitación

La **precipitación** resulta de la interacción de un anticuerpo soluble con un antígeno soluble para formar un complejo insoluble. Las moléculas de anticuerpo tienen generalmente dos sitios de unión al antígeno (esto es, son bivalentes). Por tanto, cada anticuerpo puede unir dos moléculas separadas de antígeno. Si el antígeno tiene más de un determinante de unión al anticuerpo, se puede formar un precipitado de los agregados de moléculas de anticuerpo y antígeno (**Figura 32.13**). Dado que se observan fácilmente *in vitro*, las reacciones de precipitación son pruebas serológicas muy informativas, especialmente para las medidas cuantitativas de concentraciones de anticuerpos. Sin embargo, la precipitación máxima ocurre solamente cuando hay proporciones óptimas de ambos reactivos. La presencia de cantidades excesivas, ya sea de antígeno o de anticuerpo, tiene como resultado la formación de inmunocomplejos solubles.

Las reacciones de precipitación realizadas en geles de agar, llamadas *prueba de inmunodifusión*, se usan para estudiar la especificidad de las reacciones antígeno-anticuerpo. Tanto antígenos como anticuerpos se difunden hacia fuera desde pocillos separados cortados en un gel de agar, y se forman bandas de precipitación en las zonas donde ambos interaccionan en proporciones óptimas (Figura 32.13*b*). Las bandas de precipitación formadas son características de las sustancias que reaccionan; pueden investigarse las relaciones moleculares entre dos antígenos que reaccionan con un antisuero observando las bandas que se forman cuando ambos antígenos se colocan en pocillos adyacentes equidistantes del pocillo del antisuero. Por ejemplo, si dos antígenos en pocillos adyacentes son idénticos formarán una banda de precipitado única, fusionada. Esto se conoce como *línea de identidad*. Si, por otra parte, pocillos adyacentes contienen un antígeno con un determinante común, pero en un pocillo el antígeno contiene un segundo determinante reactivo, se formará una línea de *identidad parcial* (Figura 32.13*b*). La extensión de la línea de precipitación (que representa una reacción entre el antisuero y el segundo determinante antigénico) se denomina *espolón*. La inmunodifusión se usa para investigar las relaciones entre proteínas obtenidas de distintas fuentes.

Desgraciadamente, la reacción de precipitación, aunque fácilmente visible, no es muy sensible. Se necesitan cantidades de microgramos de un anticuerpo específico para visualizar un precipitado (Tabla 32.8), mientras que la mayoría de las pruebas diagnósticas más útiles requieren sensibilidad al nivel de nanogramos. En consecuencia, las pruebas basadas en reacciones de precipitación se usan normalmente sólo en laboratorios de investigación o de referencia.

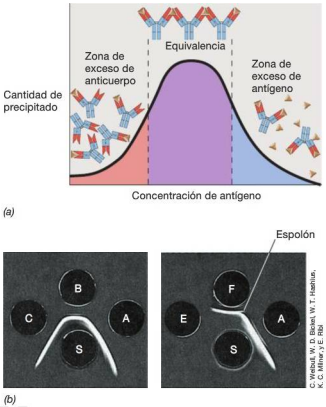


Figura 32.13 Reacciones de precipitación entre antígenos y anticuerpos solubles. La gráfica *(a)* muestra la extensión de la precipitación en función de las concentraciones de antígeno y anticuerpo. *(b)* Precipitación en un gel de agar, un proceso llamado inmunodifusión. Los pocillos marcados con S contienen anticuerpos para células de *Proteus mirabilis*. Los pocillos marcados A, B y C contienen extracto soluble de *P. mirabilis*. Entre estos tres pocillos de la izquierda se observa una línea de identidad. En la derecha, el antígeno E no reacciona y el antígeno A muestra identidad parcial con el F (véase el espolón).

32.7 Minirrevisión

La unión antígeno-anticuerpo es la base de varias pruebas serológicas. La especificidad y la sensibilidad definen la utilidad de un ensayo individual. Las reacciones de precipitación y neutralización producen resultados visibles consecuencia de la interacción antígeno-anticuerpo.

- En las reacciones serológicas, una alta especificidad previene las reacciones falsamente positivas. La alta sensibilidad previene las reacciones falsamente negativas. Explicarlo.

- Explique los principios de la reacción de neutralización.
- ¿Cuáles son los requerimientos mínimos de antígeno y anticuerpo para una reacción de precipitación?

32.8 Aglutinación

La **aglutinación** es la agregación visible de un antígeno particulado cuando se mezcla con anticuerpos específicos. Las pruebas de aglutinación son unas 100 veces más sensibles que las de precipitación (Tabla 32.8) y son muy usadas en los laboratorios clínicos y de diagnosis; son sencillas de realizar, muy específicas, baratas, rápidas y razonablemente sensibles. Las pruebas estandarizadas de aglutinación se usan para la identificación de los antígenos de grupos sanguíneos (glóbulos rojos de la sangre) así como de muchos patógenos y productos de patógenos.

Aglutinación directa

La *aglutinación directa* ocurre cuando anticuerpos solubles causan agregados debidos a la interacción con un antígeno que es parte integrante de la superficie de una célula o de otra partícula insoluble. Los procedimientos de aglutinación directa se usan para la clasificación de antígenos encontrados en la superficie de los glóbulos rojos (eritrocitos). La aglutinación de glóbulos rojos se llama *hemaglutinación* y es la base del tipado de la sangre humana.

Los glóbulos rojos exhiben una diversidad de antígenos de la superficie celular, y los individuos varían considerablemente respecto de los antígenos presentes en sus glóbulos rojos. Los principales antígenos superficiales de los glóbulos rojos humanos se llaman *A, B* y *D*. D también se conoce como *Rh*. Los antígenos A y B y sus anticuerpos son la base para el tipado ABO. Los glóbulos rojos portadores de antígenos forman agregados visibles cuando se mezclan con sus antisueros específicos (**Figura 32.14**). Los antisueros se obtienen de donantes humanos que están inmunizados con los antígenos A o B por medios naturales o artificiales.

Para los tipos sanguíneos A, B y O, los individuos expresan de forma codominante los alelos A y B para dar lugar a los siguientes fenotipos de antígenos: A, B, AB (un alelo expresa el antígeno A y otro el B) y O (ausencia de los alelos A y B). Además, los individuos fabrican anticuerpos para la mayoría de los antígenos de grupos sanguíneos que no poseen. Los individuos del tipo A hacen anticuerpos frente al antígeno del grupo B, mientras los del tipo B hacen anticuerpos frente al antígeno del grupo A. Los individuos del tipo AB no hacen ninguno de los dos anticuerpos, pero los del tipo O fabrican anticuerpos frente a ambos antígenos A y B (Figura 32.14). Estos anticuerpos frente a los antígenos A y B son anticuerpos naturales; aparentemente se producen en respuesta a antígenos relacionados, ubicuos, presentes en bacterias entéricas, no estando relacionados con la exposición a glóbulos rojos de otros individuos.

(a)

Grupo sanguíneo	Porcentaje en la población de Estados Unidos	Suero	
		Anti A	Anti B
Tipo O	46	No aglutina	No aglutina
Tipo A	39	Aglutina	No aglutina
Tipo B	11	No aglutina	Aglutina
Tipo AB	4	Aglutina	Aglutina

(b)

Figura 32.14 Aglutinación directa de glóbulos rojos humanos para el tipado ABO. *(a)* La reacción de la izquierda muestra no aglutinación. La reacción del centro muestra el patrón difuso de aglutinación que indica una reacción positiva con el grupo sanguíneo B. La reacción de la derecha muestra el patrón de aglutinación fuerte, con aglutinados grandes, agregados, típico del grupo sanguíneo A. *(b)* Tabla de los resultados de tipado sanguíneo predecibles en la población de los Estados Unidos.

El tipado de sangre usando antisueros anti A, B y D se hace antes de la transfusión de sangre para prevenir la destrucción de los glóbulos rojos que ocurriría si los anticuerpos del receptor de la transfusión reaccionasen con los glóbulos rojos de la sangre transfundida, o viceversa. Los glóbulos rojos cubiertos de anticuerpos sufren hemolisis (lisis de hematíes), probablemente a través de la activación del complemento (Sección 29.11), causando una anemia grave.

Aglutinación pasiva

La *aglutinación pasiva* es la aglutinación de antígenos o anticuerpos solubles que han sido adsorbidos o unidos químicamente a células o partículas insolubles como perlas de látex partículas de carbón activo. Entonces, el antígeno o el anticuerpo insolubilizado pueden detectarse por reacciones de aglutinación. La célula o la partícula sirven de portador inerte. Las reacciones de aglutinación pasiva pueden ser hasta cinco veces más sensibles que las pruebas de aglutinación directa (Tabla 32.8), incrementando significativamente la sensibilidad.

La aglutinación de perlas de látex recubiertas de antígeno o de anticuerpo por el anticuerpo o antígeno complementario de un enfermo es un método rápido de diagnóstico. Pequeñas (0,8 μm) perlas de látex cubiertas con un antígeno específico se mezclan con el suero de un enfermo sobre un portaobjetos de microscopio y se incuba durante un corto período. Si los anticuerpos del enfermo se unen al antígeno en la superficie de las perlas, la suspensión de látex, de un blanco lechoso, formará

agregados visibles, lo que indica una reacción positiva de aglutinación. La aglutinación con látex se usa también para detectar antígenos de la superficie de bacterias, mezclando una pequeña cantidad de una colonia bacteriana con perlas de látex recubiertas de anticuerpo. Por ejemplo, una suspensión comercial de perlas de látex recubiertas con anticuerpos para la proteína A y el factor de aglutinación, dos moléculas que se encuentran exclusivamente en la superficie de las células de *Staphylococcus aureus*, es específica para la identificación de aislados clínicos de *S. aureus*. A diferencia de las pruebas clásicas para *S. aureus*, dependientes del crecimiento, el ensayo de perlas de látex se hace en sólo 30 segundos (**Figura 32.15**) y puede realizarse directamente sobre una muestra clínica, tal como una muestra de infección purulenta que se sospecha causada por *S. aureus*. También se han desarrollado ensayos de aglutinación de perlas de látex para identificar otros patógenos comunes, como *Streptococcus pyogenes, Neisseria gonorrhoeae, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, Escherichia coli* O157:H7 y los hongos *Cryptococcus neoformans* y *Candida albicans*.

Las pruebas de aglutinación de látex también se usan para detectar anticuerpos séricos dirigidos frente a la propia Ig, el DNA y otras macromoléculas del cuerpo. Estos anticuerpos autorreactivos se asocian con varias enfermedades autoinmunes y su detección es un hallazgo diagnóstico importante cuando se une a otra información clínica (Sección 31.7).

Los ensayos de aglutinación pasiva no requieren un equipo costoso ni un adiestramiento especial y pueden ser muy específicos y sensibles. Además, su relación coste-eficacia los hace apropiados para programas de muestreo en gran escala. Por tanto, estas pruebas son muy usadas en aplicaciones clínicas y de investigación.

Figura 32.15 Prueba de aglutinación de perlas de látex para *Staphylococcus aureus*. El panel 1 muestra un control negativo. Notar el color uniformemente rosado de las perlas de látex suspendidas recubiertas con anticuerpos para la proteína A y el factor de agregación, dos antígenos encontrados exclusivamente en la superficie de las células de *S. aureus*. El panel 2 muestra la misma suspensión después de que con un asa se tomó material de una colonia bacteriana y se mezcló con la suspensión. Los grumos de color rojo brillante indican una reacción de aglutinación positiva y revelan que la colonia es de *S. aureus*.

32.8 Minirrevisión

Se usan pruebas de aglutinación directa para la determinación de los grupos sanguíneos. Hay pruebas de aglutinación pasiva disponibles para la identificación de una diversidad de patógenos y de productos relacionados con patógenos. Las pruebas de aglutinación son rápidas, relativamente sensibles, muy específicas, de fácil realización y baratas.

- Distinga entre aglutinación directa y pasiva. ¿Qué pruebas son más sensibles?
- ¿Qué ventajas tienen las pruebas de aglutinación sobre otros inmunoensayos? ¿Qué inconvenientes?

32.9 Anticuerpos fluorescentes

Los anticuerpos pueden modificarse químicamente con colorantes fluorescentes. Estos anticuerpos modificados pueden usarse entonces para detectar antígenos en células intactas. Los anticuerpos fluorescentes son muy usados en aplicaciones diagnósticas y de investigación.

Métodos fluorescentes

Los anticuerpos pueden ser modificados covalentemente por colorantes fluorescentes como la rodamina B, que fluorece en rojo, o el isotiocianato de fluoresceína, que fluorece en verde amarillento. El colorante unido no altera la especificidad del anticuerpo pero hace posible detectarlo mediante un microscopio de fluorescencia, una vez que se ha unido a antígenos en la superficie de una célula o un tejido (**Figura 32.16**). Los anticuerpos fluorescentes unidos a células emiten un brillante color fluorescente cuando se excitan con luz de una determinada longitud de onda. La luz emitida es roja anaranjada o verde amarillenta dependiendo del colorante usado. Los an-

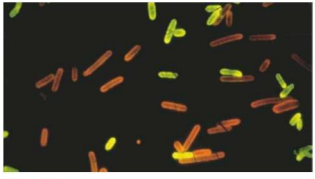


Figura 32.16 Reacciones de anticuerpos fluorescentes. Se tiñeron células de *Clostridium septicum* con anticuerpos conjugados con isotiocianato de fluoresceína, que fluorescen en verde amarillento, y se tiñeron células de *Clostridium chauvoei* con anticuerpos conjugados con rodamina B, que fluorescen en rojo anaranjado.

ticuerpos fluorescentes se usan en el diagnóstico microbiológico porque permiten la identificación de un microorganismo directamente en una muestra del enfermo (*in situ*), evitando la necesidad del aislamiento y cultivo del microorganismo (*véase* más adelante). La técnica de anticuerpos fluorescentes es también muy útil en ecología microbiana como un método para observar e identificar células microbianas sin aislamiento ni cultivo previos (Figura 22.8).

Se utilizan distintos métodos, directo e indirecto, de tinción con anticuerpos fluorescentes. En el *método directo*, el anticuerpo dirigido contra el antígeno de superficie está el mismo unido covalentemente al colorante fluorescente. En el *método indirecto*, la presencia de un anticuerpo no fluorescente en la superficie de la célula se detecta usando un anticuerpo fluorescente dirigido contra el anticuerpo no fluorescente (**Figura 32.17**).

Aplicaciones

En una prueba típica que use anticuerpos fluorescentes, se hace reaccionar una muestra que contiene el patógeno sospechoso con un anticuerpo específico fluorescente, y se observa con el microscopio de fluorescencia. Si el patógeno contiene antígenos de superficie que reaccionan con el anticuerpo, las células del patógeno fluorescen (**Figura 32.18**).

Los anticuerpos fluorescentes pueden aplicarse directamente sobre tejidos infectados del hospedador, permitiendo el diagnóstico mucho antes de que las técnicas de aislamiento primario detecten el patógeno sospechado. Por ejemplo, para el diagnóstico de la legionelosis, una forma de neumonía infecciosa, puede hacerse una identificación positiva tiñendo una biopsia de tejido pulmonar directamente con anticuerpos fluorescentes específicos para antígenos de la pared celular de *Legionella pneumophila* (Figura 32.18*a*), que es el agente causal de la enfermedad. Del mismo modo, puede hacerse una prueba directa de anticuerpos fluorescentes frente a la cápsula de *Bacillus anthracis* para confirmar un diagnóstico de ántrax (Figura 28.14*b*). Las pruebas directas de anticuerpos fluorescentes también se usan para ayudar al diagnóstico de infecciones virales (Figura 32.18*b*). Los patógenos respiratorios comunes gripe A y B, parainfluenza, virus respiratorio sincitial (VRS) y adenovirus pueden identificarse en muestras de tracto respiratorio por métodos directos de anticuerpos fluorescentes. Los métodos de anticuerpos fluorescentes también pueden utilizarse para identificar virus que crecen en cultivos celulares.

Los ensayos de anticuerpos fluorescentes también se usan para ayudar al diagnóstico de enfermedades no infecciosas. Anticuerpos fluorescentes que interaccionan con un determinado antígeno pueden utilizarse para identificar tipos de células que expresan ese antígeno. Por ejemplo, anticuerpo fluorescentes dirigidos frente a antígenos específicos de tumor, presentes en células malignas, pueden utilizarse para identificar estas células malignas y controlar la evolución de la enfermedad y de su terapia (**Figura 32.19**).

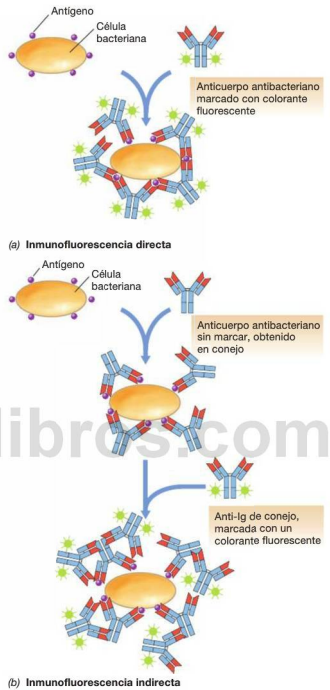


Figura 32.17 Métodos de anticuerpos fluorescentes para la detección de antígenos de la superficie microbiana.

Los anticuerpos fluorescentes pueden usarse para separar mezclas de células en poblaciones relativamente puras o para definir los números de tipos individuales de células en mezclas complejas como la sangre. Por ejemplo, anticuerpos monoclonales marcados con fluorescencia, dirigidos frente a los antígenos CD4 y CD8 de la superficie de los linfocitos T, se usan rutinariamente para

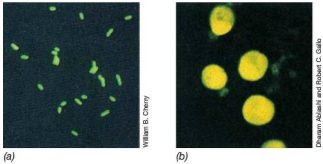


Figura 32.18 Anticuerpos fluorescentes en microbiología clínica. *(a)* Tinción de inmunofluorescencia de células de *Legionella pneumophila*, la causa de la legionelosis. La muestra se tomó de una biopsia de pulmón. Los microorganismos individuales tienen 2-5 μg de longitud. *(b)* Detección por Inmunofluorescencia de células infectadas con virus. Se incubaron células de bazo infectadas por el virus linfotrópico humano B (HBLV) con suero que contenía anticuerpos para HBLV. Entonces, las células se trataron con isotiocianato de fluoresceína conjugado con anticuerpos anti-IgG humana. Las células infectadas con HBLV fluorescen con amarillo brillante. Las células sin teñir no reaccionaron con el suero. Las células individuales tienen un diámetro de alrededor de 10 μm.

Figura 32.20 Linfocitos T teñidos con anticuerpos monoclonales marcados con fluorescencia, específicos para marcadores de superficie. Las células verde amarillentas son células T_C (CD8); las células rojo anaranjadas son células T_H (CD4). Las células individuales tienen aproximadamente 10-12 μm de diámetro. Reproducido con permiso de *Science* 239: cubierta (Febrero 12, 1988), © AAAS.

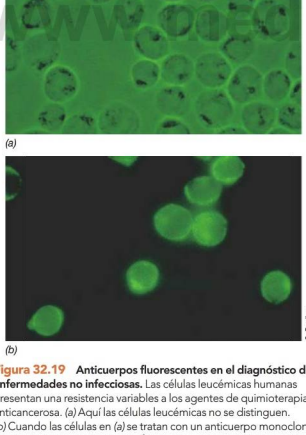


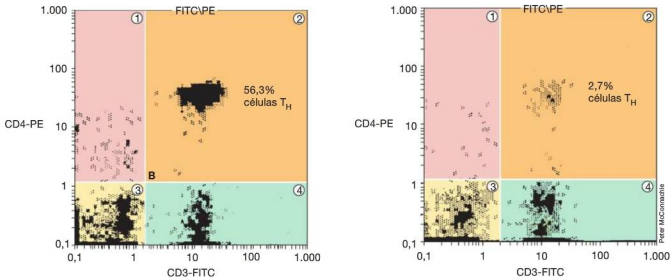
Figura 32.19 Anticuerpos fluorescentes en el diagnóstico de enfermedades no infecciosas. Las células leucémicas humanas presentan una resistencia variables a los agentes de quimioterapia anticancerosa. *(a)* Aquí las células leucémicas no se distinguen. *(b)* Cuando las células en *(a)* se tratan con un anticuerpo monoclonal fluorescente que se une específicamente a una proteína presente solamente en la superficie de las células resistentes al fármaco, fluorescen, mientras que las sensibles al fármaco no. Las células individuales tienen un tamaño aproximado de 10-12 μm de diámetro.

identificar y enumerar estas células en la sangre (**Figura 32.20**). Este ensayo es extremadamente importante para enfermos con VIH-SIDA. El número de células T CD4 y la proporción CD4/CD8 cambian durante la progresión del SIDA y son un indicador diagnóstico de la progresión de la enfermedad. Por tanto, definiendo los números de CD4, el médico puede seguir el proceso de la enfermedad y controlar la terapia (Sección 34.15).

Las células marcadas con anticuerpos fluorescentes pueden ser contadas y separadas mediante un instrumento llamado citómetro de flujo o *separador de células activadas por fluorescencia* (*FACS*, del inglés *fluorescence-activated cell sorter*). El FACS usa un haz láser para activar los anticuerpos fluorescentes unidos a células, induciendo una carga en las células marcadas. Entonces se aplica un campo eléctrico a la mezcla de células. Las células fluorescentes y no fluorescentes se desvían hacia los polos opuestos del campo eléctrico, donde cada población se cuenta y se deposita en un tubo. El uso de varios anticuerpos, cada uno marcado con un colorante fluorescente diferente, permite la identificación simultánea de varios marcadores celulares. Una aplicación típica, en la **Figura 32.21**, compara las proteínas CD3 y CD4 de la superficie de células T en una población sana y una afectada de SIDA.

El análisis con FACS también es útil para aplicaciones de investigación. Por ejemplo, los inmunólogos usan rutinariamente el FACS para separar mezclas complejas de células inmunitarias. También, para estudiar las propiedades de poblaciones muy enriquecidas en un tipo celular.

Bajo condiciones apropiadas, los anticuerpos fluorescentes suministran con rapidez información muy específ-



(a) **Células de un individuo sano** *(b)* **Células de un enfermo con SIDA**

Figura 32.21 Enumeración de células CD3 y CD4. Las células de sangre periférica de un ser humano sano *(a)* y enfermo del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) *(b)* se estudiaron usando un citómetro de flujo. Cada punto representa una única célula. Las células se marcaron simultáneamente con un anticuerpo monoclonal para CD4 conjugado con ficoeritrina (PE) y con un anticuerpo monoclonal para CD3 conjugado con isotiocianato de fluoresceína (FITC). CD3 se encuentra en todas las células T. CD4 se encuentra sólo en las células T cooperadoras (T_H). El cuadrante 3 muestra las células que no se tiñeron con ningún anticuerpo. El cuadrante 1 muestra las células teñidas con anti-CD4 sólo. El cuadrante 4 muestra las células teñidas sólo con anti-CD3. El cuadrante 2 muestra las células teñidas con ambos anticuerpos. Para el individuo sano en *(a)*, el 56.3% de las células T fueron células T_H, como muestra el denso patrón de tinción en el cuadrante 2. Para el enfermo con SIDA *(b)*, solamente el 2.7% del total de células T fueron células T_H, como se indica por el patrón de tinción muy débil en el cuadrante 2. Datos originales de Peter McConnachie, usados con permiso.

www.medilibros.com

fica sobre una diversidad de condiciones clínicas. Sin embargo, los anticuerpos para antígenos de superficie pueden dar reacciones cruzadas entre algunas especies bacterianas, algunas de las cuales pueden ser componentes normales de la microbiota. Esto es un inconveniente importante, por ejemplo, entre las enterobacterias, cuyos antígenos lipopolisacarídicos de la pared celular son muy parecidos. Por tanto, el microbiólogo clínico debe realizar controles usando sueros inespecíficos y confirmar los resultados positivos de la inmunofluorescencia con otras pruebas inmunológicas o microbiológicas.

32.9 Minirrevisión

Los anticuerpos fluorescentes se usan para la identificación rápida y precisa de patógenos y otras sustancias antigénicas en muestras de tejidos, sangre y otras mezclas complejas. Los métodos basados en anticuerpos fluorescentes se usan para la identificación, enumeración cuantitativa y separación de una diversidad de tipos de células procariotas y eucariotas.

- Explique y compare los ensayos de fluorescencia directa e indirecta con anticuerpos.
- ¿Cuáles son los anticuerpos fluorescentes usados para identificar células específicas en mezclas complejas como la sangre?

32.10 Ensayo de inmunoadsorbente unido a enzima y radioinmunoensayo

El **ensayo de inmunoadsorbente unido a enzima (ELISA**, del inglés *enzyme-linked inmunosorbent assay*) y el **radioinmunoensayo (RIA**, del inglés *radioinmunoassay*) son ensayos inmunológicos muy sensibles y, por ello, se usan mucho en aplicaciones clínicas y de investigación. El ELISA y el RIA emplean, respectivamente, enzimas y radioisótopos unidos covalentemente para marcar moléculas de anticuerpos, permitiendo la detección de cantidades muy pequeñas de complejos antígeno-anticuerpo (Tabla 32.8).

ELISA

En el ELISA, un enzima se une covalentemente a una molécula de anticuerpo, creando una herramienta inmunológica con alta especificidad y sensibilidad. Las propiedades catalíticas de la enzima y la especificidad del anticuerpo permanecen inalteradas. Las enzimas típicamente usadas son la peroxidasa, fosfatasa alcalina y β-galactosidasa, todas las cuales catalizan reacciones que producen compuestos coloreados, que pueden detectarse en muy pequeñas cantidades.

Se usan dos metodologías ELISA diferentes, una para detectar antígeno (ELISA directa) y otra para detectar

anticuerpo (ELISA indirecta). Para detectar antígenos tales como partículas virales en una muestra de sangre o heces se usa el método de *ELISA directo*. La muestra se añade a los pocillos de una placa de microtitulación previamente recubiertos con anticuerpos específicos para el antígeno que se va a detectar. Si están presentes en la muestra, las partículas virales se unirán a los anticuerpos. Después de eliminar por lavado si el material que no se ha unido, se añade un segundo anticuerpo con una enzima conjugada. El segundo anticuerpo también es específico para el antígeno, y se une a otros determinantes antigénicos expuestos. Después de un lavado, se determina la actividad enzimática del material unido a cada pocillo de microtitulación, añadiendo un sustrato para la enzima. La enzima cataliza la conversión del sustrato en un producto coloreado, que se detecta en un espectrofotómetro. El color producido es proporcional a la cantidad de antígeno presente (**Figura 32.22**).

Para detectar anticuerpos en el suero humano, se emplea un ELISA indirecto. Esta prueba es muy usada para detectar anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en fluidos corporales humanos. Esta prueba ilustra las características principales de todos los ELISA indirectos y se explicará más adelante (**Figura 32.23**).

Hay procedimientos rápidos de ELISA modificado que usan reactivos adsorbidos sobre un soporte material fijado, como tiras de papel o membranas de plástico o nitrocelulosa o bastoncillos de plástico. En estas pruebas ocurre un cambio de color en la tira o bastoncillo, en un tiempo muy breve. Estas pruebas rápidas son útiles en el diagnóstico de enfermedades infecciosas como VIH-SIDA (Sección 34.15) o anginas estreptocócicas (infección faríngea con *Streptococcus pyogenes*, Sección 34.2).

Además, hay otras aplicaciones para estas pruebas rápidas, como las pruebas de embarazo y de drogas (**Figura 32.24**). En la mayoría de estas pruebas, un fluido corporal, generalmente orina o sangre, se dispone sobre una matriz con el reactivo fijado. Después de la reacción con fluidos corporales, se lava el soporte y se desarrolla con un segundo reactivo que identifica al antígeno (prueba directa) o al anticuerpo (prueba indirecta, como la del VIH) unido a la matriz. Estas pruebas son especialmente valiosas cuando un pequeño número de muestras deben analizarse en el sitio donde se recoge la sangre o la orina (lejos de un laboratorio clínico) y pueden realizarse por individuos que no poseen una capacidad clínica certificada. Los resultados pueden comunicarse en el sitio, evitando la necesidad de retrasos en el centro de salud o las visitas consecutivas para conocer los resultados de la prueba. Sin embargo, estas pruebas tienen la desventaja de que tienden a ser menos específicas que aquellas otras más elaboradas. Por ello, estas pruebas a menudo deben confirmarse con técnicas estándar de laboratorio.

El ELISA para VIH

El virus que causa el SIDA, o virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Sección 34.15), se trasmite por fluidos corporales, como la sangre. Se necesitan herramientas de muestreo sensibles, específicas, rápidas y con buena relación coste-eficacia para probar rutinariamente muestras de sangre de individuos expuestos al VIH y asegurar que el VIH no se trasmite inadvertidamente durante trasfusiones de sangre o a través de la trasferencia de hemoderivados.

La infección inicial con VIH conduce a la producción de anticuerpos contra varios antígenos del virus, especialmente, frente a antígenos de la envoltura. Estos anticuerpos pueden detectarse por pruebas ELISA para VIH, un ELISA indirecto diseñado para medir anticuerpos para VIH presentes en el suero (Figura 32.23).

Para realizar una prueba ELISA para VIH, primero hay que recubrir los pocillos de las placas de microtitulación con una preparación de partículas de VIH rotas; en cada pocillo se colocan alrededor de 200 ng de partículas de VIH rotas. Entonces se añade una muestra de suero diluído del enfermo y la mezcla se incuba para permitir a los anticuerpos específicos para VIH que se unan a los antígenos de VIH. Para detectar la presencia de los complejos antígeno-anticuerpo, se añade un segundo anticuerpo. Este segundo anticuerpo es una preparación de anti-IgG humana, conjugada con una enzima. Los anticuerpos anti-IgG humana se unen a los anticuerpos IgG específicos para VIH que están, a su vez, unidos a la preparación de antígenos de VIH. A continuación, se añade el sustrato para la enzima conjugada, y se ensaya la actividad enzimática. El color obtenido en el ensayo enzimático es proporcional a la cantidad de anticuerpo anti-IgG humana unido. La unión del segundo anticuerpo es una indicación de que los anticuerpos del suero del enfermo reconocieron los antígenos del VIH y de que el enfermo tiene anticuerpos para el VIH, y por tanto está infectado con el VIH. En paralelo con las muestras de los enfermos, se ensayan sueros control (de los que se sabe que son positivos y negativos para VIH) para establecer la especificidad (control positivo) y medir la extensión de la absorbancia de fondo (*background*) en la medida espectrofotométrica del color desarrollado en el ensayo (control negativo).

La prueba ELISA para VIH es un método rápido, muy sensible y extremadamente específico para detectar la exposición al VIH. Ya que los ELISA son, en general, muy adaptables a muestreos masivos y a la automatización, la prueba ELISA para VIH se utiliza como un método estándar de muestreo en sangre. Sin embargo, bajo ciertas circunstancias esta prueba puede dar resultados erróneos. Por ejemplo, la prueba da ocasionalmente resultados falsamente positivos. Dado que varios factores, no relacionados con exposición al VIH, pueden contribuir a estos resultados, todas las pruebas ELISA positivas para VIH deben confirmarse por una prueba independiente, usualmente la prueba de Western blot (inmunoblot) para VIH (Sección 32.11). Una prueba positiva de Western blot para VIH después de un ELISA para VIH positivo se considera una prueba de infección con VIH.

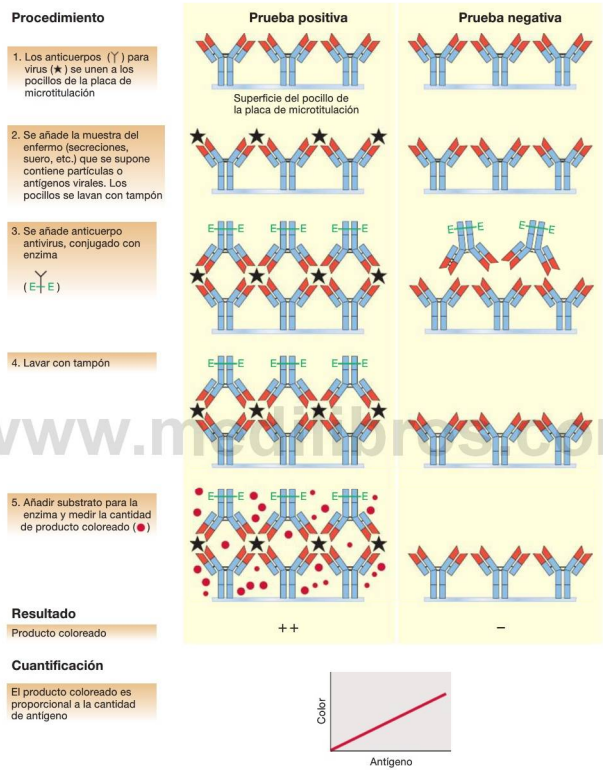
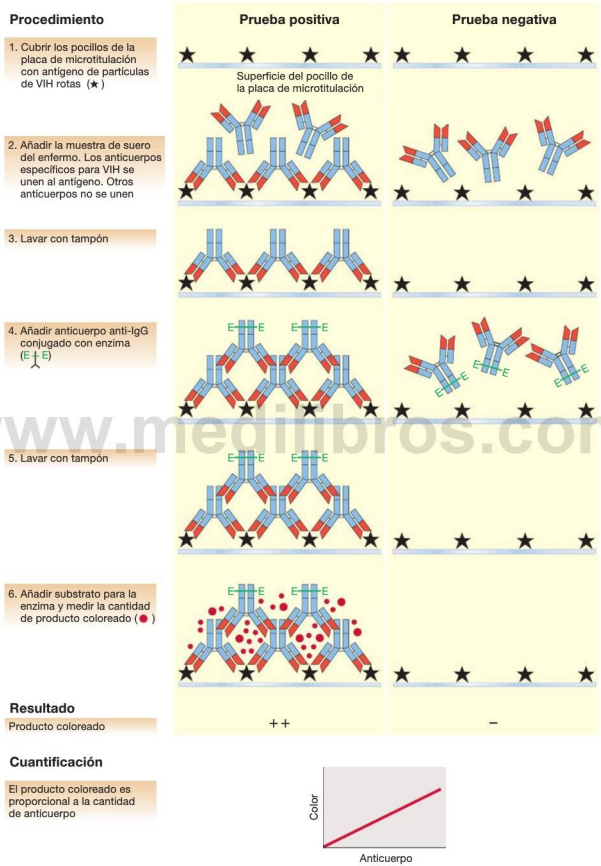


Figura 32.22 **Prueba de ELISA directo.** Una prueba de ELISA directo puede usarse para detectar componentes antigénicos del patógeno o metabolitos antigénicos en sangre, orina y otros fluidos corporales.

La otra limitación de la prueba ELISA para VIH es la posibilidad de obtener resultados falsamente negativos. Después de la exposición a VIH, el sistema inmunitario puede tardar más de 6 semanas en producir un título detectable de anticuerpos. Por tanto, los individuos que se han infectado recientemente con VIH puede que no hayan producido todavía anticuerpos detectables cando se hacen la prueba. Otra razón para resultados



www.medilibros.com

Figura 32.23 **Prueba de ELISA indirecto.** Una prueba de ELISA indirecto se usa en muchos inmunoensayos, como la detección de anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), agente causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

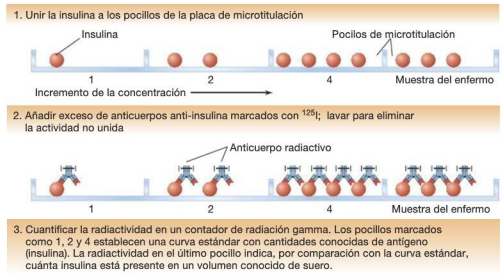


Figura 32.25 **Radioinmunoensayo (RIA).** Uso del RIA para detectar niveles de insulina en suero humano. Después de establecer una curva estándar, puede estimarse la concentración de insulina en una muestra de suero.

32.10 Minirrevisión

El ELISA y el RIA son los inmunoensayos más sensibles. Ambas técnicas implican la unión de un sistema de detección, ya sea un enzima o una molécula radioactiva, a un anticuerpo o a un antígeno, aumentando significativamente la sensibilidad. El ELISA y el RIA se usan en trabajos clínicos y de investigación; las pruebas han sido diseñadas para detectar ya sea anticuerpo (pruebas indirectas) o antígeno (pruebas directas) en muchas aplicaciones.

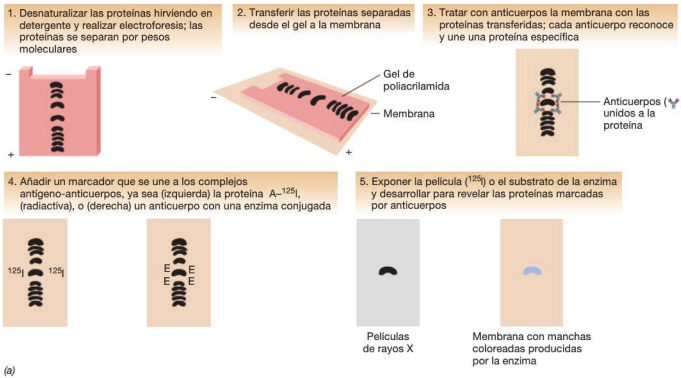
- ¿Por qué las técnicas ELISA y RIA son más sensibles que los inmunoensayos tales como precipitación y aglutinación?
- Compare el ELISA y el RIA respecto de sus usos respectivos, ventajas y desventajas. ¿Son más específicos que otros inmunoensayos? Expliquelo.

32.11 Procedimientos de inmunoblot

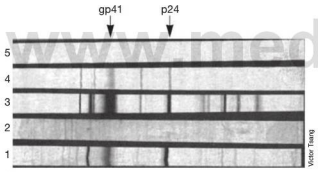
Los anticuerpos pueden usarse también en el método de **inmunoblot** para identificar proteínas específicas individuales asociadas con patógenos específicos, incluso en mezclas complejas como lisados de células o sangre. El método de inmunoblot emplea tres técnicas: (1) la separación de proteínas en geles de poliacrilamida, (2) la transferencia (*blotting*) de las proteínas desde los geles a membranas de nitrocelulosa o nylon, y (3) la identificación de las proteínas por anticuerpos específicos. La transferencia de proteínas y su subsiguiente identificación por anticuerpos específicos se llama también técnica de *Western blot*.

En la primera etapa de un inmunoblot, descrito en la **Figura 32.26**, una mezcla de proteínas se somete a electroforesis en un gel de poliacrilamida. Así se separan las proteínas en varias bandas distintas, cada una de las cuales representa una única proteína de un determinado peso molecular. A continuación se usa un proceso de electrotransferencia para eluir las proteínas del gel y trasferirlas a una membrana. Entonces se añaden a la membrana anticuerpos específicos para los componentes del patógeno. Después de un período de incubación para permitir que los anticuerpos se unan a los antígenos, se añade un marcador radioactivo que se une a los complejos antígeno-anticuerpo. Un marcador radioactivo común es la proteína A de *Staphylococcus* marcada con ^{125}I; la proteína A tiene fuerte afinidad por los anticuerpos y se une a ellos firmemente. Una vez que se ha unido el marcador radioactivo, su posición en la membrana puede detectarse exponiéndola a una película de rayos X; la radiación gamma emitida por el ^{125}I revela en la película solamente las bandas que han formado los complejos antígeno-anticuerpo marcados (Figura 32.26).

Los inmunoblots se hacen a veces usando la tecnología ELISA para la detección de los complejos antígeno-anticuerpo, en vez de radioisótopos. Después del tratamiento de las proteínas transferidas con anticuerpos específicos, la membrana se lava y se trata con un segundo anticuerpo, que se une al primero. Este segundo anticuerpo lleva una enzima unida covalentemente. Los complejos antígeno-anticuerpo originales se visualizan cuando la enzima se expone al sustrato: el producto de la reacción enzimática forma una mancha coloreada sobre la membrana en cualquier lugar donde los anticuerpos secundarios marcados con enzima se hayan unido a los antígenos específicos. Comparando la posición de las bandas coloreadas en la membrana con la posición de las bandas de proteínas de muestras



(a)



(b)

www.medilibros.com

Figura 32.26 El Western blot (inmunoblot) y su uso en el diagnóstico de la infección con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). *(a)* Protocolo para un inmunoblot. *(b)* Inmunoblot para VIH desarrollado. Las moléculas p24 (proteína de la cápsida) y gp41 (glicoproteína de la envoltura) son diagnósticas para VIH. Carril 1, suero control positivo (de enfermos diagnosticados de SIDA); carril 2, suero control negativo (de voluntarios sanos); carril 3, muestra fuertemente positiva de un enfermo; carril 4, muestra débilmente psitiva de un enfermo; carril 5, blanco de reactivos para controlar las uniones inespecíficas.

control se puede identificar positivamente una proteína asociada a un determinado patógeno.

El procedimiento de inmunoblot puede utilizarse para detectar tanto antígenos (evidencia directa de la presencia de un patógeno por detección de antígenos del patógeno en muestras del enfermo) como anticuerpos (evidencia indirecta de la exposición al patógeno por detección de anticuerpos frente a él).

El inmunoblot para VIH

Los inmunoblots no se usan como procedimientos de muestreo para la exposición a VIH porque son generalmente menos sensibles pero más laboriosos, lentos y costosos que el ELISA para VIH. Sin embargo, los inmunoblots son ampliamente usados para confirmar la exposición a VIH. Esto es porque el ELISA para VIH, aunque muy sensible, ocasionalmente da resultados falsamente positivos; la alta especificidad del inmunoblot se usa para confirmar los resultados positivos del ELISA.

Como el ELISA para VIH, el inmunoblot para VIH se ha diseñado para detectar la presencia de anticuerpos para VIH en una muestra de suero. Para realizar el inmunoblot, una preparación purificada de VIH se trata con el detergente dodecil sulfato sódico para solubilizar las proteínas e inactivar el virus. Las proteínas del VIH se separan por electroforesis en gel de poliacrilamida y se transfieren del gel a membranas (Figura 32.26). Esta técnica detecta al menos siete proteínas principales del VIH,

y dos de ellas, denominadas p24 y gp41, se usan como proteínas diagnósticas específicas para la identificación de la exposición al VIH. La proteína p24 es una proteína de la cápsida del VIH y la glicoproteína gp41 es una proteína de la envoltura. Hay tiras de membranas con las proteínas separadas disponibles comercialmente para su uso en laboratorios clínicos.

Las tiras de membrana se incuban con la muestra de suero. Si la muestra es positiva para VIH, habrá anticuerpos del enfermo que se unirán a las proteínas del VIH en la membrana (Figura 32.26). Para detectar si los anticuerpos de la muestra de suero se han unido a los antígenos del VIH, se añade a las tiras un anticuerpo detector, anti-IgG humana conjugada al enzima peroxidasa. Si el anticuerpo detector se une, la actividad de la enzima conjugada, después de la adición del sustrato, formará una banda marrón sobre la tira en el sitio donde se ha unido el anticuerpo. El paciente es VIH positivo si la posición de las bandas obtenidas por exposición al suero del enfermo y las obtenidas por exposición a un suero control positivo son idénticas; también se analiza en paralelo un suero control negativo que no debe mostrar bandas (Figura 32.26).

Aunque la intensidad de las bandas obtenidas en el inmunoblot de VIH varia algunas veces de una muestra a otra (Figura 32.26*b*), la interpretación de un inmunoblot es generalmente inequívoca, y por tanto la prueba es válida para confirmar los resultados de un ELISA positivo para VIH y para eliminar falsos positivos. La técnica de inmunoblot se usa también para confirmar la especificidad de las pruebas de anticuerpo para la enfermedad de Lyme.

32.11 Minirrevisión

Los procedimientos de inmunoblot detectan anticuerpos para antígenos específicos o detectan a los propios antígenos. Los antígenos se separan por electroforesis, se transfieren a una membrana y se exponen a anticuerpos. Los complejos inmunes se visualizan con anticuerpos secundarios marcados con enzimas o radioactivos. Los inmunoblot son extremadamente específicos, pero el procedimiento es técnicamente complicado, caro y lento.

- ¿Qué ventaja tiene el inmunoblot sobre inmunoensayos como ELISA y RIA?
- ¿Por qué el inmunoblot no se usa para el muestreo general de la exposición a VIH?.

III MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO BASADOS EN ÁCIDOS NUCLEICOS

En microbiología clínica son muy utilizados métodos extremadamente sensibles, basados en el análisis de ácidos nucleicos, para detectar patógenos. Estos métodos no dependen del aislamiento ni del crecimiento del patógeno, ni de la detección de la respuesta inmunitaria frente al patógeno.

32.12 Sondas de ácidos nucleicos y PCR

Los métodos moleculares usan características genotípicas más que fenotípicas para identificar patógenos específicos. El éxito de los procedimientos diagnósticos genéticos o basados en el DNA se basa en varios principios: (1) Los ácidos nucleicos se aíslan fácilmente de los tejidos infectados; (2) los ácidos nucleicos se detectan y miden fácilmente en cantidades muy pequeñas; (3) la secuencia de ácidos nucleicos en el genoma de un patógeno dado es única y, por ello, el análisis de ácidos nucleicos puede usarse para una identificación inequívoca; y (4) las secuencias de ácidos nucleicos pueden amplificarse para aumentar la cantidad de material disponible para su análisis.

Las sondas de ácidos nucleicos en el diagnóstico

Una de las herramientas analíticas más poderosas de que disponen los microbiólogos clínicos es la hibridación de ácidos nucleicos (sección 12.2). En lugar de detectar el microorganismo entero o sus productos, la hibridación detecta la presencia de secuencias específicas de DNA asociadas con un microorganismo determinado. Para identificar un microorganismo mediante el análisis de DNA, el microbiólogo clínico debe disponer de una **sonda de ácido nucleico** específica para ese microorganismo. Típicamente, las sondas de ácidos nucleicos consisten en una única cadena de DNA con una secuencia que se encuentra únicamente en un gen de interés. Un oligonucleótido sonda puede tener una longitud menor de 100 bases o alcanzar varias kilobases. Si un microorganismo en una muestra clínica contiene secuencias de DNA o RNA complementarias a la sonda, la sonda hibridará (después de una preparación apropiada de la muestra para formar DNA monocatenario del microorganismo), formando una molécula bicatenaria (**Figura 32.27**). Para detectar una reacción, la sonda se marca con una molécula indicadora (*reporter*), un radioisótopo, una enzima o un compuesto fluorescente que puede detectarse después de la hibridación. Dependiendo del *reporter* (los radioisótopos son los más sensibles), la identificación puede hacerse con cantidades tan pequeñas como 0,25 μg de DNA por muestra.

Las sondas de ácidos nucleicos ofrecen varias ventajas sobre los inmunoensayos. Los ácidos nucleicos son mucho más sensibles que las proteínas a altas temperaturas y a pH elevado, y más resistentes a los disolventes orgánicos y otros agentes químicos. Dada la relativa estabilidad química de los ácidos nucleicos diana, la tecnología de sondas de ácidos nucleicos puede usarse para identificar microorganismos aunque ya no sean viables. Además,

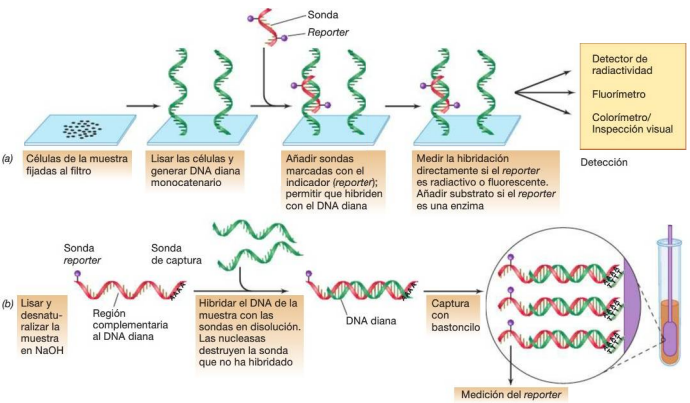


Figura 32.27 **Metodologías de sondas de ácidos nucleicos en el diagnóstico clínico.** *(a)* Ensayo en filtro de membrana. El sistema de detección (indicador o *reporter*) puede ser un radioisótopo, un colorante fluorescente o una enzima. *(b)* Ensayo de bastoncillo. En el ensayo de bastoncillo se usa una sonda bifuncional, *reporter* y de captura. La región de captura contiene poli(dA) que hibrida con el oligonucleótido poli(dT) fijado en el bastoncillo, uniendo el complejo oligonucleótido-diana-*reporter*. El complejo puede detectarse como en *(a)*.

algunas sondas de ácidos nucleicos son más específicas que los anticuerpos y pueden detectar diferencias de un solo nucleótido entre secuencias de DNA.

Sondas en el laboratorio clínico

En la mayoría de los ensayos con sondas, colonias de placas o muestras de tejido infectado se tratan con una base fuerte, usualmente NaOH, para lisar las células y desnaturalizar parcialmente el DNA del patógeno, formando moléculas de DNA monocatenario (Figura 32.37*a*). Esta mezcla se fija entonces en una matriz, o se deja en disolución, y se añade la sonda marcada. La hibridación se lleva a cabo incubando a la temperatura necesaria para formar dúplex estables entre el DNA diana y el DNA de la sonda. La temperatura necesaria en cada ensayo de sondas depende de la longitud y la composición de ácido nucleico de la sonda y del DNA diana.

Después de un lavado para eliminar el exceso de DNA de la sonda que no haya hibridado, se cuantifica la hibridación usando la molécula reporter unida a la sonda. Esto puede requerir una medida de radiactividad, de actividad enzimática o de fluorescencia, dependiendo de con qué se haya marcado la sonda. Se han comercializado sondas de ácidos nucleicos para la identificación de varios patógenos microbianos importantes y se utilizan ampliamente en la detección de *Neisseria gonorrhoeae* y *Chlamydia trachomatis* (Tabla 32.9; Secciones 34.13 y 34.14).

Además de su uso en el diagnóstico clínico, las sondas moleculares se usan ampliamente en las industrias alimentarias y en las agencias reguladoras de alimentos. Los sistemas de detección de sondas pueden usarse para controlar la contaminación de alimentos por patógenos como *Salmonella* y *Staphylococcus*. En los ensayos con sondas en alimentos, se emplea usualmente un período de enriquecimiento para permitir que un número bajo de células en el alimento se multiplique hasta alcanzar un número detectable. Las sondas diseñadas para su uso en la industria del alimento emplean bastoncillos previamente cubiertos con el DNA de la sonda específica para el patógeno, que hibridará con el DNA del patógeno presente en la muestra. En estas aplicaciones se usan a menudo las sondas bifuncionales, que funcionan tanto como sonda *reporter* y como sonda de *captura* (Figura 32.27*b*). Después de la hibridación del reporter al DNA del microorganismo diana, el bastoncillo, que contiene una secuencia complementaria para capturar la sonda (usualmente poli (dT) para capturar poli (dA) en la sonda), se inserta en la solución de hibridación, donde une al DNA hibridado. Entonces se activa el sistema de detección para visualizar y cuantificar el DNA hibridado en el bastoncillo (Figura 32.27*a*).

Los avances en la filogenética bacteriana basados en las secuencias del RNA ribosomial (rRNA) 16S (Sección 14.9) han permitido la construcción de sondas de ácido nucleico específicas de especie e incluso de cepa. El tipado basado en diferencias en las secuencias de rRNA se llama ribotipado (Sección 14.9). Cuando el DNA de un organismo determinado se digiere con endonucleasas de restricción, el ribotipado revela modelos de restricción de DNA únicos en los genes del rRNA. El DNA digerido se separa en un gel de agarosa, y se usa una sonda marcada de rRNA para visualizar los modelos de restricción típicos de los genes que codifican el rRNA. Dentro de una especie e incluso dentro de una cepa, el modelo de restricción está muy conservado y es una huella dactilar molecular del organismo (Figura 14.18). Dado que todos los organismos tienen genes para el rRNA, el ribotipado tiene aplicaciones en una amplia variedad de estudios clínicos y filogenéticos.

Las sondas de ácidos nucleicos, que detectan menos de 1 μg de ácido nucleico por muestra, pueden identificar el DNA extraído de unas 10^6 células bacterianas y unas 10^8 partículas virales. Aunque las sondas moleculares no son tan sensibles como un cultivo directo (donde pueden detectarse 1-10 células viables por muestra), los métodos que usan sondas son útiles en situaciones donde el cultivo de los microorganismos es difícil o incluso imposible. Sin embargo, algunas aplicaciones de la tecnología de DNA rivalizan en sensibilidad con los métodos de cultivo.

La reacción en cadena de la polimerasa en el diagnóstico

En la Sección 12.8 discutimos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) formaba copias de genes diana, y los métodos basados en la PCR son ahora muy utilizados en el diagnóstico microbiológico para identificar patógenos específicos.

Usualmente son suficientes oligonucleótidos muy cortos (típicamente 15-32 nucleótidos de longitud) para actuar como cebadores (*primers*) para la amplificación por PCR de un gen o genes específicos, característicos de un patógeno determinado. Por ejemplo, pueden usarse los cebadores de un gen específico de un patógeno para examinar el DNA derivado de un tejido presuntamente infectado, incluso en ausencia de un patógeno cultivable u observable. La presencia de un segmento de gen adecuadamente amplificado (**Figura 32.28**) confirma la presencia del patógeno. Los métodos de PCR son especialmente útiles para identificar infecciones virales e intracelulares, donde el cultivo de los agentes responsables puede ser muy difícil y lento.

En la **Tabla 32.9** se enumeran varios patógenos para cuya identificación se utilizan métodos diagnósticos de hibridación o PCR en los laboratorios clínicos. Actualmente, muchas pruebas PCR emplean la PCR a tiempo real. Como se discutió en la Sección 12.8, la PCR a tiempo real emplea cebadores fluorescentes que ofrecen resultados casi inmediatos y evitan la necesidad de procedimientos post-PCR como la purificación y electroforesis del ácido nucleico.

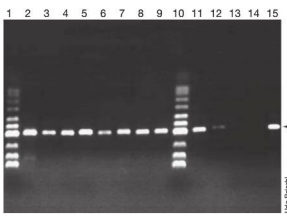


Figura 32.28 Análisis del esputo de un enfermo por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para *Mycobacterium tuberculosis* en el diagnóstico de la tuberculosis. Las muestras de esputo de los enfermos se usaron como fuente de DNA. Se inició la amplificación con un par de cebadores, que a partir del DNA de un cultivo puro de *M. tuberculosis* (carril 15) generó el producto de 439 pares de base indicado en la figura. Los carriles 2-9, 11 y 12 son de esputos positivos para *M. tuberculosis* (el carril 12 es un positivo débil). Los carriles 13 y 14 son de muestras de esputos negativos para *M. tuberculosis*. Los carriles 1 y 10 son marcadores de referencias de peso molecular.

Otra aplicación de la tecnología de PCR, la RT-PCR (PCR con retrotranscriptasa) (Sección 12.8) se usa, por ejemplo, para controlar la progresión de la infección por VIH y se discutirá en la Sección 34.15. La RT-PCR usa el RNA específico del patógeno para producir cDNA directamente de las muestras de los enfermos y se usa para la detección de retrovirus como el VIH (Sección 10.12).

32.12 Minirrevisión

La hibridación de ácidos nucleicos se usa para la identificación de microorganismos. Para diseñar una sonda, debe disponerse de una secuencia de ácido nucleico específica para microorganismos de interés. Quizás el uso más amplio de la tecnología basada en ácidos nucleicos sea la aplicación de los métodos de amplificación génica (PCR). Actualmente se usan diversas metodologías basadas en el DNA en los laboratorios clínicos, de alimentos y de investigación.

- ¿Qué ventajas tiene la hibridación de ácidos nucleicos sobre los métodos de cultivo estándar para la identificación de microorganismos? ¿Qué desventajas?
- ¿Cómo puede obtenerse información sobre un microorganismo con una sonda de ácido nucleico o un ensayo de PCR en ausencia de las pruebas estándar dependientes del crecimiento?

www.medilibros.com

Tabla 32.9 Patógenos identificados con métodos de PCR y ácidos nucleicos

Patógeno	*Enfermedades*
Bacteria	
Campylobacter spp.	Infecciones alimentarias
Chlamydia trachomatis	Síndromes venéreos; tracoma
Enterococcus spp.	Infecciones nosocomiales
Escherichia coli (cepas enteropatogénicas)	Enfermedad gastrointestinal
Haemophilus influenzae	Meningitis infecciosa
Legionella pneumophila	Neumonía
Listeria monocytogenes	Listeriosis
Mycobacterium avium	Tuberculosis
Mycobacterium tuberculosis	Tuberculosis
Mycoplasma hominis	Infección del tracto urinario; enfermedad inflamatoria pélvica
Mycoplasma pneumoniae	Neumonía
Neisseria gonorrhoeae	Gonorrea
Neisseria meningitidis	Meningitis
Rickettsia spp.	Tifus, fiebre hemorrágica, etc.
Salmonella spp.	Enfermedad gastrointestinal
Shigella spp.	Enfermedad gastrointestinal
Staphylococcus aureus	Secreciones purulentas (forúnculos, vesículas, infecciones piógenas de la piel)
Streptococcus pyogenes	Escarlatina, fiebre reumática, faringitis estreptocócica
Streptococcus pneumoniae	Neumonía
Treponema pallidum	Sífilis
Hongos	
Blastomyces dermatitidis	Blastomicosis
Candida spp.	Candidiasis
Coccidioides immitis	Cocidiomicosis
Histoplasma capsulatum	Histoplasmosis
Virus	
Citomegalovirus	Infecciones congénitas virales
Virus de Epstein-Barr	Linfoma de Burkitt; mononucleosis
Virus de la hepatitis A, B, C, D, E	Hepatitis
Virus herpes (tipo I y II)	Herpes labial; herpes genital
Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)
Virus del papiloma humano	Verrugas genitales; cáncer de cérvix
Influenza (virus de la gripe)	Enfermedad respiratoria
Virus del polioma	Enfermedad neurológica
Rotavirus	Enfermedad gastrointestinal
Protistas	
Leishmania donovani	Leismaniosis
Plasmodium spp.	Malaria
Pneumocystis carinii	Neumonía
Trichomonas vaginalis	Tricomoniasis
Tripanosoma spp.	Tripanosomiasis

www.medilibros.com

Glosario de términos

Aglutinación: reacción entre anticuerpos y antígenos en partículas, con el resultado de una agregación visible de las partículas.

Antibiograma: un informe indicando la sensibilidad de microorganismos aislados clínicamente a los antibióticos actualmente en uso.

Anticuerpo fluorescente: modificación covalente de una molécula de anticuerpo con un colorante fluorescente que hace al anticuerpo visible bajo luz de fluorescencia.

Anticuerpo monoclonal: anticuerpo producido un clon individual de hibridoma de células B.

Anticuerpos policlonales: anticuerpos producidos por muchos clones diferentes de células B.

Bacteremia: la presencia de bacterias en sangre.

Cultivo enriquecido: usos de medios de cultivo seleccionados y de condiciones de incubación para aislar microorganismos de muestras naturales.

Ensayo de inmunoadsorbente unido a enzima (ELISA o enzimoinmunoensayo): inmunoensayo que usa anticuerpos marcados con una enzima para detectar antígenos o anticuerpos en fluidos corporales.

Especificidad: la capacidad de un anticuerpo para reconocer un único antígeno.

Inmunoblot (Western blot): electroforesis de proteínas seguida de la trasferencia a una membrana y la detección por adición de anticuerpos específicos.

Medio diferencial: medio de cultivo que permite la identificación de los microorganismos basada en propiedades fenotípicas.

Medio enriquecido: medio que permite el crecimiento de microorganismos metabólicamente exigentes porque está suplementado con factores específicos de crecimiento.

Medio general: medio de cultivo que permite el crecimiento de la mayoría de los microorganismos aerobios y anaerobios facultativos.

Medio selectivo: medio que favorece el crecimiento de ciertos microorganismos mientras retrasa el crecimiento de otros debido a componentes añadidos al medio.

Neutralización: interacción del anticuerpo con el antígeno que reduce o bloquea la actividad biológica del antígeno.

Precipitación: reacción entre anticuerpos y antígenos solubles que tiene como resultado la formación de un complejo visible e insoluble.

Radioinmunoensayo (RIA): ensayo que emplea anticuerpos o antígenos radiactivos para detectar la unión a antígenos o anticuerpos.

Sensibilidad: la menor cantidad de antígeno que se puede detectar.

Septicemia: infección de la sangre.

Serología: estudio de las reacciones *in vitro* entre el antígeno y el anticuerpo.

Sonda de ácido nucleico: un oligonucleótido de secuencia única usado como sonda de hibridación para la identificación de genes específicos.

Título: en un contexto inmunológico, la cantidad de anticuerpo presente en una solución.

www.medilibros.com

Preguntas de repaso

1. Describa el procedimiento estándar para obtener y cultivar una muestra de garganta y una muestra de sangre. ¿Qué precauciones especiales deben tomarse mientras se obtiene el cultivo de sangre (Sección 32.1)?
2. ¿Por qué casi siempre hay bacterias en el cultivo de una muestra de orina? ¿Cuál es el número clínicamente significativo de bacterias en orina? ¿Qué microorganismo es responsable de la mayoría de las infecciones del tracto urinario? ¿Por qué (Sección 32.1)?
3. ¿Por qué es importante procesar las muestras clínicas tan pronto como sea posible? ¿Qué procedimientos y precauciones especiales son necesarios para el aislamiento y cultivo de anaerobios (Sección 32.1)?
4. Diferencie entre medios selectivos y diferenciales. El agar eosina-azul de metileno, ¿es un medio selectivo o diferencial? ¿Cómo y por qué se usa en un laboratorio clínico (Sección 32.2)?
5. Describa la prueba de difusión desde discos para la sensibilidad a antibióticos. ¿Por qué los patógenos potenciales aislados de un enfermo deberían ser investigados por este método (Sección 32.3)?
6. ¿Cómo se contraen la mayoría de las infecciones asociadas al laboratorio? ¿Qué acciones pueden llevarse a cabo para prevenir las infecciones de laboratorio (Sección 32.4)?
7. ¿Por qué se eleva el título de anticuerpos después de una infección? Un título alto de anticuerpos, ¿es indicativo de una infección actual? Explíquelo. ¿Por qué es necesario obtener una muestra de sangre en la infección aguda y otra en la convalecencia para controlar las infecciones (Sección 32.5)?
8. ¿Qué ventajas tienen los anticuerpos monoclonales sobre las preparaciones de anticuerpos policlonales, especialmente respecto de la estandarización de las preparaciones de anticuerpos (Sección 32.6)?
9. Describa una reacción de neutralización haciendo referencia a toxinas microbianas y antisueros (Sección 32.7).
10. Las pruebas de neutralización son muy usadas con fines de diagnóstico clínico. ¿Por qué (Sección 32.8)?

11. ¿Cómo se usan los anticuerpos fluorescentes para el diagnóstico de enfermedades virales? ¿Qué ventajas tienen los anticuerpos fluorescentes sobre los no marcados (Sección 32.9)?

12. El radioinmunoensayo (RIA) y el enzimoinmunoensayo (ELISA) son muy sensibles, comparados con la aglutinación. ¿Por qué es así (Sección 32.10)?

13. ¿Por qué se utiliza el inmunoblot (Western blot) para confirmar las pruebas de muestreo positivas para el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Sección 32.11)?

14. ¿Qué información es esencial para diseñar una sonda de nucleótidos específica para un patógeno? ¿Cómo puede obtenerse esta información? ¿Está disponible esta información sobre todos los patógenos (Sección 32.12)?

Ejercicios prácticos

1. Un hemocultivo es positivo para *Staphylococcus epidermidis*. Explique este hecho. ¿Es probable que el enfermo tenga una bacteremia por *S. epidermidis*? Preparar una lista de posibilidades y preguntas para una discusión con el médico a cargo. ¿Qué información adicional sería necesaria para confirmar o excluir la bacteremia?

2. Teniendo en cuenta las consecuencias a corto y a largo plazo, ¿por qué es una práctica médica habitual tratar una enfermedad infecciosa con antibióticos antes de aislar el patógeno sospechoso? Una vez que el patógeno ha sido aislado e identificado, ¿qué pasos posteriores deberían darse para confirmar la sensibilidad a los antibióticos? ¿Por qué estas medidas rara vez se emplean fuera del ambiente hospitalario?

3. Explique las razones para tomar muestras de suero de un enfermo en la fase aguda de la infección y unas 2 semanas más tarde (Sección 32.5). ¿Qué información se podría esperar del suero de un enfermo en recuperación?

4. ¿Cuáles son las ventajas de los sistemas de identificación rápida como las pruebas de aglutinación y los sistemas de detección con base inmunológica como las pruebas ELISA comparados con los procedimientos diagnósticos dependientes del cultivo? ¿Cuáles son las desventajas potenciales de las pruebas rápidas sin cultivo?

5. ¿Cuál es la ventaja principal del uso de sondas de DNA en el diagnóstico microbiológico? ¿Qué información se necesita para diseñar sondas de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) específicas de secuencias para un microorganismo? ¿Dónde puede encontrarse esta información?

6. Defina los procedimientos que se utilizarían para aislar e identificar un nuevo patógeno. Asegurarse de incluir ensayos dependientes de crecimiento, inmunoensayos y ensayos moleculares. ¿Dónde informaría de sus resultados? ¿Cuál de sus ensayos podría adaptarse para ser utilizado rutinariamente, como una prueba de alto rendimiento para el diagnóstico clínico rápido?

www.medilibros.com

33

Epidemiología

I PRINCIPIOS DE EPIDEMIOLOGÍA 1042

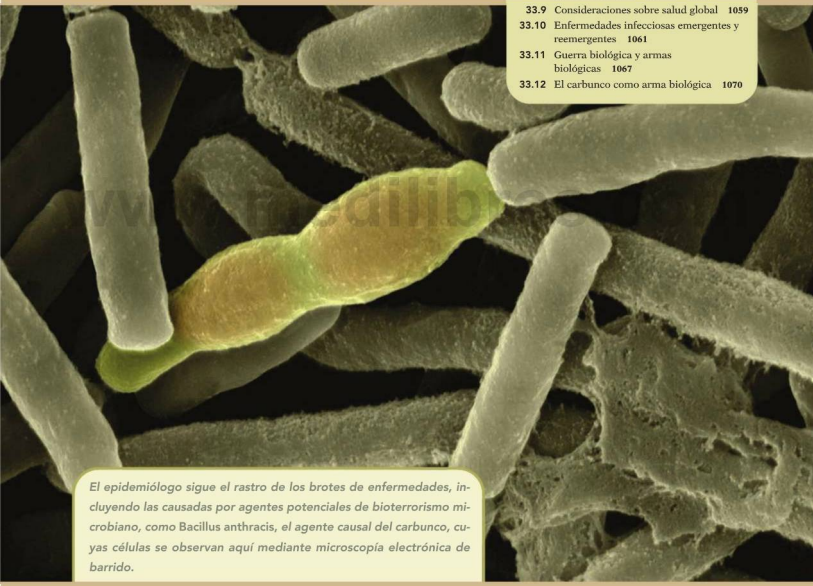
33.1 La ciencia de la epidemiología **1042**
33.2 Vocabulario de la epidemiología **1043**
33.3 Reservorios de enfermedades y epidemias **1045**
33.4 Trasmisión de las enfermedades infecciosas **1048**
33.5 La comunidad de hospedadores **1050**

II EPIDEMIAS ACTUALES 1052

33.6 La pandemia de SIDA **1052**
33.7 Infecciones hospitalarias **1054**

III EPIDEMIOLOGÍA Y SALUD PÚBLICA 1055

33.8 Medidas de salud pública para el control de enfermedades **1055**
33.9 Consideraciones sobre salud global **1059**
33.10 Enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes **1061**
33.11 Guerra biológica y armas biológicas **1067**
33.12 El carbunco como arma biológica **1070**



El epidemiólogo sigue el rastro de los brotes de enfermedades, incluyendo las causadas por agentes potenciales de bioterrorismo microbiano, como Bacillus anthracis, *el agente causal del carbunco, cuyas células se observan aquí mediante microscopía electrónica de barrido.*

I PRINCIPIOS DE EPIDEMIOLOGÍA

Los individuos pueden adquirir patógenos a través de *vectores* infectados (portadores vivos) y de *vehículos* (portadores inanimados) y trasmitir el patógeno a otros miembros de la población. Aquí consideramos cómo los patógenos se diseminan a los individuos a través de las poblaciones. La **epidemiología** es el estudio de la incidencia, distribución y determinantes de salud y enfermedad en una población. En los cuatro capítulos siguientes estudiaremos las enfermedades en sí. Aquí examinamos los principios de la epidemiología y su aplicación al control de las enfermedades infecciosas.

Muchas enfermedades infecciosas son adecuadamente controladas en los países desarrollados. En el Capítulo 1 se compararon las causas actuales de muerte en los Estados Unidos con las de principio del siglo veinte (Figura 1.8). En la mayoría de los países desarrollados, las enfermedades infecciosas causan muchas menos muertes que las no infecciosas. En todo el mundo, sin embargo, las enfermedades infecciosas continúan siendo un serio problema de salud pública, dando cuenta de cerca del 30% de 56 millones de muertes anuales. Incluso en los países desarrollados, emergen nuevas enfermedades infecciosas como la fiebre del Oeste del Nilo, y enfermedades previamente controladas como la tuberculosis están reemergiendo. En los Estados Unidos, las muertes debidas a enfermedades infecciosas están aumentando (**Figura 33.1**). El control eficaz de las enfermedades infecciosas continúa siendo un desafío a nivel mundial que requiere soluciones científicas, médicas, económicas, sociológicas, políticas y educativas.

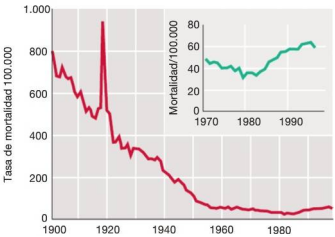


Figura 33.1 Muertes debidas a enfermedades infecciosas en Estados Unidos. Aunque la tasa de mortalidad de las enfermedades infecciosas declinó uniformemente a lo largo del siglo veinte (exceptuando el elevado número de muertes debidas a la pandemia de gripe en 1918-1919), la tasa de mortalidad ha aumentado significativamente desde 1980. Adaptado de Hughes, J.M. 2001. Emerging infectious diseases: a CDC perspective. *Emerg. Infect. Dis.* 17:494-496.

33.1 La ciencia de la epidemiología

Para causar una enfermedad, un patógeno debe crecer y reproducirse en el hospedador. Por esta razón, los epidemiólogos siguen la historia natural de los patógenos. En muchos casos, un patógeno individual no puede crecer fuera del hospedador; si el hospedador muere, el patógeno muere también. Los patógenos que matan al hospedador antes de trasmitirse a otro hospedador terminarán por extinguirse. Por tanto, la mayoría de los patógenos dependientes del hospedador deben adaptarse a coexistir con el hospedador.

Un patógeno bien adaptado vive en equilibrio con el hospedador, tomando lo que necesita para su existencia y causando sólo un mínimo de daño. Estos patógenos pueden causar **infecciones crónicas** (infecciones de larga duración) en el hospedador. Cuando existe equilibrio entre el hospedador y el patógeno, ambos sobreviven. Por otra parte, el hospedador puede resultar dañado cuando su resistencia es baja, por factores como una dieta insuficiente, edad avanzada y otros agentes estresantes (Sección 28.13). Además, algunas veces emergen nuevos patógenos naturales para los cuales el hospedador individual, y algunas veces la especie entera, no ha desarrollado resistencia. Estos patógenos emergentes a menudo causan **infecciones agudas**, caracterizadas por un comienzo rápido y llamativo. En estos casos, los patógenos pueden actuar como fuerzas selectivas en la evolución del hospedador, igual que el hospedador, al desarrollar resistencia, puede ser una fuerza selectiva en la evolución de los patógenos.

En los casos en los que el patógeno no depende del hospedador para sobrevivir, el patógeno puede causar una enfermedad aguda devastadora. Por ejemplo, los microorganismos del género *Clostridium*, habitantes ubicuos del suelo, son ocasionalmente patógenos humanos accidentales, que causan enfermedades que ponen en peligro la vida, como el tétanos, botulismo, gangrena y ciertas enfermedades gastrointestinales.

Los epidemiólogos siguen la diseminación de una enfermedad para identificar su origen y forma de trasmisión. Los datos epidemiológicos se obtienen recogiendo información sobre la enfermedad en una población. Con el fin de definir los factores comunes para una enfermedad, se recogen datos de las redes de vigilancia, registros clínicos y entrevistas con los enfermos. Esto contrasta con el diagnóstico y tratamiento individuales en el laboratorio o la clínica. El conocimiento, tanto de la dinámica de poblaciones como de los problemas clínicos asociados a una enfermedad determinada, es importante si se pretende que las medidas de salud pública para el control de enfermedades sean eficaces.

33.1 Minirrevisión

La epidemiología es el estudio de la incidencia, distribución y determinantes de la salud y la enfermedad en una población. Para comprender las enfermedades infecciosas, deben estudiarse sus efectos tanto a nivel individual como poblacional. Las interacciones de los patógenos con los hospedadores son dinámicas, afectando a la evolución a largo plazo y a la supervivencia de todas las especies implicadas.

- ¿En qué se diferencia un epidemiólogo de un microbiólogo?
- ¿Por qué adquieren los epidemiólogos datos basados en las poblaciones para las enfermedades infecciosas?

33.2 Vocabulario de la epidemiología

Hay una serie de términos que tienen un significado especial para el epidemiólogo. Una enfermedad es una **epidemia** cuando ocurre en un número inusualmente alto de individuos de una población simultáneamente; una **pandemia** es una epidemia que se disemina ampliamente, usualmente por todo el mundo (**Figura 33.2**). Por el contrario, una **enfermedad endémica** es la que está constantemente presente en una población, aunque su incidencia suele ser baja. Una enfermedad endémica implica que el patógeno puede no ser muy virulento, o que la mayoría de los individuos en la población seleccionada pueden ser inmunes, lo que conlleva una baja incidencia de la enfermedad. Sin embargo, mientras exista una situación endémica, los individuos infectados serán reservorios de la infección, suministrando una fuente de agentes infecciosos viables a partir de los cuales pueden infectarse otros individuos.

(a) Enfermedad endémica (b) Enfermedad epidémica (c) Enfermedad pandémica

Figura 33.2 Enfermedades endémicas, epidémicas y pandémicas. Cada punto representa varios casos de una enfermedad particular. *(a)* Las enfermedades endémicas están siempre presentes en una población en una determinada área geográfica. *(b)* Las enfermedades epidémicas muestran alta incidencia en un área amplia, desarrollándose generalmente desde un foco endémico. *(c)* Las enfermedades pandémicas se distribuyen por todo el mundo. Enfermedades como la gripe son endémicas en ciertas áreas y originan epidemias anuales bajo circunstancias apropiadas, como las aglomeraciones. Las epidemias pueden evolucionar a pandemias.

La **incidencia** de una enfermedad determinada es el número de nuevos casos de una enfermedad individual en una población en un determinado período de tiempo. Por ejemplo, en 2005, hubo 41.953 nuevos casos de SIDA en Estados Unidos, lo que significa una incidencia de 14 nuevos casos por 100.000 personas en un año. La **prevalencia** de una enfermedad dada es el número total de casos nuevos y ya existentes informados en una población y durante un determinado período de tiempo. Por ejemplo, había 425.910 personas viviendo con SIDA al final de 2005 en Estados Unidos. Dicho de otra manera, la prevalencia del SIDA en esta población fue de 176,2 por 100.000 en 2005. Por tanto, la *incidencia* proporciona un registro de casos nuevos de una enfermedad, mientras la *prevalencia* indica la carga total de la enfermedad en una población.

Pueden ocurrir casos esporádicos de una enfermedad cuando se registran casos individuales en áreas geográficamente separadas, implicando que los incidentes no están relacionados. Por otra parte, un **brote** de enfermedad ocurre cuando se observa un número de casos, por lo general en un período de tiempo relativamente corto, en un área geográfica que anteriormente sólo había presentado casos esporádicos de la enfermedad. Finalmente, los casos de individuos enfermos sin síntomas o con síntomas muy leves se denominan *infecciones subclínicas*. Frecuentemente, los individuos infectados subclínicamente son **portadores** de una enfermedad determinada, porque incluso aunque tengan escasos síntomas (o ninguno), pueden trasportar y trasmitir el patógeno.

Mortalidad y morbilidad

La incidencia y la prevalencia de la enfermedad, determinadas por análisis estadísticos de los casos de enfermedad y del registro de muertes, son indicadores de la salud pública de la población global total o de la población de una región localizada, como una ciudad, estado o país. Las condiciones y aspectos relativos a la salud pública varían con la localización y el tiempo, y la evaluación de la salud pública en un momento dado es sólo una imagen instantánea de una situación dinámica. Las políticas de salud pública se diseñan para reducir la incidencia y prevalencia de la enfermedad y sólo pueden evaluarse examinando las estadísticas de salud pública durante largos períodos de tiempo.

La **mortalidad** es la incidencia de *muerte* en la población. Las enfermedades infecciosas fueron la principal causa de muerte en 1900 en los países desarrollados, pero ahora son mucho menos significativas. Ahora las enfer-

medades no infecciosas, asociadas al estilo de vida, como las enfermedades cardíacas y el cáncer, son mucho más prevalentes y causan mayor mortalidad que las enfermedades infecciosas (Figura 1.8). Sin embargo, la situación actual podría cambiar rápidamente si se interrumpiesen las medidas de salud pública. En los países en desarrollo, las enfermedades infecciosas son todavía la principal causa de mortalidad (**Tabla 33.1** y Sección 33.10).

La **morbilidad** se refiere a la incidencia de *enfermedades* en la población e incluye tanto enfermedades mortales como no mortales. Las estadísticas de morbilidad definen la salud pública de una población con mayor precisión que las de mortalidad, porque muchas enfermedades tienen una mortalidad relativamente baja. Las principales causas de enfermedad son muy diferentes de las principales causas de muerte. Entre las enfermedades de alta morbilidad se encuentran las enfermedades respiratorias agudas como el resfriado común, y las patologías digestivas agudas. Ambas pueden deberse a agentes infecciosos, pero rara vez son causa directa de muerte en la población de países desarrollados.

Progresión de la enfermedad

En términos de sintomatología clínica, el curso de una enfermedad infecciosa aguda puede dividirse en etapas:

1. *Infección*: el microorganismo invade, coloniza y crece en el hospedador.
2. *Período de incubación*: el período de tiempo entre la infección y la aparición de los síntomas de la enfermedad. Algunas enfermedades, como la gripe, tienen períodos de incubación muy cortos, que se miden en días. Otras, como el SIDA, los tienen largo, extendiéndose a años, a veces. El período de incubación de una determinada enfermedad viene determinado por el tamaño del inóculo, virulencia y ciclo de vida del patógeno, resistencia del hospedador y distancia del sitio de entrada al foco de infección. Al final de la incubación aparecen los primeros síntomas, como cefalea y sensación de malestar.
3. *Período agudo*: la enfermedad está en su punto culminante, con síntomas claros como fiebre y escalofríos.
4. *Período de declive*: Los síntomas de enfermedad están cediendo, la fiebre disminuye, usualmente después de un período de sudoración intensa, y aparece una sensación de bienestar. El período de declive puede ser rápido (de un día), en cuyo caso se dice que ha ocurrido por *crisis*, o puede ser lento, a lo largo de varios días, en cuyo caso se dice que ha sido por *lisis*.
5. *Período de convalecencia*: el enfermo recupera las fuerzas y vuelve a la normalidad.

www.medilibros.com

Tabla 33.1 Muertes a nivel mundial debido a enfermedades infecciosas, 2002

Enfermedad	*Muertes*	*Agente(s) causal(es)*
Infecciones respiratorias agudas[a, b]	3.963.000	Bacterias, virus, hongos
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)	2.777.000	Virus
Enfermedades diarreicas	1.798.000	Bacterias, virus
Tuberculosis[a]	1.566.000	Bacteria
Malaria	1.272.000	Protista
Sarampión[a]	611.000	Virus
Tos ferina[a]	294.000	Bacteria
Tétanos[a]	214.000	Bacteria
Meningitis bacteriana[a]	173.000	Bacteria
Hepatitis (todos los tipos)[c]	157.000	Virus
Sífilis	153.000	Bacteria
Leismaniosis	51.000	Protista
Tripanosomiasis (enfermedad del sueño)	48.000	Protista
Clamidiasis	16.000	Bacteria
Esquistosomiasis	15.000	Helminto
Enfermedad de Chagas	14.000	Helminto
Encefalitis japonesa	14.000	Virus
Dengue	13.000	Virus
Enfermedades intestinales por nemátodos	12.000	Helminto
Otras enfermedades declarables	1.700.000	Varios agentes

Globalmente, hubo unos 57 millones de muertos en 2002 debido a todas las causas. Alrededor de 14,9 millones lo fueron por enfermedades de declaración obligatoria, la mayoría en países en desarrollo. Los datos muestran las 20 causas principales de muertes debidas a enfermedades infecciosas. La población mundial en 2002 se estimó en 6,2 miles de millones.

[a] Enfermedades para las que hay vacunas efectivas disponibles.

[b] Para algunos agentes como el virus de la gripe o *Streptococcus pneumoniae* existen vacunas efectivas, para otros, tales como los que producen resfriado común no las hay.

[c] Hay vacunas disponibles para los virus de la hepatitis A y B. No las hay para los otros virus que causan hepatitis.

Durante las últimas etapas del ciclo de infección, los mecanismos inmunitarios del hospedador van incrementando su importancia, y en muchos casos la recuperación completa de una enfermedad requiere (y es el resultado de) una inmunidad activa.

33.2 Minirrevisión

Una enfermedad endémica está constantemente presente con baja incidencia en una población específica. Una enfermedad epidémica ocurre con una incidencia inusualmente alta en una población específica. La incidencia es el registro de nuevos casos de una enfermedad, mientras que la prevalencia es el registro de los casos totales de una enfermedad en una población. Las enfermedades infecciosas pueden causar morbilidad (enfermedad) y pueden causar mortalidad (muerte). Una enfermedad infecciosa sigue un patrón clínico predecible en un hospedador.

- Distinga entre enfermedad endémica, enfermedad epidémica y enfermedad pandémica.
- Distinga entre morbilidad y mortalidad. ¿La mortalidad del hospedador es ventajosa para el patógeno?.

33.3 Reservorios de enfermedades y epidemias

Los **reservorios** son los sitios en los cuales el agente infeccioso permanece viable y desde los cuales ocurre la infección de los individuos. Los reservorios pueden ser vivos o inanimados. La **Tabla 33.2** enumera algunas enfermedades infecciosas humanas con potencial epidémico y sus reservorios. Algunos patógenos son principalmente saprofíticos (viven sobre la materia muerta) y sólo incidentalmente infectan y causan enfermedad en los seres humanos. Por ejemplo, *Clostridium tetani* (el agente causal del tétanos) habita normalmente en el suelo. La infección de animales por este microorganismo es un acontecimiento accidental. Esto es, la infección de un hospedador no es esencial para su existencia continuada, y, en ausencia de hospedadores susceptibles, *C. tetani* todavía podría sobrevivir en la naturaleza.

Para otros muchos patógenos, sin embargo, los únicos reservorios son organismos vivos. En estos casos, el hospedador reservorio es esencial para el ciclo de vida del agente infeccioso. Algunos patógenos viven sólo en los seres humanos y su mantenimiento requiere la trasmisión de persona a persona. Esto es común para los patógenos

www.medilibros.com

Tabla 33.2 Enfermedades epidémicas: agentes, fuentes, reservorios, medidas de control

Enfermedad	*Agente causal*[a]	*Fuentes de infección*	*Reservorio*	*Medidas de control*
Epidemias con origen común[b]				
Carbunco	*Bacillus anthracis* (B)	Leche o carne de animales infectados	Ganado vacuno, porcino, cabras, ovejas, caballos	Sacrificio de animales infectados
Disentería bacilar	*Shigella dysenteriae* (B)	Contaminación fecal de alimentos y agua	Seres humanos	Detección y control de portadores; revisión de los manipuladores de alimentos; descontaminación de los abastecimientos de agua
Botulismo	*Clostridium botulinum* (B)	Alimentos contaminados por el suelo	Suelo	Apropiada conservación de los alimentos
Brucelosis	*Brucella melitensis* (B)	Leche o carne de animales infectados	Ganado vacuno, porcino, cabras, ovejas, caballos	Pasteurización de la leche; control de la infección de animales
Cólera	*Vibrio cholerae* (B)	Contaminación fecal de alimentos y agua	Seres humanos	Descontaminación de suministro de agua pública; inmunización
Infección alimentaria por *E. coli* O157:H7	*Escherichia coli* O157:H7 (B)	Contaminación fecal de alimentos y agua	Seres humanos	Descontaminación de suministro de agua pública; revisión de los manipuladores de alimentos; pasteurización de bebidas
Giardiasis	*Giardia* spp. (P)	Contaminación fecal de alimentos y agua	Mamíferos salvajes	Descontaminación de suministro de agua pública
Hepatitis	Hepatitis A, B, C, D, E (V)	Personas infectadas	Seres humanos	Descontaminación de fómites y fluidos contaminados; inmunización si es posible (A y B)
Enfermedad del legionario	*Legionella pneumophila* (B)	Aguas contaminadas	Ambientes húmedos	Descontaminación de torres de aire acondicionado, etc.
Fiebre paratifoidea	*Salmonella paratyphi* (B)	Contaminación fecal de alimentos y agua	Seres humanos	Descontaminación de suministro de agua; revisión de los manipuladores de alimentos; inmumnización
Fiebre tifoidea	*Salmonella typhi* (B)	Contaminación fecal de alimentos y agua	Seres humanos	Descontaminación de suministro de agua; revisión de los manipuladores de alimentos; pasteurización de la leche; inmunización

(continúa)

Tabla 33.2 *(continuación)*

Enfermedad	*Agente causal*[a]	*Fuentes de infección*	*Reservorio*	*Medidas de control*
Epidemias de hospedador a hospedador				
Enfermedades respiratorias				
Difteria	*Corynebacterium diphtheriae* (B)	Casos humanos y portadores; fómites y alimentos infectados	Seres humanos	Inmunización; cuarentena de los individuos infectados
Síndrome pulmonar por hantavirus	Hantavirus (V)	Inhalación de materia fecal contaminada; contacto	Roedores	Control de la población de roedores y de la exposición a ellos
Fiebre hemorrágica	*Virus Ébola* (V)	Fluidos corporales infectados	Desconocido	Cuarentena de los casos activos
Meningitis meningocócica	*Neisseria meningitidis* (B)	Casos humanos y portadores	Seres humanos	Tratar a los expuestos con sulfadiazina para las cepas sensibles; inmunización
Neumonía neumocócica	*Streptococcus pneumoniae* (B)	Portadores humanos	Seres humanos	Tratamiento antibiótico; aislamiento de los casos durante el período de contagio
Tuberculosis	*Mycobacterium tuberculosis* (B)	Esputo de casos humanos; leche inferctada	Seres humanos	Tratamiento con isoniazida; pasteurización de la leche
Tos ferina	*Bordetella pertussis* (B)	Casos humanos	Seres humanos	Inmunización; aislamiento de los casos
Rubéola	Virus de la rubeola (V)	Casos humanos	Seres humanos	Inmunización; evitar el contacto entre individuos infectados y mujeres embarazadas
Gripe	Virus de la gripe (V)	Casos humanos	Seres humanos y anilmales	Inmunizaciόm
Sarampión	Virus del sarampión (V)	Casos humenos	Seres humanos	Inmunización
Enfermedades de trasmisión sexual[c]				
Síndrome de la inmunodeficien-cia adquirida SIDA	Virus de la inmunodeficien-cia humana (VIH)	Fluidos corporales infectados, especialmente sangre y semen	Seres humanos	Tratamiento con inhibidores metabólicos (no curativo)
Clamidiasis	*Chlamydia trachomatis* (B)	Secreciones uretrales, vaginales y anales	Seres humanos	Buscar al organismo durante exámenes pélvicos de rutina; quimioterapia de los portadores y contactos potenciales; seguimiento y tratamiento de los casos
Verrugas genitales cáncer de cérvix	Virus del papiloma humano (VPH)	Secreciones uretrales y vaginales	Seres humanos	Inmunización
Gonorrea	*Neisseria gonorrhoeae* (B)	Secreciones uretrales y vaginales	Seres humanos	Quimioterapia de los portadores y contactos potenciales; seguimiento y tratamiento de los casos
Sífilis	*Treponema pallidum* (B)	Exudado infectado y sangre	Seres humanos	Identificación por pruebas serológicas; tratamiento antibiótico de los individuos seropositivos
Tricomoniasis	*Trichomonas vaginalis* (P)	Secreciones de uretra, vagina y próstata	Seres humanos	Quimioterapia de los individuos infectados y contactos
Enfermedades trasmitidas por vectores				
Tifus epidémico	*Rickettsia prowazekii* (B)	Picadura por piojos infectados	Seres humanos, piojos	Control de la población de piojos
Enfermedad de Lyme	*Borrelia burgdorferi* (B)	Picadura por garrapatas infectadas	Roedores, ciervos, garrapateas	Evitar la exposición a garrapatas; tratamiento de los individuos infectados con antibióticos
Malaria	*Plasmodium* spp. (B)	Picadura por mosquito *Anopheles*	Seres humanos, mosquitos	Control de la población de mosquitos; tratamiento de las personas infectadas con fármacos antimalaria
Peste	*Yersinia pestis* (B)	Picadura por pulgas	Roedores salvajes	Control de la población de roedores; inmunización
Fiebre botonosa	*Rickettsia rickettsii* (B)	Picadura por garrapatas infectadas	Garrapatas, conejos, ratones	Evitar la exposición a las garrapatas; tratamiento de los individuos afectados con antibióticos
Enfermedades por contacto directo				
Psitacosis	*Chlamydia psittaci* (B)	Contacto con pájaros o con excrementos de pájaros	Pájaros salvajes y domésticos	Evitar el contacto con pájaros; tratar con antibióticos a los individuos infectados
Rabia	*Virus de la rabia* (V)	Mordedura por carnívoros, contacto con tejido nervioso	Carnívoros salvajes y domésticos	Evitar mordeduras de animales; inmunización de manipuladores de animales e individuos expuestos
Tularemia	*Francisella tularensis* (B)	Contacto con conejos	Conejos	Evitar el contacto con conejos; tratamiento de los individuos infectados con antibióticos

[a] B, Bacterias; V, virus, P, protistas.
[b] Algunas enfermedades de origen común pueden también trasmitirse de huésped a huésped.
[c] Las enfermedades de trasmisión sexual pueden también controlarse con el uso efectivo de preservativos y por abstinencia sexual.

www.medilibros.com

respiratorios virales y bacterianos y para los patógenos trasmitidos sexualmente. Estafilococos y estreptococos son ejemplos de patógenos restringidos al ser humano, como lo son los agentes que causan difteria, gonorrea y parotiditis. Como veremos, los patógenos cuyo ciclo de vida entero depende de una sola especie hospedadora, especialmente cuando se trata del ser humano, pueden ser erradicados y muchos están controlados.

Zoonosis

Algunas enfermedades infecciosas son causadas por patógenos que se propagan tanto en el hombre como en animales. Una enfermedad que infecta primariamente a animales pero que se trasmite ocasionalmente al ser humano se denomina **zoonosis**. Dado que las medidas de salud pública para las poblaciones animales están mucho menos desarrolladas que para los seres humanos, las tasas de infección para enfermedades veterinarias pueden ser mayores cuando la norma es la trasmisión de animal a animal. Ocasionalmente, la trasmisión es de animal a humano; la trasmisión persona a persona es rara para estos patógenos, pero puede ocurrir. Factores como la presencia del agente infeccioso, un ambiente propio para la propagación y transferencia del agente, y la presencia de nuevas especies susceptibles como hospedadores, son los que conducen a la emergencia de zoonosis. Cuando hay trasmisión de animal a humano, puede emerger repentinamente una nueva enfermedad infecciosa en la población humana expuesta. Pueden verse ejemplos en la Información adicional: «SARS como un modelo de éxito epidemiológico» para una discusión del síndrome respiratorio agudo grave (SARS) y otras epidemias zoonóticas, y *véase* también la discusión de Hantavirus en la Sección 35.2.

En muchos casos, el control de una enfermedad zoonótica en una población humana no elimina la enfermedad como un problema público potencial. Generalmente, la erradicación de la forma humana de una enfermedad zoonótica sólo puede alcanzarse a través de la eliminación de la enfermedad en el reservorio animal. Esto es así porque el mantenimiento del patógeno en la naturaleza depende de la transferencia de animal a animal, y el ser humano es un hospedador accidental, no esencial. Por ejemplo, la peste es primariamente una enfermedad de roedores. El control efectivo de la peste se alcanza por el control de la población de roedores infectados e insectos (pulgas) vectores. Estos métodos son más eficaces para prevenir la trasmisión de la peste que otras intervenciones como la vacunación del hospedador incidental humano (Sección 35.7). La tuberculosis bovina zoonótica es indistinguible de la tuberculosis humana. Diseminada a menudo desde el ganado infectado hasta los humanos, el control se alcanzó primariamente identificando y sacrificando los animales infectados. La pasteurización de la leche fué también de importancia considerable, ya que la leche era el principal vehículo de la trasmisión de la tuberculosis bovina al ser humano (Sección 34.5).

Algunas enfermedades infecciosas, particularmente las causadas por microorganismos como los protistas, que tienen ciclos de vida más complejos, implican la transferencia obligatoria desde un hospedador no humano al humano, seguida de la transferencia inversa al hospedador no humano (por ejemplo, la malaria, Sección 35.5). En estos casos, la enfermedad puede ser controlada potencialmente tanto en el hospedador humano como en el hospedador animal alternativo.

Portadores

Un *portador* es un individuo infectado con un patógeno, que no muestra signos clínicos de enfermedad. Los portadores son fuentes potenciales de infección para otros. Los portadores pueden ser individuos en el período de incubación de la enfermedad, en cuyo caso el estado portador precede al desarrollo de los síntomas reales. Por ejemplo, las infecciones respiratorias como el resfriado o la gripe se diseminan a menudo a través de portadores que no son conscientes de su infección y que por ello no han tomado precauciones para no contagiar a otros. Para estos portadores agudos, el estado de portador es de corta duración. Por otra parte, los portadores crónicos pueden propagar la enfermedad durante períodos extensos de tiempo. Usualmente, los portadores crónicos parecen estar en perfecto estado de salud. Pueden ser individuos que se han recuperado de una infección clínica pero que todavía contienen patógenos viables, o pueden ser individuos con infecciones inaparentes.

Los portadores pueden ser identificados en poblaciones usando técnicas diagnósticas como revisiones por cultivo o inmunoensayos. Por ejemplo, la prueba cutánea con antígenos de *Mycobacterium tuberculosis* examina la hipersensibilidad retardada. Esta reacción, fácilmente detectable con la prueba cutánea, revela la exposición e infección previa o actual con *M. tuberculosis* y es muy utilizada para identificar infección previa y portadores de tuberculosis (Sección 34.5). Otras enfermedades en las cuales los portadores son importantes para la propagación de la infección son la hepatitis, fiebre tifoidea y SIDA. Las revisiones por cultivos o inmunoensayos de los manipuladores de alimentos y de los trabajadores sanitarios se usan algunas veces para identificar que son portadores y que constituyen un riesgo como fuentes comunes de infección.

Un ejemplo clásico de portador crónico fue la mujer conocida como María la Tífica, una cocinera de la ciudad de New York a principios del siglo veinte. María la Tífica (su nombre real era Mary Mallon) estuvo empleada en una cocina durante una epidemia de fiebre tifoidea en 1906. Las investigaciones revelaron que María estuvo asociada a un número de brotes de tifoideas. Probablemente, ella debió ser la fuente de las infecciones, ya que sus heces contenían gran número de la bacteria responsable de las fiebres tifoideas, *Salmonella typhi*. Durante toda su vida persistió como portadora, probablemente porque su vesícula biliar estaba infectada y continuamente secretaba microorganismos en su intestino. Como rehusó que

se le extirpase la vesícula biliar, fue encarcelada. Liberada con la condición de que no volviera a cocinar o a manipular alimentos para otros, Mary desapareció, cambió de nombre y continuó cocinando en restaurantes e instituciones públicas, llevando consigo brotes epidémicos de fiebres tifoideas. Después de varios años, fue de nuevo arrestada y encarcelada y permaneció bajo custodia hasta su muerte en 1938.

33.3 Minirrevisión

Muchos patógenos existen solamente en el ser humano y se mantienen solamente por transmisión de persona a persona. Algunos patógenos humanos, sin embargo, viven principalmente en el suelo, agua o animales. Para controlar las enfermedades es esencial conocer los reservorios, portadores y ciclos de vida de los patógenos.

- ¿Qué es un reservorio de una enfermedad?
- Distinga entre portadores agudos y crónicos. Aporte un ejemplo de cada uno.

33.4 Transmisión de las enfermedades infecciosas

Los epidemiólogos siguen la trasmisión de una enfermedad por correlaciones geográficas, climáticas, sociales y datos demográficos con la incidencia de las enfermedades. Estas correlaciones se usan para identificar los posibles modos de trasmisión. Por ejemplo, una enfermedad limitada a una localización geográfica restringida puede sugerir un vector particular; la malaria, una enfermedad de regiones tropicales, se trasmite solamente por especies de mosquitos restringidas a regiones tropicales. Una marcada estacionalidad o periodicidad de una enfermedad es indicativa a menudo de ciertos modos de trasmisión. Este es el caso de la gripe, cuya incidencia aumenta drásticamente cuando los niños entran en el período escolar y están en estrecho contacto, incrementando las posibilidades de trasmisión viral de persona a persona.

Finalmente, la supervivencia de un patógeno depende de la eficacia de su trasmisión de un hospedador a otro. A menudo los modos de trasmisión de los patógenos guardan relación con su hábitat preferido en el cuerpo. Por ejemplo, los patógenos respiratorios generalmente se trasmiten por el aire, mientras que los patógenos intestinales se diseminan a través de alimentos o agua contaminados. En algunos casos, la supervivencia del patógeno puede verse influida por factores ambientales como el clima. Por ejemplo, la encefalitis de California, causada por un bunyavirus RNA monocatenario, ocurre principalmente durante los meses de verano y otoño, y desaparece cada invierno siguiendo un patrón cíclico predecible (**Figura 33.3**). El virus lo trasmiten mosquitos hospedadores que mueren durante los meses de invierno, haciendo que la enfermedad desaparezca hasta que el insecto hospedador reaparezca y trasmita el virus en los meses de verano. Prácticamente todos los virus de encefalitis trasmitidos por mosquitos siguen el mismo patrón estacional.

Los patógenos pueden clasificarse por sus mecanismos de trasmisión, pero todos los mecanismos tienen estas etapas en común: (1) salida del hospedador, (2) viaje y (3) entrada en el nuevo hospedador. La trasmisión de patógenos puede ser por mecanismos directos o indirectos.

Trasmisión directa de hospedador a hospedador

A menudo, la trasmisión de hospedador a hospedador ocurre cuando un hospedador infectado trasmite una enfermedad directamente a un hospedador susceptible sin asistencia de un hospedador intermediario o de un objeto inanimado. Las infecciones del tracto respiratorio superior, como el resfriado común o la gripe, se trasmiten frecuentemente a través de las gotitas resultantes del estornudo o la tos. Muchas de estas gotitas, sin embargo, no permanecen mucho tiempo en el aire. La trasmisión, por tanto, requiere un contacto persona-persona estrecho, aunque no necesariamente íntimo.

Algunos patógenos son extremadamente sensibles a factores ambientales como la sequedad y el calor, y son incapaces de sobrevivir durante períodos significativos de tiempo lejos del hospedador. Entre estos patógenos, trasmitidos solamente por contacto íntimo persona-persona como el intercambio de fluidos corporales durante las relaciones sexuales, se encuentran los responsables de

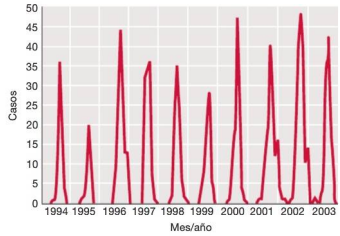


Figura 33.3 Incidencia de la encefalitis de California en Estado Unidos por año y mes de comienzo. Nótese la elevación aguda en el verano tardío, seguida por una disminución completa en invierno. El ciclo de la enfermedad siguió el ciclo anual de prevalencia del mosquito vector. En 2003 hubo 108 casos en 12 estados. Los datos proceden de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU.

enfermedades de trasmisión sexual, como la sífilis (*Treponema pallidum*) y la gonorrea (*Neisseria gonorrhoeae*).

También se trasmiten por contacto directo patógenos de la piel como los estafilococos (forúnculos y granos) y algunos hongos (tiña). Estos patógenos, sin embargo, son relativamente resistentes a las condiciones ambientales como la sequedad, y por eso pueden también diseminarse por medios indirectos.

Trasmisión indirecta de hospedador a hospedador

La trasmisión indirecta de un agente infeccioso puede verse facilitada por agentes vivos o inanimados. Los agentes vivos que trasmiten patógenos se llaman **vectores**. Por lo común, tanto artrópodos (ácaros, garrapatas, pulgas) como vertebrados (perros, gatos o roedores) actúan como vectores. Los vectores artrópodos pueden no ser hospedadores para el patógeno, pero lo trasportan de un hospedador a otro. Muchos artrópodos se nutren picando y succionando sangre, y si el patógeno está presente en la sangre, el artrópodo vector puede ingerirlo y trasmitirlo cuando pique a otro individuo. En algunos casos los patógenos se replican en el artrópodo vector, al cual se le considera entonces como un hospedador alternativo. Este es el caso del virus del Oeste del Nilo (Sección 35.6). Esta replicación conduce a un incremento en el número de patógenos, aumentando las posibilidades de que en la picadura siguiente se trasmita la infección.

Los agentes inanimados como el lecho, juguetes, libros e instrumentos quirúrgicos también pueden trasmitir enfermedades. A estos objetos inanimados se les llama colectivamente **fomites**. Los alimentos y el agua son **vehículos** potenciales de enfermedad. Los fomites también son vehículos de enfermedad, pero las grandes epidemias que se originan de un solo vehículo como fuente suelen estar generalmente relacionadas con alimentos o agua porque se consumen en grandes cantidades por muchos individuos de una población.

Epidemias

Las grandes epidemias se clasifican usualmente como epidemias de *fuente común* o de *hospedador a hospedador*. Ambos tipos de epidemias se contrastan en la **Figura 33.4.** La Tabla 33.2 resume las características epidemiológicas cruciales de las principales enfermedades epidémicas.

Una **epidemia de fuente común** aparece como resultado de la infección (o la intoxicación) de un gran número de personas a partir de una fuente común contaminada como los alimentos o el agua. A menudo, estas epidemias están causadas por una discontinuidad en el saneamiento de un sistema central de distribución de alimentos o agua. Las epidemias de fuente común trasmitidas por alimentos o agua son primariamente enfermedades intestinales; el patógeno abandona el cuerpo con el material fecal, contamina suministros de alimentos o de agua debido a procedimientos sanitarios inadecuados, y

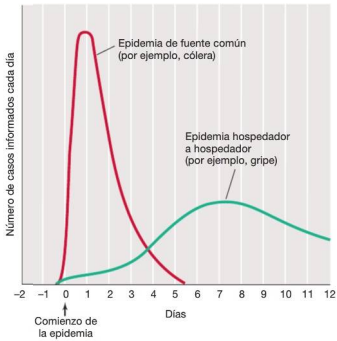


Figura 33.4 Origen de las epidemias. La forma de la curva de la epidemia identifica su origen probable. En una epidemia de fuente común, como las debidas a alimentos o agua contaminados, la curva se caracteriza por una brusca elevación del pico, con un declive rápido, que es menos abrupto que la elevación. Se continúan comunicando casos durante un período aproximadamente igual a la duración de un período de incubación de la enfermedad. En las epidemias hospedador a hospedador, la curva se caracteriza por una elevación progresiva, relativamente lenta, y se continúan comunicando casos durante un período equivalente a varios períodos de incubación de la enfermedad.

entonces entra en el tracto intestinal del receptor durante la ingestión. Generalmente, las enfermedades trasmitidas por agua o alimentos son controladas por medidas de salud pública, que se discuten en los capítulos 36 y 37. Un ejemplo clásico de epidemia de fuente común es la de cólera. En 1855, el médico británico John Snow mostró que el cólera se disemina a través del agua de bebida. Sus estudios clásicos de los sistemas de distribución de agua en Londres demostraron claramente que el cólera se trasmite por contaminación fecal de un suministro de agua. En el caso del cólera, el agente infeccioso, la bacteria *Vibrio cholerae*, se trasmite a través del consumo del vehículo contaminado de fuente común, el agua (Figura 36.11).

La incidencia de enfermedad para un brote de fuente común se caracteriza por una rápida elevación formando un pico, porque un gran número de individuos enferman en un período de tiempo relativamente breve (Tabla 33.4). Asumiendo que la fuente común contaminada por el patógeno sea descubierta y saneada, la incidencia de la enfermedad también declinará con rapidez, aunque el descenso es menos rápido que la elevación. Continuarán informándose casos durante un período de tiempo apro-

ximadamente igual a la duración de un período de incubación de la enfermedad.

En las **epidemias de hospedador a hospedador**, la incidencia de la enfermedad muestra una elevación progresiva, relativamente lenta (Tabla 33.4) y un declive gradual. Se continúan informado casos durante un período de tiempo equivalente a varios períodos de incubación de la enfermedad. Una epidemia hospedador a hospedador puede iniciarse por la introducción de un único individuo infectado en una población susceptible, cuando este individuo infecta a una o más personas. El patógeno se replica entonces en los individuos susceptibles, alcanza la situación de trasmisible y se trasfiere a otros individuos susceptibles, en los que de nuevo se replica y llega a ser trasmisible. La gripe y la varicela son ejemplos de enfermedades que se trasmiten típicamente en epidemias tipo hospedador a hospedador. En el capítulo 34 se discuten estas y otras enfermedades propagadas por trasmisión hospedador a hospedador.

33.4 Minirrevisión

Las enfermedades infecciosas se pueden trasmitir directamente de un hospedador a otro, o indirectamente por vectores vivos u objetos inanimados (fomites) y por vehículos comunes como alimentos y agua. En su origen, las epidemias pueden ser de fuente común o de hospedador a hospedador.

- Distinga entre trasmisión directa e indirecta de una enfermedad. Citar al menos un ejemplo de cada una.
- Distinga entre una epidemia de fuente común y una epidemia de hospedador a hospedador. Citar al menos un ejemplo de cada una.

33.5 La comunidad de hospedadores

La colonización de un hospedador susceptible, no inmunizado, por un patógeno puede conducir primero a infecciones explosivas, trasmisión a hospedadores no infectados y a una epidemia. Sin embargo, cuando toda la población de hospedadores desarrolla resistencia, se detiene la diseminación del patógeno y finalmente se alcanza un equilibrio entre el patógeno y el hospedador. En un caso extremo, la incapacidad para alcanzar el equilibrio puede tener como resultado la muerte y la extinción de la especie hospedadora. Si el patógeno no tiene otro hospedador, la extinción del hospedador conlleva la extinción del patógeno. Por tanto, el éxito evolutivo de un patógeno puede depender de su capacidad para establecer un equilibrio con el hospedador, más que de su capacidad para destruirlo. En la mayoría de los casos, la evolución del hospedador y la del patógeno afectan la una a la otra; esto es, el hospedador y el patógeno *coevolucionan*.

Coevolución de un hospedador y un parásito

Un ejemplo clásico de coevolución de un hospedador y un patógeno ocurrió cuando se introdujo intencionadamente un virus para controlar los conejos silvestres en Australia. Los conejos introducidos en Australia desde Europa en 1859 se diseminaron hasta que invadieron grandes regiones del continente y causaron daños masivos en cosechas y vegetación.

En 1950 se introdujo en Australia el virus de la mixomatosis para controlar la población de conejos. Este virus es muy virulento y usualmente causa una infección mortal. Se propaga rápidamente a través de mosquitos y otros insectos que pican. Después de varios meses, el virus se había extendido por una gran área, alcanzando un pico en verano, cuando estaban presentes los mosquitos vectores, y declinando en el invierno. Durante el primer año de la epidemia, alrededor del 95% de los conejos infectados murieron. Sin embargo, cuando se aisló el virus de los conejos infectados para caracterizar su virulencia en crías de conejos silvestres y de laboratorio, los aislados virales de campo habían disminuido su virulencia y la resistencia de los conejos silvestres había aumentado drásticamente. Después de 6 años, la mortalidad de los conejos cayó al 84% (**Figura 33.5**). A su vez, todos los conejos silvestres supervivientes adquirieron factores de resistencia. Por 1980, la población de conejos en Australia estaba de nuevo cerca de los niveles previos a la introducción de la mixomatosis, con amplia destrucción medioambiental y presión sobre plantas y animales nativos.

www.medicapanamericana.com

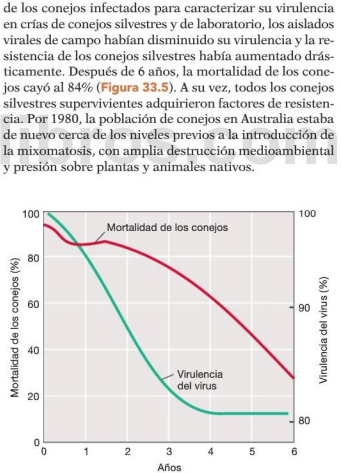


Figura 33.5 Virus de la mixomatosis, virulencia y susceptibilidad de los conejos. Los datos se recogieron después de que se introdujo el virus de la mixomatosis en Australia en 1950. La virulencia del virus se presenta como la mortalidad media en conejos estándar de laboratorio para el virus recuperado de campo anualmente. La susceptibilidad de los conejos se determinó infectando conejos silvestres jóvenes con una cepa viral de virulencia moderadamente alta. Las cepas ensayadas mataban 90-95% de los conejos normales de laboratorio.

En 1995, las autoridades australianas comenzaron a controlar la liberación de otro patógeno muy virulento del conejo, el virus de la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV, del inglés *Rabit hemorrhagic disease virus*), un virus RNA de cadena sencilla y sentido positivo (Figura 19.7). Debido a que el RHDV se propaga por contacto directo y mata a los animales en unos días después de la iniciada la infección, las autoridades creyeron que la infección podría matar a todos los conejos de la población local, previniendo la emergencia de resistencias. Por tanto, razonaron, la relación entre virus y hospedador podría mantenerse a favor del patógeno más fácilmente que en el caso del virus de la mixomatosis, trasmitido por artrópodos. Los informes iniciales indicaron que el RHDV fue muy efectivo en la reducción de la población local de conejos. Sin embargo, la infección natural de algunos conejos por virus indígena de fiebre hemorrágica confirió inmunidad cruzada frente al RHDV introducido. Esta respuesta inmune impredecible limitó la eficacia del programa de control en ciertas áreas de Australia. Una vez más, el hospedador desarrolló resistencia frente al agente de control, desplazando el balance hospedador-patógeno hacia el equilibrio.

Auque la coevolución del hospedador y el patógeno puede ser común en las enfermedades que dependen de la trasmisión hospedador-hospedador, para los patógenos que no dependen de este mecanismo, como el anteriormente mencionado *Clostridium*, no existe una selección que disminuya la virulencia para favorecer una coexistencia mutua. Los patógenos trasmitidos por vectores, normalmente trasmitidos por picaduras de artrópodos, tampoco se encuentran bajo una presión evolutiva que salvaguarde al hospedador humano. Siempre que el vector pueda obtener la sangre de la que se alimenta antes de que el hospedador muera, el patógeno podrá mantener un alto nivel de virulencia, diezmando al hospedador humano en el proceso de infección. Por ejemplo, el parásito de la malaria *Plasmodium* spp. muestra variaciones antigénicas en sus proteínas de envoltura que le ayudan a evitar la respuesta inmunitaria del hospedador. Esta capacidad genética para evitar las respuestas inmunitarias incrementa la virulencia del patógeno independientemente de la susceptibilidad del hospedador. Sin embargo, como veremos para la malaria, el hospedador puede desarrollar resistencia específica bajo una presión evolutiva constante ejercida por un patógeno muy virulento (Sección 35.5).

Otra evidencia del fenómeno de incremento continuo de la virulencia nos lo da el estudio de las enfermedades diarreicas supervirulentas en recién nacidos. En situaciones de hospitalización, *Escherichia coli* puede causar enfermedades diarreicas graves e incluso mortales, y la virulencia parece aumentar con cada paso del patógeno a través de un enfermo hospitalizado. *E. coli* se replica en un hospedador y entonces se trasfieren a otro enfermo a través de portadores como el personal sanitario o por fomites como la ropa de cama y accesorios sucios. Incluso si el hospedador muere o no puede contactar con otros para trasmitir la enfermedad, la cepa virulenta de *E. coli* infecta a otros trasmitiéndose por medios distintos de la vía persona a persona. A veces son necesarios esfuerzos extraordinarios como el lavado completo de salas y accesorios con desinfectantes y transferencias de personal para interrumpir el ciclo de estas infecciones muy virulentas.

Inmunidad de grupo

La **inmunidad de grupo** es la resistencia de un grupo a la infección, debida a la inmunidad de una alta proporción de sus miembros. La evaluación de la inmunidad de grupo es importante para comprender el desarrollo de las epidemias. En general, si una alta proporción de individuos en un grupo son inmunes a un agente infeccioso, la población entera quedará protegida. Una alta proporción de individuos deben ser inmunes para prevenir una epidemia por un agente muy virulento o con un prolongado período de infectividad, y una baja proporción para un agente menos virulento o con un período de infectividad breve. En ausencia de inmunidad, incluso los agentes poco infectivos pueden trasmitirse persona a persona si hay contactos repetidos o constantes entre los individuos infectados y los hospedadores susceptibles. Este parece ser el caso de la trasmisión de la gripe aviar H5N1 entre los seres humanos (Sección 34.9).

La proporción de la población que debe ser inmune para prevenir la infección en el resto de la población puede estimarse a partir de datos derivados de los programas de inmunización. Por ejemplo, para la inmunización para poliovirus en Estados Unidos, los estudios de incidencia de la polio en grandes poblaciones indican que si el 70% de una población está inmunizado, la polio estará prácticamente ausente en dicha población. Los individuos inmunizados protegen al resto de la población porque ellos no pueden adquirir ni trasmitir el patógeno, rompiendo por tanto el ciclo de infección (**Figura 33.6**). Para enfermedades muy infectivas como la gripe y el sarampión, hasta un 90-95% de la población debe ser inmune para conferir inmunidad de grupo.

Para conferir inmunidad de grupo frente a la difteria, se ha estimado que debe estar inmunizado cerca del 70% de la población, pero el estudio de varios pequeños brotes de difteria indica que en áreas densamente pobladas debe inmunizarse una proporción mucho mayor de individuos susceptibles para prevenir una epidemia. Con la difteria aparece una complicación adicional, porque las personas inmunizadas todavía pueden trasportar el patógeno y convertirse en portadores crónicos. Esto es debido a que la inmunización protege frente a los efectos de la toxina diftérica, pero no necesariamente frente a la infección por *Corynebacterium diphtheriae*, la bacteria que causa la enfermedad (Sección 34.3).

Ciclos de enfermedad

Algunas enfermedades ocurren en ciclos. Por ejemplo, la gripe ocurre siguiendo un patrón cíclico anual, causando epidemias que se propagan en niños escolarizados y

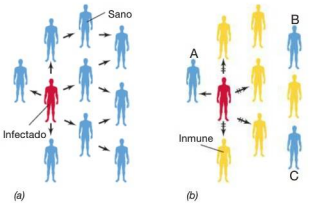


Figura 33.6 **Inmunidad de grupo y trasmisión de la infección.** La inmunidad en algunos individuos protege a los individuos no inmunizados de la infección. *(a)* En una población no protegida, un individuo infectado puede infectar con éxito (flechas) a todos los individuos sanos. Los nuevos individuos infectados pueden a su vez transferir el patógeno directamente a otros individuos sanos. *(b)* Para un patógeno moderadamente trasmisible como *Corynebacterium diphteriae* (difteria) en una población de densidad moderada, el individuo infectado no puede transferir el microorganismo a todos los individuos susceptibles porque los individuos resistentes, inmunes por causa de exposiciones previas o de inmunización, rompen el ciclo de trasmisión del patógeno. Incluso si un individuo sano A llega a infectarse, otros individuos sanos, B y C, están protegidos. Para un patógeno moderadamente trasmisible como *C. diphteriae*, un 70% de inmunidad confiere resistencia a la población entera. Para un patógeno altamente trasmisible como la varicela, se necesitan niveles altos de inmunidad de grupo, del orden del 90%, para detener la trasmisión.

otras poblaciones. La infectividad de la gripe es alta en situaciones de aglomeración como en las escuelas porque el virus se trasmite por la vía respiratoria. Las principales cepas epidémicas del virus de la gripe cambian virtualmente cada año, y como resultado hay más niños susceptibles a la infección. Tras la introducción del virus en una escuela, resulta una epidemia propagada explosivamente. Prácticamente cada individuo se infecta y desarrolla inmunidad. Conforme aumenta la población inmune, la epidemia declina.

33.5 Minirrevisión

Para la mayoría de las enfermedades epidémicas, hospedadores y patógenos coevolucionan para alcanzar un estado estable que favorezca la supervivencia continuada de ambos. Cuando una gran proporción de una población es inmune a una enfermedad dada, la propagación de la enfermedad se ve inhibida. Ocurren ciclos de la enfermedad cuando una población grande, no inmunizada, se expone al patógeno.

- Explique la coevolución de hospedador y patógeno. Cite un ejemplo específico.
- ¿Cómo previene la inmunidad de grupo que un individuo no inmune adquiera la enfermedad? Dé un ejemplo.

II EPIDEMIAS ACTUALES

Aquí examinaremos los datos recogidos por programas de vigilancia de enfermedades en todo el mundo, que suministran un cuadro de los patrones de enfermedades emergentes para las infecciones nosocomiales y asociadas al SIDA.

33.6 La pandemia de SIDA

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es una enfermedad viral que ataca al sistema inmune (Sección 34.15). El primer caso informado de SIDA se diagnosticó en Estados Unidos en 1981. Durante 2005, en Estados Unidos se habían informado 956.666 casos, con 550.394 muertes. En dicho año, se comunicaron 44.198 nuevos casos en Estados Unidos, y cada año desde 1989 se han señalado 38.000 nuevos casos (**Figura 33.7**).

En todo el mundo, desde 1981 a 2003, al menos 70 millones de personas se infectaron con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus que causa el SIDA. Más de 25 millones de personas habían muerto de SIDA y 40 millones estaban viviendo con la enfermedad. Globalmente, otros 5 millones de individuos se infectan cada año. América del Norte tiene alrededor de 1 millón de individuos infectados, y unos 476.000 individuos viven actualmente con VIH/SIDA en los Estados Unidos. En el África subsahariana hay 26,6 millones de personas infectadas (**Tabla 33.3**). En los países africanos de Botswana y Swaziland, cerca del 40% de la población adulta

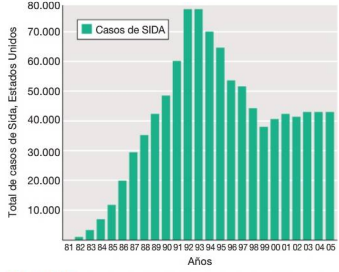


Figura 33.7 **Casos anuales diagnosticados de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) desde 1981 en Estados Unidos.** Acumulativamente, ha habido 956.666 casos de SIDA hasta 2005. Los datos son del Informe de Vigilancia VIH/SIDA, Centro para control y prevención de enfermedades, división de prevención, vigilancia y epidemiología del VIH/SIDA.

Tabla 33.3 Infecciones VIH/SIDA, en el mundo, 2003

Localización	*Infecciones VIH/SIDA*
Norteamérica	1 millón
Caribe	460.000
Latinoamérica	1,6 millones
Oeste de Europa	600.000
Este de Europa y Asia central	1,5 millones
Norte de África y Oriente Próximo	600.000
África subsahariana	26,6 millones
Este de Asia y Pacífico	1 millón
Sur y sudeste de Asia	6,4 millones
Australia y Nueva Zelanda	15.000

El número total de individuos infectados con VIH/SIDA se estimó en 40 millones.
Los datos proceden de la OMS y del Programa de las Naciones Unidas para VIH/SIDA.

está infectada con VIH. El SIDA causó alrededor de 3 millones de muertes en 2003, 2,3 millones de las cuales fueron en el África subsahariana.

Seguimiento de la epidemia

Los casos iniciales estudiados en Estados Unidos sugirieron una prevalencia inusualmente alta de SIDA entre los varones homosexuales y los usuarios de drogas intravenosas. Esto indicó un agente trasmisible, que presumiblemente se trasmitía durante la actividad sexual o por jeringuillas contaminadas con sangre. Los individuos que recibieron sangre o hemoderivados también mostraron un alto riesgo: adquirieron SIDA hemofílicos que necesitaban recibir hemoderivados y un pequeño número de individuos que recibieron trasfusiones sanguíneas o trasplantes de tejidos antes de 1982 (cuando se introdujeron los procedimientos de muestreo de sangre). Hoy, menos del 1% de los casos totales actuales de SIDA pueden atribuirse a estos modos de trasmisión.

Pronto, después del descubrimiento del VIH, se desarrollaron pruebas de laboratorio tipo ELISA y Western blot (Sección 32.10 y 32.11) para detectar anticuerpos séricos frente al virus. Una amplia vigilancia de la incidencia y la prevalencia de VIH definió la propagación del virus y corroboró que los nuevos casos no se trasmitían por trasfusiones sanguíneas. Los patrones ilustrados en la **Figura 33.8** son típicos de un agente trasmisible por actividad sexual o por la sangre. La identificación de grupos de riesgo bien definidos confirmó que el SIDA no se trasmitía de persona a persona por contactos casuales, ni por vía respiratoria, ni por agua o alimentos contaminados. En cambio los fluidos corporales, principalmente sangre y semen, se identificaron como los vehículos de trasmisión del VIH.

La Figura 33.8 muestra que el número de casos de SIDA es desproporcionadamente alto en los hombres homosexuales en Estados Unidos, pero los patrones en mujeres y en ciertos grupos étnicos indican que la homosexualidad no es un prerrequisito para adquirir el SIDA.

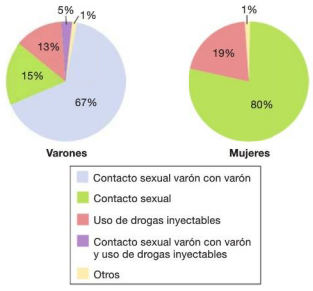


Figura 33.8 Distribución de los casos de SIDA por grupos de riesgo y sexo en adolescentes y adultos en Estados Unidos, 2005. Se recogieron datos de 28.037 varones y 9.893 Mujeres diagnosticados de VIH/SIDA en 2005.
Fuente: Centers for Disease Control and Prevention.

Entre las mujeres, por ejemplo, las mujeres heterosexuales son el grupo de mayor riesgo, mientras que en los hombres afroamericanos e hispanos, el uso de drogas intravenosas está unido a la infección con casi la misma frecuencia que la actividad homosexual. De hecho, si consideramos todos los grupos de riesgo, la actividad heterosexual es el factor de riesgo que se incrementa más rápido para los nuevos casos de SIDA entre adultos.

Esta cohorte de individuos que tienen alto riesgo de adquirir el SIDA indica que virtualmente todos los que adquieren el SIDA hoy en día comparten dos patrones de conducta específicos. Primero, mantienen actividades (sexo o abuso de drogas) que implican la transferencia de fluidos corporales, usualmente semen o sangre. Segundo, intercambian fluidos corporales con múltiples compañeros, ya sea a través de la actividad sexual o a través del uso de drogas compartiendo jeringuillas (o ambos). Por tanto, con cada encuentro incrementan las probabilidades de intercambiar fluidos corporales con un individuo infectado por VIH y, en consecuencia, sus posibilidades de adquirir la infección con VIH.

La incidencia del SIDA en los hemofílicos y receptores de transfusión de sangre ha sido virtualmente eliminada. Esto se debe a un control riguroso de los suministros de sangre y también a que muchos factores de coagulación de la sangre necesitados por los hemofílicos pueden soportar un tratamiento con calor suficiente para inactivar al VIH o están disponibles como productos de ingeniería genética. En 2005, hubo 111 casos de SIDA pediátrico en Estados Unidos. El VIH puede trasmitirse desde la madre infectada al feto y probablemente también por la leche materna. Los niños nacidos de madres infectadas con

VIH tienen anticuerpos para el VIH derivados de la madre en su sangre. Sin embargo, un diagnóstico positivo por VIH debe esperarse un año o más después del nacimiento para dar un diagnóstico positivo de infección por VIH en niños, ya que alrededor del 70% de los niños con anticuerpos maternales anti-VIH en el momento del nacimiento no desarrollan luego infección por VIH.

Los estudios epidemiológicos del SIDA en África indican que la trasmisión heterosexual del VIH es la norma. En algunas regiones, hay menos hombres que mujeres infectados con VIH. La identificación de grupos de alto riesgo como las prostitutas ha llevado al desarrollo de campañas de educación sanitaria. Estas campañas informan al público de los métodos de trasmisión del VIH y definen las conductas de alto riesgo. Dado que no hay cura ni inmunización eficaz disponible para el SIDA, queda la educación sanitaria pública como el método más efectivo para controlar el SIDA y la diseminación de la infección por VIH. La patología y la terapia del SIDA la discutiremos en la Sección 34.15.

33.6 Minirrevisión

El VIH/SIDA continuará siendo un problema principal de salud pública en todo el mundo. No hay cura efectiva ni inmunización que prevenga el SIDA. El control de la trasmisión del VIH/SIDA depende de la vigilancia de la salud pública y de la educación.

- Describa los principales factores de riesgo para adquirir la infección por VIH. Adapte su respuesta a su país de origen.
- Calcule el número total de individuos que tienen actualmente SIDA en los Estados Unidos y prediga cuántos habrá en los 2 próximos años.

Vokamedia

33.7 Infecciones hospitalarias

Una infección hospitalaria (IH) es una condición local o sistémica resultante de un agente infeccioso o sus productos que ocurre durante la estancia en un centro sanitario y que no estaba presente en la admisión. Las IH son causa de morbilidad y mortalidad significativas. Alrededor del 5% de los enfermos admitidos en un hospital adquieren IH, también llamadas **infecciones nosocomiales** (*Nosocomium* es una palabra latina que significa «hospital»). En total cada año hay cerca de 1,7 millones de infecciones nosocomiales en los Estados Unidos, causando directa o indirectamente unas 99.000 muertes.

Algunas infecciones nosocomiales se adquieren de enfermos con enfermedades trasmisibles, pero otras están causadas por patógenos seleccionados y mantenidos dentro del ambiente hospitalario. La infección cruzada de enfermo a enfermo o de personal sanitario enfermo es un riesgo constante. Los patógenos nosocomiales se encuentran a menudo entre la microbiota normal ya sea de enfermos o de personal sanitario.

El ambiente hospitalario

Las enfermedades infecciosas se propagan fácil y rápidamente en los hospitales por varias razones. (1) Muchos enfermos tienen baja resistencia a las enfermedades infecciosas por causa de su enfermedad (son hospedadores comprometidos; Sección 28.13). Por ejemplo, las unidades de cuidados intensivos proporcionan atención para las enfermedades más agudas y dan cuenta del 24,5% del total de IH. (2) Los hospitales tratan pacientes con enfermedades infecciosas, y estos pacientes pueden ser reservorios de patógenos. (3) La presencia de muchos enfermos en las habitaciones y salas aumenta las posibilidades de infección cruzada. (4) El personal sanitario se mueve de un enfermo a otro, incrementando las probabilidades de transferir patógenos. (5) Los procedimientos hospitalarios tales como la inyección hipodérmica, punción lumbar y extracción de muestras de tejidos (biopsias) o fluidos (extracción de sangre) rompen la barrera de la piel y pueden introducir patógenos en el enfermo. (6) En las salas de maternidad de los hospitales, los niños recién nacidos son especialmente susceptibles a ciertas infecciones porque carecen de mecanismos defensivos bien desarrollados. (7) Los procedimientos quirúrgicos exponen órganos internos a fuentes de contaminación, y el estrés de la cirugía a menudo disminuye la resistencia del enfermo a la infección. (8) Algunos fármacos terapéuticos como los esteroides usados para controlar la inflamación, incrementa la susceptibilidad a la infección. (9) El uso de antibióticos para controlar las infecciones selecciona microorganismos resistentes a antibióticos (Sección 27.12).

Sitios de infección

Los sitios más comunes de IH se muestran en la **Figura 33.9**. De las 99.000 muertes atribuidas a IH en 2002, 36.000 fueron por neumonía, 31.000 por septicemias,

Figura 33.9 Infecciones hospitalarias, agrupadas por localizaciones. Anualmente ocurren en Estados Unidos alrededor de 1,7 millones de infecciones hospitalarias.
Fuente: Klevens et al. Estimated health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals, 2002. *Public Health Reports* 122: 160-166, 2007.

13.000 por infecciones del tracto urinario, 8.000 por infecciones en heridas quirúrgicas y 11.000 en otras localizaciones. Esta distribución y el número de personas infectadas tienen distribuciones anuales similares.

Patógenos asociados a hospitales

Los patógenos asociados a hospitales infectan preferentemente varios sitios en el cuerpo, principalmente el tracto urinario, sangre y tracto respiratorio. Un número relativamente pequeño de patógenos causa la mayoría de las infecciones nosocomiales en estas localizaciones (**Tabla 33.4**).

Uno de los patógenos hospitalarios más importantes y ubicuo es *Staphylococcus aureus*. Es la causa más común de neumonía y la tercera causa más frecuente de infecciones en la sangre. *S aureus* es también especialmente problemático en pediatría. Muchas cepas hospitalarias de *S. aureus* son inusualmente virulentas y resistentes a los antibióticos de uso común, haciendo el tratamiento muy difícil. *S. aureus* y otros estafilococos constituyen conjuntamente la principal causa de septicemias nosocomiales y son también muy prevalentes en las heridas infectadas. La mayoría de los estafilococos se encuentran en el tracto respiratorio superior o en la piel, donde forman parte de la microbiota de muchos individuos, incluyendo enfermos y personal hospitalario.

Escherichia coli es la principal causa de infecciones urinarias en hospitales, pero también son frecuentes las infecciones por especies de *Enterococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Candida albicans*. Normalmente *Enterococcus*, *E. coli*, y *K. pneumoniae* se encuentran sólo en el cuerpo humano. Pero *Candida* y *Pseudomonas* son patógenos oportunistas; se encuentran usualmente en el ambiente y causan enfermedad solo en individuos con las defensas comprometidas. Los aislamientos de *P. aeruginosa* de infecciones hospitalarias son a menudo resistentes a muchos antibióticos distintos, complicando el tratamiento. También *E. coli*, *Staphylococcus* y *Enterococcus* pueden ser resistentes a múltiples fármacos.

Tabla 33.4 Número de infecciones nosocomiales en unidades de cuidados intensivos en los Estados Unidos, por localización y organismos

	Septicemia	*Neumonía*	*Tracto urinario*
Patógeno	***Número***	***Número***	***Número***
Enterobacter spp.	1.083	4.444	1.560
Escherichia coli	514	1.725	5.393
Klebsiella pneumoniae	735	2.865	1.891
Haemophilus influenzae		1.738	
Pseudomonas aeruginosa	841	6.752	3.365
Staphylococcus aureus	2.758	7.205	497
Staphylococcus spp.	8.181		838
Enterococcus spp.	2.967	682	4.226
Candida albicans	1.090	1.862	4.856
Otros patógenos	3.774	12.537	8.075
Número total[a]	**21.943**	**39.810**	**30.701**
% Total	**23,7**	**43,1**	**33,2**

[a] El número total de infecciones nosocomiales en unidades de cuidados intensivos durante un período reciente de 8 años fue 92.454.

Fuente: Informe del Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales, Centros para la Prevención y Control de Enfermedades, Atlanta, Georgia, USA.

33.7 Minirrevisión

Los enfermos en centros hospitalarios son especialmente susceptibles a las enfermedades infecciosas y están expuestos a varios agentes infecciosos. El tratamiento de las infecciones nosocomiales se complica por la reducida resistencia del hospedador, que causa infecciones oportunistas, así como por la presencia de patógenos resistentes a los antibióticos.

- ¿Por qué los pacientes hospitalarios son más susceptibles a los patógenos que los individuos normales?
- ¿Cuál es la fuente de los patógenos en IH?

III EPIDEMIOLOGÍA Y SALUD PÚBLICA

Aquí describimos alguno de los métodos usados para identificar, seguir, contener, y erradicar las enfermedades infecciosas en las poblaciones. También identificamos algunos desafíos importantes, actuales y futuros, de las enfermedades infecciosas.

33.8 Medidas de salud pública para el control de enfermedades

La **salud pública** se refiere a la salud de la población general y a las actividades de las autoridades sanitarias en el control de la enfermedad. La incidencia y prevalencia de muchas enfermedades infecciosas han descendido drásticamente en el siglo pasado, especialmente en los países desarrollados, debido a las mejoras universales en las condiciones básicas de vida. Una mejor nutrición, el acceso a agua potable limpia, la mejoría en el tratamiento de los residuos públicos, condiciones de vida menos promiscuas y mejores condiciones de trabajo han contribuido inconmensurablemente al control de la enfermedad, principalmente reduciendo los factores de riesgo. Varias enfermedades, como la viruela, fiebres tifoideas, difteria, brucelosis y poliomielitis han sido controladas por medidas activas y específicas de salud pública como la cuarentena y la vacunación.

Controles dirigidos frente al reservorio

Cuando el reservorio de la enfermedad reside en animales domésticos, la infección del ser humano puede prevenirse si la enfermedad se elimina de la población animal infec-

tada. La inmunización o destrucción de los animales infectados puede eliminar la enfermedad en los animales y, consecuentemente, en el ser humano. Estos procedimientos casi han eliminado la brucelosis y la tuberculosis bovina en el ser humano. También han sido usados para controlar la encefalitis espongiforme bovina (enfermedad de las vacas locas) en el ganado del Reino Unido, Canadá, y Estados Unidos. En el proceso, se ha mejorado la salud de la población de animales domésticos.

Cuando el reservorio de la enfermedad es un animal salvaje, la erradicación es mucho más difícil. La rabia, por ejemplo, es una enfermedad que ocurre tanto en animales salvajes como domésticos, pero se trasmite a los animales domésticos principalmente a través de los animales salvajes. Por tanto, puede alcanzarse el control de la rabia en los animales domésticos y en el ser humano por inmunización de los animales domésticos. Sin embargo, como la mayoría de los casos de rabia ocurren en animales salvajes mas que domésticos, al menos en Estados Unidos (Sección 35.1), la erradicación de la rabia requeriría la inmunización o destrucción de todos los reservorios de animales salvajes, incluyendo diversas especies como mapaches, murciélagos, mofetas y zorros. Aunque la inmunización oral contra la rabia es práctica y se recomienda para el control de la rabia en poblaciones restringidas de animales salvajes, su eficacia no ha sido comprobada en poblaciones grandes y diversas tales como los reservorios de animales salvajes en Estados Unidos.

Si los reservorios de la enfermedad son insectos como los mosquitos vectores que trasmiten la malaria y la fiebre del Oeste del Nilo, se puede conseguir un control eficaz de la enfermedad eliminando el reservorio con insecticidas u otros agentes. Sin embargo, el uso de agentes químicos tóxicos o carcinógenos puede interferir con aspectos ambientales. En algunos casos la eliminación de un problema de salud pública lo que hace es crear otro. Por ejemplo, el insecticida diclorodifeniltricloroetano (DDT) es muy eficaz frente a los mosquitos y se ha acreditado con la erradicación de la fiebre amarilla y la malaria en América del Norte. Sin embargo, su uso está actualmente prohibido en Estados Unidos debido a consideraciones ambientales. El DDT se usa todavía en muchos países en desarrollo para controlar las enfermedades trasmitidas por mosquitos, pero su uso está disminuyendo en todo el mundo.

Cuando el reservorio de la enfermedad es el ser humano (por ejemplo, el SIDA), el control y la erradicación pueden ser difíciles, especialmente si hay portadores asintomáticos. Por otra parte, ciertas enfermedades que están limitadas al ser humano no tienen fase asintomática . Si éstas pueden ser prevenidas mediante inmunización o tratamiento con fármacos antimicrobianos, la enfermedad puede erradicarse siempre que los que la han contraído y todos sus posibles contactos sean estrictamente puestos en cuarentena, inmunizados y tratados. Esta estrategia fue empleada con éxito por la Organización Mundial de la Salud para erradicar la viruela y se está usando actualmente para erradicar la polio (se discute más adelante).

Controles dirigidos frente a la trasmisión del patógeno

La trasmisión de patógenos por alimentos o agua puede eliminarse previniendo la contaminación de estas fuentes. Los métodos de purificación del agua han reducido drásticamente la incidencia de la fiebre tifoidea. Las leyes de protección de alimentos han disminuido mucho la probabilidad de trasmisión de patógenos al ser humano. Por ejemplo, la pasteurización de la leche ha controlado ampliamente la tuberculosis bovina en el ser humano.

La trasmisión de patógenos respiratorios es difícil de prevenir. Los intentos de desinfección química del aire no han tenido éxito. La filtración del aire es un procedimiento viable pero limitado a áreas pequeñas y cerradas. En Japón, muchos individuos llevan mascarillas en la cara cuando tienen una infección del tracto respiratorio superior para prevenir la trasmisión a otros, pero estos métodos, aunque eficaces, son voluntarios y difíciles de instaurar como medidas de salud pública.

Inmunización

La viruela, difteria, tétanos, tos ferina, sarampión, parotiditis, rubeola y poliomielitis han sido controladas primariamente por medio de la inmunización. Se dispone de vacunas eficaces para algunas otras enfermedades infecciosas (Tabla 30.2). Como se discutió en la Sección 33.5, no es necesario inmunizar al 100% de la población para controlar una enfermedad, aunque el porcentaje necesario para asegurar el control de la enfermedad varia con la infectividad y la virulencia del patógeno y con las condiciones de vida de la población (por ejemplo, la aglomeración).

Las epidemias de sarampión ofrecen un ejemplo de los efectos de la inmunidad de grupo. El resurgimiento ocasional de un virus del sarampión muy contagioso resalta la importancia de mantener niveles apropiados de inmunización frente a un patógeno determinado. Hasta 1963, el año en que se autorizó una vacuna eficaz frente al sarampión, casi todos los niños en Estados Unidos contraían el sarampión como una infección natural con el resultado de más de 400.000 casos anuales. Después de la introducción de la vacuna, el número de infecciones anuales por sarampión descendió precipitadamente (Figura 34.15). El número de casos en 1983 fue tan bajo como 1.497. Sin embargo, en 1990, el porcentaje de niños inmunizados frente al sarampión cayó al 70% y el número de nuevos casos se elevó a 27.786. Tres años después un esfuerzo concertado para aumentar los niveles de inmunización del sarampión por encima del 90% eliminó virtualmente la trasmisión del sarampión endógeno en Estados Unidos, y un total de tan sólo 312 casos fue comunicado en 1993. Actualmente, se comunican cada año alrededor de 100 casos de sarampión en Estados Uni-

dos, mas de la mitad debidos a infecciones importadas por visitantes de otros países.

En Estados Unidos, casi todos los niños están ahora adecuadamente inmunizados, pero hasta un 80% de los adultos carece de inmunidad eficaz frente a enfermedades infecciosas importantes porque la inmunidad debida a las vacunaciones en la infancia declina con el tiempo. Cuando las enfermedades infantiles ocurren en adultos, pueden tener efectos devastadores. Por ejemplo, si una mujer contrae la rubeola (una enfermedad viral prevenible por vacunación) durante el embarazo, el feto puede presentar graves desordenes de desarrollo y neurológicos. Sarampión, parotiditis y varicela son también más graves en adultos que en niños.

Se advierte a todos los adultos que revisen su estado de inmunizaciones y controlen sus registros médicos (si están disponibles) para determinar sus fechas de inmunizaciones. La inmunización del tétanos, por ejemplo, debe renovarse al menos cada 10 años para proveer una inmunidad eficaz. La vigilancia de las poblaciones de adultos ha mostrado que más del 10% por debajo de 40 años y más del 50% por encima de los 60 no están adecuadamente inmunizados. La inmunidad para el sarampión en adultos también debería revisarse. Las personas nacidas antes de 1957 probablemente tuvieron el sarampión cuando niños y son inmunes. Las que nacieron después de 1956 pudieron haber sido inmunizadas, pero la eficacia de estas primeras vacunas fue variable y puede que no haya una inmunidad eficaz, especialmente si la inmunización se hizo antes del primer año de edad. La reinmunización para la polio no se recomienda para adultos salvo que vayan a viajar a países del oeste de África y Asia, donde la polio todavía puede ser endémica o han ocurrido brotes recientes de polio.

Las recomendaciones generales para la inmunización se discutieron en la Sección 30.5 y aquellas para infecciones específicas se discutirán en los Capítulos 34 al 37.

Cuarentena

La **cuarentena** restringe el movimiento de una persona con una infección activa para prevenir la propagación del patógeno a otras personas. La duración de la cuarentena para una enfermedad determinada es igual al mayor período de trasmisión de esta enfermedad. Para ser eficaces, las medidas de cuarentena deben prevenir que el individuo infectado tenga contacto con individuos no expuestos. La cuarentena no es una medida tan severa como el aislamiento estricto, el cual se usa en los hospitales para infecciones raras y enfermedades peligrosas. Por acuerdo internacional hay seis enfermedades que requieren cuarentena: viruela, cólera, peste, fiebre amarilla, fiebres tifoideas y fiebre recurrente. Cada una de ellas es una enfermedad muy grave y muy contagiosa. La propagación de algunas otras enfermedades muy contagiosas tales como la fiebre hemorrágica de Ébola y la meningitis puede también controlarse por cuarentena cuando ocurre un brote.

Vigilancia

La **vigilancia** es la observación, reconocimiento e informe de enfermedades en cuanto ocurren. La **Tabla 33.5** enumera las enfermedades actualmente bajo vigilancia en Estados Unidos. Varias de las enfermedades epidémicas recogidas en la Tabla 33.2 y en la Tabla 33.8 no están en la lista de vigilancia. Sin embargo, otras muchas enfermedades son vigiladas a través de laboratorios regio-

Tabla 33.5 Enfermedades y agentes infecciosos de declaración obligatoria en los Estados Unidos

Enfermedades causadas por bacterias
- Carbunco
- Botulismo
- Brucelosis
- Chancro blando
- *Chlamydia trachomatis*
- Cólera
- Difteria
- Ehrlichiosis
- *Escherichia coli* enterohemorrágica
- *Escherichia coli* O157:H7
- Gonorrea
- *Haemophilus influenza* y enfermedad invasiva equina del este
- Enfermedad de Hansen (lepra)
- Síndrome urémico hemolítico
- Legionelosis
- Listeriosis
- Enfermedad de Lyme
- Enfermedad meningocócica
- Tos ferina
- Peste
- Psitacosis
- Fiebre Q
- Fiebre botonosa
- Salmonelosis
- Shigelosis
- Enfermedad estreptocócica, invasiva, grupo A
- Síndrome del choque tóxico estreptocócico
- *Streptococcus pneumoniae*, resistente enfermedad invasiva
- Sífilis
- Tétanos
- Síndrome de choque tóxico
- Tuberculosis
- Tularemia
- Fiebre tifoidea
- *Staphylococcus aureus* intermedios a vancomicina VISA.
- *Staphylococcus aureus* resistentes a vancomicina (VRSA)

Enfermedades causadas por hongos (mohos, levaduras)
- Coccidioidomicosis
- Criptosporidiosis

Enfermedades causadas por virus
- Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), infecciones pediátricas por VIH
- Encefalitis/meningitis (trasmitida por mosquito)
  - Serogrupo California
  - Equina del este
  - Powassan
  - San Luis
  - Equina del oeste
  - Oeste del Nilo
- Síndrome pulmonar por hantavirus
- Hepatitis A, B, C
- Infección por VIH
  - Adultos
  - Pediátrica (< 13 años)
- Sarampión
- Paperas
- Poliomielitis paralítica
- Rabia en animales y humanos
- Rubeola, síndrome agudo y congénito
- Síndrome agudo respiratorio severo (SARS)
- Viruela
- Varicela
- Fiebre amarilla

Enfermedades causadas por protistas
- Ciclosporiasis
- Malaria
- Giardiasis

Enfermedades causadas por helmintos
- Triquinosis

www.libros.com

nales que identifican los casos índice (aquellos casos de enfermedad que presentan nuevos síndromes o características o que se asocian a nuevos patógenos, indicando un alto potencial para nuevas epidemias).

Los **Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC)** en Estados Unidos, a través del Centro Nacional para Enfermedades Infecciosas (NCID), desarrollan varios programas de vigilancia, como se muestra en la **Tabla 33.6.** Muchas enfermedades se informan a más de un programa de vigilancia. Aunque los informes redundantes pueden parecer al principio innecesarios, una enfermedad puede figurar en varias categorías que

Tabla 33.6 Sistemas de Vigilancia para la notificación y seguimiento de enfermedades infecciosas del Centro Nacional para las Enfermedades Infecciosas (NCID) en los Estados Unidos

Sistema de vigilancia (acrónimo)	*Responsabilidad de vigilancia de la enfermedad*
Sistemas de información en 121 ciudades	Gripe, neumonía y todas las muertes
Núcleo activo de vigilancia bacteriana	Enfermedades bacterianas invasivas
Estudio BaCon	Contaminaciones bacterianas asociadas a trasfusiones de sangre
Proyecto de seguimiento de enfermedades infecciosas en fronteras (BIDS)	Enfermedades infecciosas a lo largo de la frontera US-México
Red de vigilancia de diálisis (DSN)	Infecciones de acceso vascular y resistencia bacteriana en enfermos de hemodiálisis
Sistema electrónico de información e investigación de brotes epidémicos trasmitidos por alimentos (EFORS)	Epidemia por alimentos
EMERGEncy ID NET	Enfermedades infecciosas emergentes
Red de vigilancia activa de enfermedades debidas a alimentos (FOODNET)	Enfermedades por alimentos
Red centinela de las infecciones emergentes globales	Enfermedades emergentes globales
Proyecto de vigilancia de aislamientos gonocócicos	Resistencia antimicrobiana en *Neisseria gonorrhoeae*
Red de alerta en salud	Notificación de amenazas para la salud, especialmente para bioterrorismo
Vigilancia y respuesta integrada a enfermedades (IDSR)	Iniciativa de la organización mundial de la salud (WHO/AFRO) para las enfermedades infecciosas en Africa
Epidemiología de la resistencia a los antimicrobianos en cuidados intensivos (ICARE)	Uso de antimicrobianos y resistencia a ellos en centros clínicos
Red internacional para el estudio y prevención de la emergencia de resistencia a antimicrobianos (INSPEAR)	Emergencia global de microorganismos resistentes a fármacos
Red de respuesta de laboratorios (LRN)	Bioterrorismo, terrorismo químico, emergencias en salud pública
Red de laboratorios de sarampión	Sarampión en América
Sistema nacional de monitorización de la resistencia a los antimicrobianos: Bacterias entéricas (NARMS)	Resistencia a los antimicrobianos en cepas humanas de *Salmonella* no tifoidea *Escherichia coli* O157:H7, y *Campylobacter* procedentes de alimentos y productos agrícolas
Vigilancia nacional de malaria	Malaria en Estados Unidos
Red nacional de subtipaje para la vigilancia de enfermedades trasmitidas por alimentos (PulseNet)	Huella dactilar molecular de bacterias que se transmiten por alimentos
Sistema nacional de vigilancia de infecciones nosocomiales (NNIS)	Infecciones asociadas a centros de salud
Sistema de vigilancia de enfermedades de declaración obligatoria nacional (NNDSS)	Enfermedades infecciosas de declaración obligatoria (*véase* Tabla 33.4)
Sistema nacional de vigilancia de virus respiratorios y entéricos (NREVSS)	Virus respiratorio sincitial (VRS), virus de la parainfluenza humana, adenovirus respiratorios y entéricos, y rotavirus
Sistema nacional de vigilancia de trabajadores de centros de salud (NaSH)	Infecciones profesionales de los trabajadores de los centros de salud
Red nacional de vigilancia y genotipado de la tuberculosis	Genotipado de la tuberculosis
Sistema nacional de vigilancia del virus del oeste del Nilo	Virus del oeste del Nilo
Sistema de información de los laboratorios de salud pública (PHLIS)	Enfermedades de declaración obligatoria
Programa de agentes seleccionados (SAP)	Regulación de agentes potenciales de bioterrorismo
Vigilancia de resistencias emergentes a antimicrobianos conectada con los servicios de salud (SEARCH)	Resistencia emergente a antimicrobianos en centros de salud
Sistema de vigilancia de muertes no explicadas y enfermedades críticas	Enfermedades infecciosas emergentes en todo el mundo
Red de vigilancia de médicos centinelas de la gripe en Estados Unidos	260 centros clínicos que comunican la incidencia y prevalencia de las infecciones gripales
Programa de vigilancia de hepatitis virales (VHSP)	Hepatitis virales
Sistema de vigilancia de brotes de enfermedades trasmitidas por el agua	Enfermedades trasmitidas por el agua

www.medilibros.com

afectan a los planes y políticas de sanidad. Por ejemplo, el informe de estafilococos resistentes a vancomicina al Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales (NNIS) y al CDC como enfermedad notificable (Tabla 33.5) suministra una base de datos nacional. Usando esta información un equipo de infecciones hospitalarias puede formular y poner en marcha planes para el aislamiento, diagnóstico y pruebas de sensibilidad a fármacos de infecciones estafilocócicas para identificar cepas resistentes a antibióticos, detener su propagación y empezar el tratamiento apropiado.

Erradicación de patógenos

Un programa concertado de erradicación de enfermedades fue responsable de la erradicación de la viruela. La viruela era una enfermedad cuyo reservorio consistía únicamente en individuos con la infección aguda, y la trasmisión era exclusivamente persona a persona. Los individuos infectados trasmitían la enfermedad a través del contacto directo con individuos sin exposición previa. Aunque la viruela, una enfermedad viral, no puede ser tratada una vez adquirida, las prácticas de inmunización eran muy eficaces; la vacuna con el virus relacionado vaccinia confería una inmunidad prácticamente completa. La Organización Mundial de la Salud (OMS) puso en marcha el plan de erradicación de la viruela en 1967. Dado el éxito de los programas de vacunación en todo el mundo, la viruela endémica quedó confinada en África, Oriente Medio y el subcontinente indio. El personal del la OMS vacunó entonces a todas las personas en las zonas endémicas que quedaban. Cada brote o sospecha de brote subsiguiente fue detectado por equipos de la OMS, que viajaban al lugar del brote, ponían en cuarentena a los individuos con enfermedad activa y vacunaban a todos los contactos. Para romper la cadena de posibles infecciones, se inmunizó también a cualquiera que hubiese tenido contacto con los contactos. Esta política agresiva eliminó en una década la enfermedad natural activa, y, en 1980, la OMS proclamaba la erradicación de la viruela.

La polio, otra enfermedad viral que es fácilmente prevenible con una vacuna eficaz, fue también elegida para su erradicación (la polio endémica ha sido erradicada del hemisferio Oeste). Usando en su mayor parte la misma estrategia que se utilizó con la viruela, la OMS emprendió un programa de inmunización masiva en los años 60, concentrando los esfuerzos en las zonas endémicas que quedaban. En 2006, los casos conocidos de polio endémica estaban restringidos a Nigeria, India, Pakistán y Afganistán. De 1.500 casos de polio comunicados en 2006, 1.393 estaban en esos países. Los casos restantes se diseminaron entre 11 países de África, Oriente Medio, el subcontinente Indio e Indonesia. Los brotes individuales han sido tratados con inmunizaciones regionales masivas.

La enfermedad de Hansen (lepra), otra enfermedad restringida al ser humano, también está seleccionada para su erradicación. Los casos activos de lepra pueden tratarse ahora eficazmente con una terapia multifármacos que cura al enfermo y previene el contagio de *Mycobacterium leprae*, el agente causal (Sección 34.5).

Otras enfermedades trasmisibles son también candidatas a la erradicación. Entre ellas figuran la enfermedad de Chagas (tratar los casos activos y destruir el insecto vector del parásito *Trypanosoma cruzi* en América tropical) y dracunculiasis (tratar el agua de bebida para prevenir la trasmisión de *Dracunculus medinensis*, el helminto parásito de Guinea, en África, Arabia Saudí, Pakistán y otros lugares en Asia). La erradicación de la sífilis podría ser posible, ya que la enfermedad se encuentra sólo en el ser humano y es tratable. La rabia podría ser erradicada con cebos que lograse la inmunización oral de los carnívoros silvestres que constituyen su reservorio.

33.8 Minirrevisión

Las regulaciones de pureza de alimento y agua, el control de vectores, la inmunización, cuarentena, vigilancia de enfermedades y erradicación de patógenos son medidas de salud pública que reducen la incidencia de las enfermedades trasmisibles.

- Compare las medidas de salud pública para controlar enfermedades infecciosas con insectos reservorios y con portadores humanos.
- Identifique los métodos de salud pública que se usan para detener la propagación de una enfermedad epidémica.
- Señale las etapas que llevaron a la erradicación de la viruela y la polio.

33.9 Consideraciones sobre salud global

La Organización Mundial de la Salud ha dividido el mundo en seis regiones geográficas con el fin de recoger y comunicar información sobre las causas de morbilidad y mortalidad. Estas regiones geográficas son África, las Américas (América del Norte, el Caribe, América Central y América del Sur), el este del Mediterráneo, Europa, Sudeste de Asia y oeste del Pacífico. Ahora compararemos datos de mortalidad de una región relativamente desarrollada, las américas, con los de una región en desarrollo, África.

Las enfermedades infecciosas en las Américas y en África: una comparación

La población actual del mundo es de unas 6.025.000.000 personas. En 2002, murieron alrededor de 57.029.000 individuos, dando una tasa de mortalidad de 9,2 muertes por cada 1.000 habitantes y año. Alrededor de 14,9 millones, o sea, el 26% de esas muertes fueron atribuibles a enfermedades infecciosas. Alrededor de 853 millones de

www.libreriaelsevier.com

personas viven en las Américas. Cada año hay unos 6 millones de muertes, o sea, 7 muertes por cada 1.000 habitantes y año. En África, hay alrededor de 672 millones de personas y unos 10,7 millones de muertes anuales, o sea, 15,9 muertes por cada 1.000 habitantes y año. Aunque ya estas estadísticas dan motivo a la reflexión, un examen de las causas de mortalidad en estas regiones es todavía más inquietante.

La **Figura 33.10** indica que la mayoría de las muertes en África se deben a enfermedades infecciosas, mientras en las Américas, las principales causas de mortalidad son el cáncer y las enfermedades cardiovasculares. En África hay alrededor de 6,7 millones de muertes anuales debidas a enfermedades infecciosas, unas diez veces más que en las Américas. El número de muertes por enfermedades infecciosas en África representa el 12% del total de muertes en el mundo y el 45% de todas las muertes mundiales por enfermedades infecciosas. La espectacular reducción de las tasas de mortalidad por infección observada en los países desarrollados durante el siglo veinte (Figura 1.8) es indudablemente debida a una serie de avances en salud pública. La falta de recursos en los países en desarrollo limita el acceso a un saneamiento adecuado, seguridad en alimentos y agua, inmunizaciones, atención sanitaria y medicinas.

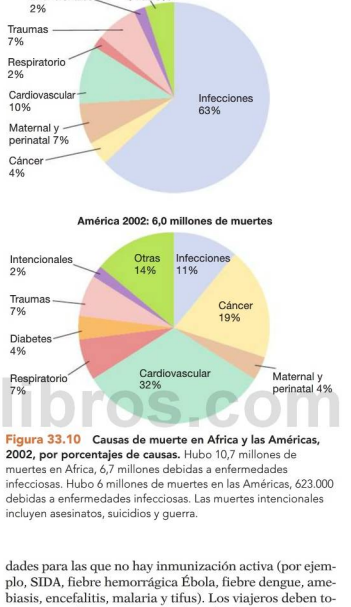


Figura 33.10 Causas de muerte en Africa y las Américas, 2002, por porcentajes de causas. Hubo 10,7 millones de muertes en África, 6,7 millones debidas a enfermedades infecciosas. Hubo 6 millones de muertes en las Américas, 623.000 debidas a enfermedades infecciosas. Las muertes intencionales incluyen asesinatos, suicidios y guerra.

Viajar a áreas endémicas

La alta incidencia de enfermedades en muchas partes del mundo es una preocupación para las personas que viajan a esas áreas. Sin embargo, los viajeros pueden inmunizarse frente a muchas de las enfermedades que son endémicas en países extranjeros. En la **Tabla 33.7** se presentan las recomendaciones de inmunizaciones para viajeros. Por acuerdo internacional, se requieren certificados de inmunización frente a la fiebre amarilla para viajar a o desde áreas con fiebre amarilla endémica. Estas áreas incluyen la mayor parte ecuatorial de América del Sur y África. La mayoría de las otras inmunizaciones no habituales se recomiendan solamente para gente de las que se prevé que van a estar en alto riesgo. En muchas partes del mundo, los viajeros están expuestos a enfermedades para las que no hay inmunización activa (por ejemplo, SIDA, fiebre hemorrágica Ébola, fiebre dengue, amebiasis, encefalitis, malaria y tifus). Los viajeros deben tomar precauciones como evitar las relaciones sexuales sin

medilibros.com

Tabla 33.7 Inmunizaciones requeridas o recomendadas para viajes internacionales[a]

Enfermedad	*Destino*	*Recomendación[b]*
Fiebre amarilla	Países tropicales y subtropicales, especialmente África subsahariana y Sudamérica	*Inmunización requerida* para entrar y salir de las regiones endémicas
Rabia	Áreas rurales, montañosas y de meseta	*Recomendada la inmunización* si se espera contacto directo con carnívoros salvajes
Fiebre tifoidea	Muchos países de África, Asia, América	*Recomendada la inmunización* en áreas endémicas para la fiebre tifoidea

[a] *Centro Nacional para la Salud de los Viajeros en Enfermedades Infecciosas, Departamento de Salud y Servicios Humanos de U.S.*, http://www.cdc.gov/travel/

[b] Generalmente se recomienda la vacunación para la difteria, tos ferina, hepatitis A, hepatitis B, tétanos polio, sarampión, paperas, rubeola, y gripe de acuerdo con la edad del viajero y con su destino. Muchos ciudadanos de EE.UU. están inmunizados frente a estas enfermedades a través de los protocolos normales de inmunización. Los requisitos de vacunaciones específicas para cada país se encuentran en el sitio web. También se hacen recomendaciones para otras medidas preventivas apropiadas frente a enfermedades infecciosas, tales como terapia medicamentosa profiláctica para la prevención de malaria y peste cuando se visitan áreas endémicas. Se requiere inmunización frente a la fiebre amarilla para viajar a o desde áreas endémicas.

protección, evitar picaduras de insectos, beber solamente agua que haya sido tratada adecuadamente para matar todos los microorganismos, comer alimentos apropiadamente almacenados y preparados y someterse a programas de antibióticos y quimioterapia para la profilaxis o para posibles exposiciones.

33.9 Minirrevisión

Las enfermedades infecciosas son responsables del 26% de la mortalidad en todo el mundo. La mayoría de las enfermedades infecciosas ocurren en países en desarrollo. La aplicación de medidas de salud pública puede conseguir el control de las infecciones.

- Contraste la mortalidad debida a enfermedades infecciosas en África y en las Américas.
- Enumere una serie de enfermedades infecciosas para las cuales usted no haya sido inmunizado y con las que pueda entrar en contacto el año próximo.

33.10 Enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes

Las enfermedades infecciosas constituyen un problema de salud global y dinámico. Aquí examinaremos algunos patrones recientes de enfermedades infecciosas, algunas razones por las que estos patrones cambian, y los métodos usados por los epidemiólogos para identificar y hacer frente a los nuevos desafíos de la salud pública.

Enfermedades emergentes y reemergentes

La distribución de las enfermedades a lo largo del mundo puede cambiar rápida y drásticamente. Alteraciones en el patógeno, en el ambiente o en las poblaciones de hospedadores contribuyen a la propagación de nuevas enfermedades, con potencial para morbilidad y mortalidad elevadas. Las enfermedades que de repente llegan a ser prevalentes se denominan enfermedades **emergentes**. Las infecciones emergentes no se limitan a las «nuevas» enfermedades, sino que también incluyen las enfermedades **reemergentes**, que antes habían estado bajo control; las enfermedades reemergentes representan especialmente un problema cuando los antibióticos pierden su eficacia y el sistema de salud pública falla. En la **Figura 33.11** se muestran ejemplos espectaculares recientes de enfermedades globales emergentes y reemergentes. Las enfermedades con potencial para emergencia o reemergencia se describen en la **Tabla 33.8**. Además, las enfermedades epidémicas enumeradas en la Tabla 33.2 tienen potencial para emerger o reemerger como epidemias o pandemias.

Las enfermedades epidémicas emergentes no constituyen un fenómeno nuevo. Algunas enfermedades, como la sífilis (causada por *Treponema pallidum*) y la peste (causada por *Yersinia pestis*), emergieron en el pasado con rapidez e incluso catastróficamente. En la Edad Me-

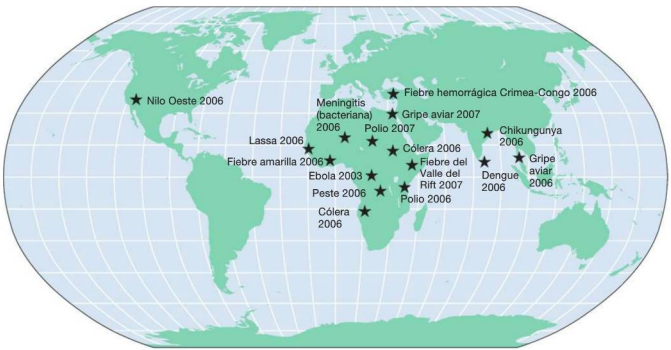


Figura 33.11 Brotes recientes de enfermedades infecciosas emergentes y reemergentes. Las enfermedades emergentes y reemergentes son reconocidas inicialmente como epidemias locales. Aquí se muestran los registros de brotes humanos de enfermedades significativas pero raras. Todas estas enfermedades son capaces de producir epidemias y pandemias. No se muestran las pandemias establecidas, como VIH/SIDA, ni las enfermedades epidémicas predecibles anualmente, como la gripe humana.

Tabla 33.8 Enfermedades infecciosas epidémicas emergentes y reemergentes

Agente	*Enfermedad y síntomas*	*Modo de trasmisión*	*Causa(s) de la emergencia*
Bacterias, Rickettsias y Clamidias			
Bacillus anthracis	Carbunco, alteración respiratoria, hemorragias	Inhalación o contacto con endosporas	Bioterrorismo
Borrelia burgdorferi	Enfermedad de Lyme, exantema, fiebre, anomalías cardiacas y neurológicas, artritis	Picaduras de garrapatas Ixodes infectadas	Incremento de ciervos y población humana en zonas arboladas
Campylobacter jejuni	Enteritis por *Campylobacter*, dolor abdominal, diarrea, fiebre	Ingestión de alimentos, agua, o leche contaminados; trasmisión fecal-oral desde personas o animales infectados	Mejor detección; consumo de aves poco cocinadas
Chlamydia trachomatis	Tracoma, infecciones genitales, conjuntivitis, neumonía infantil	Relaciones sexuales	Aumento de la actividad sexual; cambios en la higiene
Escherichia coli O157:H7	Colitis hemorrágica, trombocitopenia, síndrome urémico hemolítico	Ingestión de alimentos contaminados, especialmente carne de vacuno poco hecha y leche cruda	Desarrollo de un nuevo patógeno
Haemophilus influenzae Biogrupo *aegyptus*	Fiebre púrpura del Brasil, conjuntivitis purulenta fiebre, vómito	Emisión desde personas infectadas; las moscas son posibles vectores	Posible incremento en la virulencia debido a mutación
Helicobacter pylori	Gastritis, úlceras pépticas, posible cáncer de estómago	Agua y alimentos contaminados, especialmente leche no pasteurizada; contacto con mascotas infectadas	Detección mejorada
Legionella pneumophila	Enfermedad de los legionarios: malestar, mialgias, fiebre, dolor de cabeza, alteraciones respiratorias	Sistemas de aire acondicionado, abastecimientos de aguas	Detección en una situación epidémica
Mycobacterium tuberculosis	Tuberculosis: tos, pérdida de peso, lesiones pulmonares; la infección puede extenderse a otros sistemas orgánicos	Gotitas de esputo (emitidas al toser o estornudar) desde una persona con enfermedad activa	Inmunosupresión, Inmunodeficiencia
Neisseria meningitidis	Meningitis bacteriana	Contacto persona-persona	Urbanización, falta de vigilancia de la salud pública local
Staphylococcus aureus	Abscesos, neumonía, endocarditis, choque tóxico	Contacto con el microorganismo que está en una lesión purulenta o en las manos	Detección en una situación epidémica posible mutación
Streptococcus pyogenes	Escarlatina, fiebre reumática, choque tóxico	Contacto directo con personas infectadas o portadores; ingestión de alimentos contaminados	Cambios en la virulencia de la bacteria; posible mutación
Vibrio cholerae	Cólera, diarrea grave, rápida deshidratación	Aguas contaminadas con heces de personas infectadas; alimentos expuestos a aguas contaminadas	Escasa higiene y sanidad; introducido posiblemente vía aguas de sentina de barcos de carga
Virus			
Virus Chikungunya	Fiebre debilitante, nauseas, dolor muscular, fatiga crónica	Picadura de un mosquito infectado (*Aedes* spp. en Africa y Asia)	Escaso control de mosquitos; exposición al aire libre; rápida diseminación a poblaciones no inmunes
Dengue	Fiebre hemorrágica	Picadura de un mosquito infectado (mayoritariamente *Aedes aegypti*)	Escaso control de mosquitos; incremento de urbanización en los trópicos; incremento de viajes aéreos
Filovirus (Marburg, Ebola)	Fiebre hemorrágica fulminante, alta mortalidad	Contacto directo con sangre, órganos, secreciones y semen infectados	Desconocidas; en Europa y Estados Unidos, monos infectados procedentes por vía aérea de países en desarrollo
Hendravirus	Enfermedad respiratoria y neurológica en caballos y humanos	Contacto con murciélagos y caballos infectados	Intrusismo humano en ambientes naturales
Hantavirus	Dolor abdominal, vómito, fiebre hemorrágica	Inhalación de aerosoles de orina y heces de roedores	Intrusismo humano en los nichos ecológicos del virus o de roedores
Hepatitis B	Náuseas, vómitos, ictericia; la infección crónica conduce a carcinoma hepático y cirrosis	Contacto con saliva, semen, sangre y fluido vaginal de una persona infectada; no se conoce el modo de trasmisión a niños	Probable incremento en actividad sexual y abuso de drogas intravenosas; transfusiones (antes de 1978)

www.medilibros.com

Tabla 33.8 ***(continuación)***

Agente	*Enfermedad y síntomas*	*Modo de trasmisión*	*Causa(s) de la emergencia*
Virus			
Hepatitis C	Náuseas, vómitos, ictericia; la infección crónica conduce a carcinoma hepatocelular y cirrosis	Exposición (percutánea) a sangre o plasma contaminados; trasmisión sexual	Detección a través de técnicas de virología molecular; transfusiones de sangre, especialmente en Japón
Hepatitis E	Fiebre, dolor abdominal, ictericia	Agua contaminada	Virus de reciente detección
Virus de la inmunodeficiencia humana: VIH-1 y VIH-2	Enfermedad por VIH, incluyendo SIDA: grave disfunción del sistema inmune, infecciones oportunistas	Contacto sexual con o exposición a sangre o tejidos de una persona infectada; trasmisión vertical	Urbanización; cambios en el estilo de vida o costumbres; aumento del uso de drogas intravenosas; viajes internacionales; tecnología médica (trasfusiones y trasplantes)
Papilomavirus humano	Lesiones en piel y mucosas (verrugas genitales); fuerte asociación con cáncer de cérvix y pene	Contacto directo (contacto sexual o con superficies contaminadas)	Aumento en la vigilancia y la declaración
Virus linfotrópico de células T humanas (HTLV-I y HTLV-II)	Leucemias y linfomas	Trasmisión vertical a través de la sangre o leche materna; exposición a hemoderivados contaminados; trasmisión sexual	Aumento del uso de drogas intravenosas; tecnología médica (trasfusiones y trasplantes)
Virus de la gripe	Fiebre, dolor de cabeza, tos, neumonía	Trasmisión aérea, especialmente en espacios muy concurridos y cerrados	Recombinación del virus animal-humano; cambio antigénico
Virus Lassa	Fiebre, dolor de cabeza, dolor de garganta, náuseas	Contacto con orina o heces de roedores infectados	Urbanización y condiciones que favorecen la infestación por roedores
Virus del sarampión	Fiebre, conjuntivitis, tos, exantema de puntos rojos	Trasmisión aérea, contacto directo con secreciones respiratorias de personas infectadas	Deterioro de la infraestructura de salud pública en la que se apoya la inmunización
Virus de la viruela del mono	Exantema, linfoadenopatía, alteraciones pulmonares	Contacto directo con primates infectados y otros hospedadores	Viajes a zonas endémicas, consumo y manejo de primates y de otros hospedadores infectados
Virus Nipah	Fiebre hemorrágica	Contacto estrecho con murciélagos y cerdos en Malasia	Exposición a animales infectados
Virus Norwalk y Norwalk-like	Gastroenteritis, diarrea epidémica	Principalmente fecal-oral; entre los vehículos se pueden incluir aguas de bebida y de piscinas, y alimentos sin cocinar	Detección mejorada
Virus de la rabia	Encefalomielitis viral aguda	Mordedura de un animal rabioso, contacto con tejido nervioso infectado	Introducción en nuevas zonas de reservorios infectados
Virus del valle del Rift	Alteración febril	Picadura de mosquito infectivo	Importación de mosquitos y/o animales infectados; desarrollo (pantanos, sistemas de riego)
Rotavirus	Enteritis: diarrea, vómito, deshidratación, fiebre baja	Principalmente fecal-oral, también puede darse la fecal-respiratoria	Detección mejorada
Encefalitis equina venezolana	Encefalitis	Picadura de un mosquito infectivo	Movimiento de mosquitos y hospedadores (caballos)
Virus occidental del Nilo	Meningitis, encefalitis	Mosquito *Culex pipiens* y aves hospedadoras	Desarrollo de la agricultura, incrementos de las áreas de reproducción de los mosquitos, rápida propagación a las poblaciones no inmunizadas
Virus de la fiebre amarilla	Fiebre, dolor de cabeza, dolor muscular, náuseas y vómitos	Picadura de un mosquito infectivo *(Aedes aegypti)*	Falta de un efectivo control de los de los mosquitos, y de una adecuada vacunación; urbanización en los trópicos; incremento de los viajes aéreos
Protistas y hongos			
Candida	Candidiasis: infecciones fúngicas del tracto gastrointestinal, vagina y cavidad oral	Microbiota endógena, contacto con secreciones o excreciones de personas infectadas	Inmunosupresión; prácticas médicas (catéteres); uso de antibióticos
Cryptococcus	Meningitis; algunas veces infecciones de pulmón, riñones, próstata, hígado	Inhalación	Inmunosupresión
Criptosporidium	Criptosporidiosis: infección de células epiteliales en el tracto gastrointestinal y respiratorio	Fecal-oral, persona a persona, a través del agua	Desarrollo cerca de zonas inundadas; inmunosupresión

(continúa)

www.medilibros.com

Tabla 33.8 *(continuación)*

Agente	*Enfermedad y síntomas*	*Modo de trasmisión*	*Causa(s) de la emergencia*
Protistas y hongos			
Giardia lamblia	Giardiasis: infección de la parte superior del intestino delgado, diarrea, hinchamiento	Ingestión de alimentos y agua contaminadas con heces	Control inadecuado de algunos abastecimientos de agua; inmunosupresión; viajes internacionales
Microsporidio	Alteraciones intestinales, diarrea; caquexia en personas inmunosuprimidas	Desconocido; probablemente ingestión de agua o alimentos contaminados con heces	Inmunosupresión; detección
Plasmodium	Malaria	Picadura de un mosquito *Anopheles* infectivo	Urbanización; cambios en la biología del protista; cambios ambientales; resistencia a fármacos; viajes aéreos
Pneumocystis carinii	Neumonía aguda	Desconocido; posible reactivación de una infección latente	Inmunosupresión
Toxoplasma gondii	Toxoplasmosis: fiebre, linfoadenopatía, linfocitosis	Exposición a heces de gatos portadores del protista; a veces a través de alimentos	Inmunosupresión; aumento de gatos como mascotas
Otros agentes			
Priones bovinos	Encefalitis espongiforme bovina (BSE) y variante de la enfermedad de Creutzfeld-Jacob (vCJD)	A través de los alimentos	Consumo de carne contaminada

dia, hasta un tercio de la humanidad murió por las epidemias de peste que asolaron Europa, Asia y África. La gripe causó una pandemia devastadora en 1918-1919, atribuyéndosele la pérdida de más de 230 millones de vidas. En los años 80, emergieron la legionelosis (causada por *Legionella pneumophila*), el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) y la enfermedad de Lyme como nuevas enfermedades de importancia. Entre los patógenos emergentes actuales en Estados Unidos figura el virus del Nilo occidental. Las autoridades sanitarias en todo el mundo están preocupadas por el potencial de la gripe aviar para la rápida emergencia de una gripe pandémica.

Factores de emergencia

Algunos factores responsables de la emergencia de nuevos patógenos son (1) la demografía y conducta humanas; (2) la tecnología y la industria; (3) el desarrollo económico y el uso de la tierra; (4) los viajes y comercio internacionales; (5) la adaptación y cambio de los microorganismos; (6) las discontinuidades en las medidas de salud pública; y (7) acontecimientos naturales anormales que alteran el equilibrio hospedador-patógeno.

La demografía de las poblaciones humanas ha cambiado drásticamente en las dos últimas centurias. En 1800, menos del 2% de la población mundial vivía en áreas urbanas. Por contraste, hoy casi la mitad de la población mundial vive en ciudades. El número, tamaño y densidad de población en los centros urbanos modernos facilitan mucho la trasmisión de enfermedades. Por ejemplo, la fiebre dengue (Tabla 33.8) se reconoce actualmente como una enfermedad hemorrágica grave en ciudades tropicales, lo que se debe en gran parte a la diseminación del virus dengue en el mosquito *Aedes aegypti*. Esta enfermedad ahora se propaga como una epidemia de áreas urbanas tropicales. Antes de 1950, la fiebre dengue era rara, presumiblemente porque el virus no se propagaba fácilmente entre una población menor y más dispersa.

La conducta humana, especialmente en grandes centros de población también contribuye a la propagación de la enfermedad. Por ejemplo, las prácticas de promiscuidad sexual en centros de población han contribuido como un factor importante a la propagación de la hepatitis y el SIDA.

Los avances tecnológicos y el desarrollo industrial tienen generalmente un impacto positivo en los niveles de vida en todo el mundo, pero en algunos casos estos avances han contribuido a la propagación de enfermedades. Por ejemplo, aunque se han hecho enormes avances tecnológicos en sanidad durante el siglo veinte, ha habido un espectacular aumento en las infecciones nosocomiales (Sección 33.7). La resistencia de los microorganismos a los antibióticos es otro resultado negativo de las modernas prácticas sanitarias. Por ejemplo, los enterococos y estafilococos resistentes a vancomicina y *Streptococcus pneumoniae* resistente a múltiples fármacos son patógenos emergente importantes en los países desarrollados.

Los métodos de transporte, de procesamiento a gran escala y de distribución central han alcanzado una importancia creciente para asegurar la calidad y la economía en la industria alimentaria. Sin embargo, estos mismos factores pueden incrementar las posibilidades de epidemias de fuente común cuando fallan las medidas de saneamiento. Por ejemplo, una única planta de procesado de carne propagó *Escherichia coli* O157:H7 (Tabla 33.8) al menos a 500 individuos en cuatro estados de los

Estados Unidos. La fuente de contaminación alimentaria, carne picada fue retirada del mercado y la epidemia se contuvo, pero no antes que algunas personas murieran. Hubo un incidente similar con espinacas contaminadas por *Escherichia coli* O157:H7 en una granja en 2006. Las espinacas contaminada con *Escherichia coli* se distribuyeron a través de la nación por una única planta de envasado y causaron enfermedad, fallo renal y algunas muertes; esto impulsó a la Food and Drug Adminstration de Estados Unidos a recomendar que no se consumieran espinacas frescas durante algún tiempo (Sección 37.8 y recuadro microbiológico, «Las espinacas y *Escherichia coli* O157:H7», en el Capítulo 37).

El desarrollo económico y los cambios en el uso del terreno también pueden promover la diseminación de enfermedades. Por ejemplo, la fiebre del Valle del Rift, una infección viral trasmitida por mosquitos, se ha incrementado desde que se completó la presa de Assuan en Egipto en 1970. La presa inundó dos millones de acres y la orilla agrandada incrementó las zonas de apareamiento para los mosquitos. La primera gran epidemia de fiebre del Valle del Rift se desarrolló en Egipto en 1977, estimándose que enfermaron 200.000 personas y 598 murieron. Desde entonces ha habido varios brotes epidémicos en el área, y la enfermedad ha llegado a ser endémica cerca de la presa.

La enfermedad de Lyme, la más común de las enfermedades trasmitidas por un vector en los Estados Unidos, está aumentando notablemente debido a cambios en el uso del terreno (Sección 35.4). La reforestación y el incremento resultante en las poblaciones de ciervos y de ratones (los reservorios naturales para el agente de la enfermedad, *Borrelia burgdorferi*) han tenido como resultado mayores números de garrapatas infectadas, el artrópodo vector. Además, el aumento de casas y áreas recreativas en y cerca de bosques incrementa el contacto entre las garrapatas infectadas y los seres humanos, con el consiguiente incremento de la incidencia de la enfermedad.

Los viajes internacionales y el comercio también afectan a la propagación de los patógenos. Por ejemplo, los filovirus (*Filoviridae*) un grupo de virus RNA, causan fiebres que culminan en enfermedad hemorrágica en los hospedadores infectados. Estas enfermedades virales intratables tienen típicamente unas tasas de mortalidad del 20%. La mayoría de los brotes se han restringido al África central ecuatorial, donde viven los primates hospedadores naturales y otros vectores. El viaje de hospedadores potenciales a y desde las áreas endémicas está implicado generalmente en la trasmisión de la enfermedad. Por ejemplo, uno de los filovirus fue importado a Marburg, Alemania, con un cargamento de monos verdes africanos usados para el trabajo de laboratorio. El virus se propagó rápidamente desde el hospedador primate a algunas de las personas que lo manejaban. Veinticinco personas se infectaron inicialmente y seis más desarrollaron la enfermedad como resultado del contacto con los casos humanos. En este brote murieron siete personas de lo que se conoció después como el *virus Marburg*. Otro cargamento de monos de laboratorio llevó otro Filovirus a Reston, Virginia, en Estados Unidos. Afortunadamente, el virus no era patógeno para el ser humano, pero debido a su modo de trasmisión por las vías respiratorias, el virus de Reston infectó y mató a la mayoría de los monos del animalario de Reston en pocos días. Estos dos Filovirus están estrechamente relacionados con el virus Ébola (Tabla 33.8).

Los brotes esporádicos de Ébola en África central, a menudo caracterizados por tasas de mortalidad mayores del 50% resaltan a un grupo de patógenos virales de fiebre hemorrágica para los cuales no hay inmunidad ni terapia. Estos patógenos pueden diseminarse por el mundo a través de los viajes aéreos en cuestión de días. Un agente respiratorio muy contagioso como el virus de Reston que también tuviese el elevado potencial de mortalidad del virus Ébola podría devastar centros de población en todo el mundo en unas semanas.

La adaptación y el cambio de los patógenos puede contribuir a su emergencia. Por ejemplo, casi todos los virus RNA, incluyendo la gripe, el VIH y los virus de la fiebre hemorrágica experimentan mutaciones genéticas rápidas e impredecibles. Dado que los virus RNA carecen de mecanismos de corrección para los errores cometidos durante la replicación del RNA, incorporan en sus genomas mutaciones a una tasa extremadamente alta comparada con la mayoría de los virus DNA. Los virus RNA pueden plantear grandes problemas epidemiológicos por la facilidad de cambios en sus genomas.

Los mecanismos genéticos de las bacterias son capaces de aumentar la virulencia y promover la emergencia de nuevas epidemias. A menudo, los factores estimuladores de la virulencia se encuentran en elementos genéticos móviles tales como bacteriófagos, plásmidos y transposones. La **Tabla 33.9** enumera algunos factores de virulencia transportados por estos elementos genéticos móviles que contribuyen a la emergencia de patógenos.

La resistencia a fármacos es otro factor en la reemergencia de algunos patógenos bacterianos y virales. Aunque varios fármacos son eficaces frente a ciertas enfermedades virales, la resistencia a estos fármacos es muy común, especialmente entre los virus RNA. Por ejemplo, muchas cepas de VIH desarrollan resistencia a la azidotimidina (AZT) salvo si se usa en combinación con otros fármacos (Sección 34.15).

El quebrantamiento de las medidas de salud pública es responsable a veces de la emergencia o reemergencia de enfermedades. Por ejemplo, el cólera (causado por *Vibrio cholerae*) puede ser adecuadamente controlado, incluso en áreas endémicas, mediante un dispositivo adecuado para las aguas residuales y el tratamiento del agua. Sin embargo, en 1991 un brote de cólera debido a la contaminación del suministro municipal de agua en Perú fue una de las primeras indicaciones de la actual pandemia de cólera en América (Sección 36.5). En 1993 el suministro municipal de agua en Milwaukee, Wisconsin, se contaminó con el protista *Cryptosporidium* ocasionando mas

Tabla 33.9 Factores de virulencia codificados por bacteriófagos, plásmidos y transposones

Elemento genético	*Organismo*	*Factores de virulencia*
Bacteriófago	*Streptococcus pyogenes*	Toxina eritrogénica
	Escherichia coli	Toxina tipo Shiga
	Staphylococcus aureus	Enterotoxinas A, D, E, estafiloquinasa, toxina-1 del síndrome del choque tóxico (TSST-1)
	Clostridium botulinum	Neurotoxinas C, D, E
	Corynebacterium diphtheriae	Toxina diftérica
Plásmido	*Escherichia coli*	Enterotoxinas, factor de colonización de los pili, hemolisina, ureasa, factor de resistencia al suero, factores de adherencia, factores de invasión celular
	Bacillus anthracis	Factor causante de edema, factor letal, antígeno protector, cápsula de ácido poli-D-glutámico
	Yersinia pestis	Coagulasa, fibrinolisina, toxina murina
Transposón	*Escherichia coli*	Enterotoxinas termoestables, sideróforos de aerobactina, operones de hemolisina y pili
	Shigella dysenteriae	Toxina Shiga
	Vibrio cholerae	Toxina colérica

de 400.000 casos de enfermedad intestinal, 4.000 de los cuales requirieron hospitalización. La mejora de los sistemas de filtración libró del patógeno al suministro de agua (Sección 36.6).

Programas inadecuados de vacunación pública pueden conducir al resurgimiento de enfermedades previamente controladas. Por ejemplo, los brotes recientes de difteria en la antigua Unión Soviética fueron el resultado de la inmunización inadecuada de niños susceptibles debido a un fallo en las infraestructuras de salud pública. La tos ferina, otra enfermedad respiratoria infantil prevenible por vacunación, se ha incrementado recientemente en Europa del Este y en Estados Unidos debido a una inmunización inadecuada en los adultos.

Finalmente, los hechos naturales anormales alteran a veces el equilibrio usual entre patógeno y hospedador. Por ejemplo el hantavirus es un patógeno humano bien conocido que se encuentra naturalmente en poblaciones de roedores, incluyendo algunos animales de laboratorio (Sección 35.2). Una serie de casos fatales de infección y enfermedad por hantavirus se comunicó en 1993 en el sudoeste de América y se relacionó con la exposición a excrementos de animales silvestres. La probabilidad de la exposición a excrementos de ratón se incrementó por la existencia de una población de ratones silvestres mayor que la normal, resultante a su vez de un otoño muy lluvioso, una larga estación de crecimiento, y un invierno suave. La incidencia del patógeno se incrementó por las condiciones ambientales favorables. Estos factores aumentaron la probabilidad de exposición para los hospedadores humanos susceptibles.

Respondiendo a las enfermedades emergentes

Muchas de las enfermedades emergentes que hemos considerado aquí no están en la lista oficial de enfermedades de declaración obligatoria en los Estados Unidos (Tabla 33.5). ¿Cómo pueden entonces los responsables de la salud pública definir las enfermedades emergentes y prevenir epidemias importantes?. Las claves para responder a las enfermedades emergentes son el reconocimiento de la enfermedad y la intervención para prevenir la trasmisión del patógeno.

El primer paso para reconocer una enfermedad es la vigilancia. Las enfermedades epidémicas con síndromes clínicos particulares garantizan una vigilancia intensiva de la sanidad pública. Estos síndromes son (1) enfermedades respiratorias agudas, (2) encefalitis y meningitis aséptica, (3) fiebre hemorrágica, (4) diarrea aguda, (5) agrupamientos de casos de fiebre alta, (6) agrupamientos inusuales de casos de cualquier enfermedad o muertes y (7) resistencia al tratamiento con fármacos comunes. Por tanto las nuevas enfermedades se reconocen principalmente por su incidencia epidémica, agrupamientos de casos y síndromes. Cuando se establecen la prevalencia y la patología de una enfermedad emergente, la enfermedad se añade a la lista de enfermedades de declaración obligatoria.

Por ejemplo, el SIDA fue reconocido como una enfermedad en 1981 y llegó a ser enfermedad de declaración obligatoria en 1984. Del mismo modo los brotes de enfermedad gastrointestinal debidos al enteropatógeno *Escherichia coli* O157:H7 se han incrementado en los últimos años, y la cepa se añadió a la lista de enfermedades de declaración obligatoria en 1995 (Tabla 33.5).

La intervención para prevenir la propagación de enfermedades emergentes debe ser una respuesta de la sanidad pública que emplee varios métodos. La intervención específica de la enfermedad es la clave para controlar los brotes individuales. Deben aplicarse métodos como la cuarentena, la inmunización y el tratamiento con fármacos para contener y aislar los brotes de enfermedades específicas. Finalmente, para las enfermedades trasmitidas por vectores y zoonóticas, el hospedador no humano o vector debe ser identificado para permitir la intervención en el ciclo de vida del patógeno e interrumpir la transferencia a humanos. La vigilancia de la salud pública internacional y

los programas de intervención fueron instrumentales en el control de la emergencia del síndrome respiratorio agudo severo (SARS), una enfermedad que emergió rápida, explosivamente y de forma impredecible a partir de una fuente zoonótica (*véase* Información adicional: «SARS como un modelo de éxito epidemiológico»).

33.10 Minirrevisión

Los cambios en el hospedador, vector o condiciones del patógeno, ya sean naturales o artificiales, pueden generar condiciones que faciliten la emergencia explosiva o la reemergencia de enfermedades infecciosas. La vigilancia global y los programas de intervención deben ponerse en marcha para prevenir nuevas epidemias y pandemias.

- ¿Qué factores son importantes en la emergencia o reemergencia de patógenos potenciales?
- Indique métodos generales y específicos que podrían ser útiles para manejar enfermedades infecciosas emergentes.

31.11 Guerra biológica y armas biológicas

La **guerra biológica** es el uso de agentes biológicos para incapacitar o matar una población militar o civil en un acto de guerra o de terrorismo. Las armas biológicas han sido usadas frente a dianas en los Estados Unidos, y se sospecha que hay laboratorios que fabrican armas biológicas en manos de varios gobiernos así como de grupos extremistas.

Características de las armas biológicas

Las armas biológicas son microorganismos o toxinas que son (1) fáciles de producir y de liberar; (2) seguros para los soldados que los usan, y (3) capaces para incapacitar o matar a los individuos atacados de una forma reproducible y consistente. Muchos microorganismos o toxinas biológicas reúnen estos criterios generales y varios de ellos se discutirán más adelante.

Aunque las armas biológicas son potencialmente útiles en manos de fuerzas militares convencionales, lo más probable es que sean utilizadas por grupos terroristas. Esto se debe en parte a la disponibilidad y bajo coste de producción y propagación de muchos de los microorganismos usados como arma biológica. Las armas biológicas son accesibles a casi cualquier gobierno y organización privada bien financiada.

Candidatos a armas biológicas

En principio todas las bacterias y virus patógenos son potencialmente útiles para la guerra biológica, y varios de los mejores candidatos son microorganismos relativamente fáciles de cultivar y diseminar. Los agentes generalmente considerados armas biológicas se presentan en la **Tabla 33.10.** El candidato más comúnmente mencionado es *Bacillus anthracis*, el agente causal del carbunco. Discutiremos el carbunco en la sección siguiente.

Otros candidatos importantes a armas biológicas son *Yersinia pestis*, el microorganismo responsable de la peste, *Brucella abortus* (fiebre y bacteremia), *Francisella tularensis* («fiebre del conejo») y *Salmonella* (enfermedades trasmitidas por agua y alimentos). Entre los patógenos virales con potencial de armas biológicas se encuentran el virus de la viruela, los de fiebres hemorrágicas y los de encefalitis. Estos agentes causan enfermedades asociadas con una morbilidad significativa y algunos tienen altas tasas de mortalidad.

Tabla 33.10 Agentes utilizables en bioterrorismo y enfermedad que producen

Bacterias y rickettsias
Bacillus anthracis (carbunco)
Brucella sp. (brucelosis)
Burkholderia mallei (muermo)
Burkholderia pseudomallei (melioidosis)
Chlamydia psittaci (psitacosis)
Vibrio cholerae (cólera)
Toxina de Clostridium botulinum (botulismo[a])
Clostridium perfringens (toxina épsilon[a])
Coxiella burnetii (fiebre Q)
Escherichia coli O157:H7 (enfermedad gastrointestinal)
Francisella tularensis (tularemia)
Yersinia pestis (Peste)
Enterotoxina B de *Staphylococcus aureus*[a]
Salmonella typhi (fiebre tifoidea)
Salmonella sp. (salmonelosis)
Shigella (shigelosis)
Rickettsia prowazekii (tifus)
Virus
Virus de la viruela (viruela)
Alfavirus (encefalitis viral)
Virus de la encefalitis equina venezolana
Virus de la encefalitis equina del este
Virus de la encefalitis equina del oeste
Virus Nipah
Virus que causan fiebre hemorrágica viral filovirus: Ébola, Marburg arenavirus: Lassa, Machupo hantavirus
Protistas
Cryptosporidium parvum (gastroenteritis a través del agua)
Plantas
Ricinus communis (toxina de ricino [a])

[a] Toxina preformada, el resto de los agentes requieren infección.

Fuente: Centro para la Prevención y Control de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU..

www.medilibros.com

Información adicional

SARS como modelo de éxito epidemiológico

El manejo de la enfermedad epidémica conocida como Síndrome Respiratorio Agudo Grave (SARS, del inglés *Severe acute respiratory disease*) al principio de esta década es un ejemplo excelente de éxito epidemiológico. Igual que otras muchas enfermedades rápidamente emergentes, el SARS fue originalmente una zoonosis viral. Estas características tienen el potencial de desencadenar enfermedades explosivas en el ser humano, cuando los agentes infecciosos cruzan las barreras de especie del hospedador. En muchos casos, los virus originales proceden de un hospedador animal, pero en otros, el hospedador original es desconocido o es tan ubicuo que es prácticamente imposible un adecuado control del vector, y por tanto la enfermedad persiste. Por ejemplo, el virus del Nilo occidental se trasmite a través de mosquitos que pican a pájaros infectados. Aunque las autoridades de salud pública sabían desde el principio que la enfermedad del Nilo occidental era estacional y se relacionaba con mosquitos y pájaros infectados, no pudieron prevenir su diseminación. Por tanto, los casos humanos de la enfermedad del Nilo occidental se propagaron rápidamente a través de Estados Unidos durante un período de cinco años, que empezó en Florida en 2001, y que sigue todavía con nosotros.

En contraste con la enfermedad del Nilo occidental, la epidemia de SARS tuvo un escenario diferente. La epidemia del SARS se originó a finales de 2002 en la provincia Guandong, en China. Durante el siguiente mes de febrero el virus se había propagado a 32 países. Los viajes a través de todo el mundo fueron el vehículo principal para la propagación del SARS. La etiología del SARS fue rápidamente relacionada con un coronavirus derivado de una fuente animal. El coronavirus entró en la cadena de alimentación humana a través de alimentos animales exóticos como la civeta. El coronavirus del SARS (SARS-CoV) mostrado en la **Figura 1**, procedía de los murciélagos. Las civetas consumen frutos contaminados por los murciélagos y adquirieron el virus de esta manera. El SARS-CoV probablemente evolucionó durante un extenso período de tiempo en los murciélagos y desarrolló, de forma completamente accidental, la capacidad para infectar civetas y seres humanos.

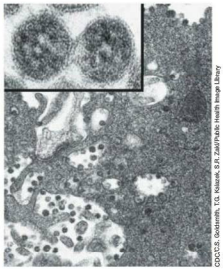


Figura 1 **Coronavirus del síndrome severo respiratorio agudo (SARS-CoV).** *El panel superior a la izquierda muestra viriones aislados SARS-Co. Un virión individual tiene 133 nm de diámetro. El panel grande muestra coronavirus dentro de vacuolas rodeadas por membrana citoplásmica y el retículo endoplásmico rugoso de las células hospedadoras. El virus se replica en el citoplasma y sale de las células a través de vacuolas citoplásmicas.*

Las toxinas bacterianas como la toxina botulínica de *Clostridium botulinum* son también armas biológicas potenciales. La distribución de grandes cantidades de la toxina preformada a una población a través de un vehículo común como el agua de bebida podría tener consecuencias devastadoras: la dosis letal de toxina botulínica para un ser humano es 2 μg o menos.

Viruela

El virus de la viruela tiene un potencial intimidatorio como agente de guerra biológica porque puede propagarse fácilmente por contacto o aerosoles y tiene una tasa de mortalidad del 30% o más. Sin embargo, su potencial de uso como arma biológica se considera bajo, en parte porque las únicas reservas conocidas de virus de la viruela se guardan en Estados Unidos y Rusia, pero queda una pequeña posibilidad de que grupos terroristas o fuerzas militares tengan acceso al virus. Por esta causa, el gobierno de Estados Unidos ha tomado medidas para inmunizar hospitales de primera línea y personal de seguridad pública frente a la viruela. Aunque existe una vacuna extremadamente eficaz frente a la viruela, que usa como inmunógeno al estrechamente relacionado virus vaccinia, esta vacuna no está en uso general desde hace casi 30 años ya que la viruela fue erradicada del mundo en 1977. Además, la vacuna tiene graves efectos colaterales. Como resultado, más del 90% de la población actual del mundo está inadecuadamente vacunada y es susceptible

SARS como modelo de éxito epidemiológico *(continuación)*

Igual que el virus del resfriado común el SARS-CoV es un virus RNA relativamente resistente y de fácil contagio, que resulta difícil de contener. Una vez en el ser humano, el SARS-CoV es muy contagioso porque puede propagarse a través de varias vías, incluyendo la trasmisión persona a persona por estornudo y tos, y por contacto con fomites o heces contaminados. Normalmente, un nuevo virus parecido al del resfriado sería una pequeña preocupación, pero el SARS-CoV causa infecciones con morbilidad y mortalidad significativas. Ha habido cerca de 8,500 infecciones conocidas por el SARS-CoV y más de 800 muertes con una tasa de mortalidad cercana al 10%. En las personas por encima de los 65 años de edad, la tasa de mortalidad se acercó al 50% atestiguando la virulencia del SARS-CoV como patógeno humano. Alrededor del 20% de todos los casos de SARS ocurrieron en personal sanitario, demostrando la alta infectividad del virus. Los métodos de estándares de contención y de control de la infección practicados por el personal sanitario no fueron efectivos para controlar la propagación de la enfermedad. Cuando se tuvo constancia de esto, los enfermos de SARS fueron confinados durante el curso de la enfermedad en aislamiento estricto en habitaciones con presión negativa. Para prevenir la infección, el personal sanitario llevaba respiradores cuando trabajaban con enfermos de SARS o cuando manejaban fomites (ropa de cama, utensilios de comer etc.) contaminados con SARS-CoV.

El reconocimiento y la contención de la enfermedad clínica fue el comienzo de una respuesta internacional que implicó a los clínicos, científicos y autoridades públicas. Casi de inmediato, viajar a y desde las áreas endémicas quedó restringido, lo que limitó posteriores brotes. El aislamiento del SARS-CoV se consiguió con rapidez, y la información obtenida se usó para desarrollar las pruebas de PCR utilizadas en el seguimiento de la enfermedad. Conforme progresaba el trabajo de laboratorio, los epidemiólogos seguían la pista del virus hasta la fuente alimentaria de la civeta en China y detuvieron la trasmisión al ser humano restringiendo la venta de civetas y otros alimentos de origen silvestre. Estas acciones, colectivamente detuvieron el brote.

El SARS es un ejemplo de una infección grave que emergió muy rápidamente de una fuente única. Sin embargo, el rápido aislamiento y caracterización del agente patógeno, seguido del desarrollo inmediato en todo el mundo de procedimientos de notificación y de pruebas diagnósticas, y un esfuerzo concertado para comprender la biología y la genética de este nuevo patógeno permitieron controlar rápidamente la enfermedad; no ha habido otro caso de SARS desde principios de 2004. La rápida emergencia del SARS, y el igualmente rápido y exitoso esfuerzo internacional para identificar y controlar la epidemia, constituyen un modelo para el control de epidemias emergentes.

Conforme se expanden los viajes y el comercio internacionales, las oportunidades para la propagación y rápida diseminación de enfermedades nuevas y exóticas continuarán aumentando. Por tanto, deberíamos anticiparnos a la emergencia de otras graves enfermedades infecciosas zoonóticas, incluyendo la gripe pandémica. Esperamos que las lecciones aprendidas de la epidemia del SARS serán rentables cuando aparezcan otras enfermedades emergentes.

a la enfermedad. La preparación para un ataque potencial con virus de la viruela en Estados Unidos ha incluido recomendaciones para inmunizar a individuos concretos: personas que tendrían contacto estrecho con enfermos de viruela; profesionales que diagnosticarían, cuidarían o transportarían a los enfermos; personal de laboratorio que manipularía las muestras clínicas y otras personas como el personal doméstico que podría estar en contacto con materiales infecciosos de los enfermos de viruela.

Aunque la inmunización con el virus vaccinia es muy eficaz, comporta un riesgo significativo. Las reacciones normales a la vacuna incluyen la formación de una pústula, con una costra que se desprende en dos a tres semanas dejando una pequeña escara. Mucha gente tiene reacciones adversas leves como fiebre y exantemas. La vacunación no está recomendada actualmente a personas con eczema u otras patologías cutáneas agudas o crónicas, enfermedad cardiaca, mujeres embarazadas y los que tienen disminuida su competencia inmunitaria, como los individuos que usan medicaciones con esteroides antiinflamatorios o los que padecen VIH/SIDA.

Alrededor de uno de cada 1.000 individuos vacunados desarrolla serias complicaciones de la vacuna, como miocarditis y eritema multiforme, una respuesta tóxica o alérgica a la vacuna. La vaccinia generalizada (infección sistémica por el virus vaccinia) ocurre ocasionalmente en individuos con patologías de la piel como un eczema.

Una vaccinia progresiva con riesgo para la vida ocurre a veces en individuos vacunados, generalmente en aquellos que estaban inmunosuprimidos por terapia o enfermedad. Por término medio de una a dos personas por millón que reciben la vacuna morirán a causa de una complicación por el virus vaccinia.

Distribución de armas biológicas

La mayoría de los microorganismos apropiados para su uso como armas biológicas pueden ser diseminados como aerosoles, de manera que la propagación será sencilla, rápida y amplia. Algunos ejemplos de exposiciones a aerosoles resultan instructivos.

En 1962, uno de los últimos brotes de viruela en un país desarrollado ocurrió en Alemania. Un trabajador alemán padeció viruela después de regresar de Pakistán, un país con viruela endémica. El individuo fue inmediatamente hospitalizado y puesto en cuarentena, pero el enfermo tenía tos, y los virus aerosolizados causaron enfermedad en 19 individuos vacunados; al menos uno de ellos murió a consecuencia de la infección.

Se han planeado ataques bioterroristas en Estados Unidos y otros países antes incluso del ataque de carbunco en 2001 (Sección 33.12). En 1984, en The Dalles, Oregón (Estados Unidos) se inoculó una ensalada con un cultivo de *Salmonella typhimurium* en forma de aerosol en diez restaurantes locales, causando 751 casos de salmonelosis trasmitida por alimentos en una región que tenía usualmente menos de 10 casos por año. En 1995, un grupo político radical liberó el gas nervioso Sarín en un metro de Tokio, matando a varias personas y produciendo lesiones en otras. Aunque esta fue un arma química, este grupo poseía también cultivos de carbunco, medios bacteriológicos, aviones teledirigidos y depósitos de spray.

La distribución de toxinas bacterianas preformadas como la toxina botulínica o la enterotoxina estafilocócica a grandes poblaciones puede no ser práctica porque las exotoxinas más potentes son proteínas que podrían perder eficacia conforme se diluyen o son destruidas en fuentes comunes como el agua de bebida. Sin embargo, la distribución de toxinas puede dirigirse a individuos seleccionados o a pequeños grupos, o ser liberadas al azar para producir el pánico.

Prevención y respuesta a las armas biológicas

Ya se han iniciado medidas activas frente al empleo de armas biológicas, empezando con esfuerzos planeados periódicamente para actualizar los acuerdos internacionales de la Convención de Armas Biológicas y Tóxicas de 1972. La actualización quinta, la más reciente, fue en 2002. A nivel práctico, los gobiernos son ahora los responsables de la producción a gran escala y de la distribución de vacunas junto con el desarrollo de los planes estratégicos y tácticos para prevenir y contener las armas biológicas.

El gobierno de los Estados Unidos, a través de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades, ha diseñado y potenciado los sistemas de vigilancia del Programa de Agentes Selectos para controlar la posesión y el uso de agentes potenciales de bioterrorismo. La Red de Laboratorios de Respuesta del CDC y la Red de Alertas Sanitarias han sido mejoradas para potenciar sus capacidades diagnósticas e incrementar las capacidades de los centros de salud locales y regionales para identificar con rapidez hechos de bioterrorismo así como enfermedades emergentes.

33.11 Minirrevisión

El bioterrorismo es un desafío en un mundo de rápidas comunicaciones internacionales y en el que la información técnica es fácilmente accesible. Los agentes biológicos pueden ser utilizados como armas por fuerzas militares o por grupo terroristas. Las formas más probables de inoculación son los aerosoles o las fuentes comunes como agua y alimentos. Las medidas de prevención y de contención dependen de una infraestructura de salud pública bien preparada.

- ¿Qué características hacen a un patógeno o sus productos especialmente útil como arma biológica?
- Identifique dos agentes infecciosos que puedan ser amas biológicas eficaces. ¿Cómo podrían diseminarse estos agentes?

ilibros.com

33.12 El carbunco como arma biológica

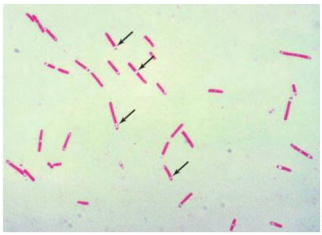
Bacillus anthracis es un agentes favorito para la guerra biológica y el bioterrorismo. Aquí discutiremos sus propiedades únicas, la enfermedad que causa y los métodos para la prevención, diagnóstico y tratamiento.

Biología y cultivo

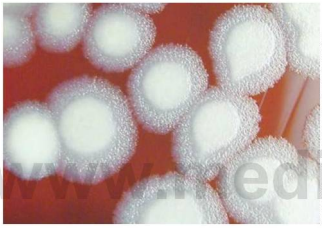
Bacillus anthracis es un habitante del suelo, saprófitico y ubicuo. Crece como un bacilo aerobio grampositivo de 1 μm de diámetro y 3-4 μm de longitud. Como otras especies del género *Bacillus*, *B. anthracis* forma endosporas resistentes al calor y a la desecación (**Figura 33.12a**). La formación de endosporas facilita la posibilidad de diseminar *B. anthracis* con aerosoles. Las endosporas viables se recuperan a veces de productos animales contaminados como la piel. Cuando crece en agar sangre forma colonias grandes con un aspecto característico de «vidrio molido» (Tabla 33.12b). Las cepas que contienen una cápsula de ácido poli-D-glutámico son resistentes a la fagocitosis.

Infección y patogénesis

Las endosporas de *Bacillus anthracis* constituyen el medio estándar de contraer el carbunco. La enfermedad afecta usualmente a los animales domésticos, especial-

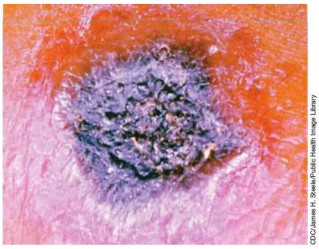


(a)

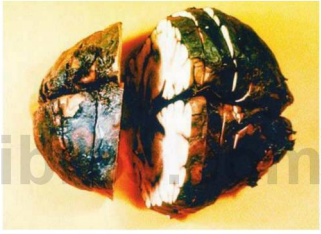


(b)

Figura 33.12 ***Bacillus anthracis.*** *(a) B. anthracis* es un bacilo grampositivo esporulado con aproximadamente 1 mm de diámetro y 3-4 mm de longitud. Notar la presencia de endosporas (flechas). *(b)* Colonias de *B. anthracis* en agar sangre. Las colonias, no hemolíticas, tienen un aspecto de «cristal molido» característico.



(a)



(b)

Figura 33.13 **Carbunco.** *(a)* Carbunco cutáneo. La lesión ennegrecida, de unos 2 cm de diámetro, en el antebrazo de un enfermo es resultado de la necrosis tisular. El carbunco cutáneo, incluso sin tratar, suele ser una infección localizada, no letal. *(b)* Carbunco por inhalación. En el cerebro, fijado y seccionado, de un caso humano fatal de carbunco por inhalación se observa una meningitis hemorrágica (coloración oscura).

www.medilibros.com

mente a los ungulados (vacas, ovejas y cabras). El número de infecciones en animales, aunque considerable, no se conoce. Los animales adquieren la enfermedad en los pastizales, de las plantas o del suelo. En el ser humano y en los animales, hay tres formas de enfermedad: el *carbunco cutáneo* se contrae cuando la piel erosionada se contamina con endosporas de *B. anthracis* (**Figura 33.13a**). El *carbunco gastrointestinal* se contrae por consumo de plantas contaminadas con endosporas o de restos animales infectados con carbunco. Los casos con carbunco cutáneo son ahora raros en Estados Unidos. El carbunco gastrointestinal humano también se ve raras veces. El *carbunco pulmonar* se contrae por inhalación de las endosporas. La inhalación de las endosporas o de bacterias causa una infección pulmonar caracterizada por hemorragias pulmonares y cerebrales (Figura 33.13*b*). Las infecciones de carbunco pulmonar no tratadas tienen una tasa de mortalidad próxima al 100%. Los casos de carbunco pulmonar, incluso entre quienes trabajan en el campo, son extremadamente raros. El último caso de carbunco pulmonar adquirido de forma natural en Estados Unidos ocurrió en 1976. Sin embargo, se identificaron varios casos de carbunco pulmonar en 2001 debidos a acciones de bioterrorismo.

La patogénesis es el resultado de la inhalación de 8.000 a 50.000 endosporas de una cepa capsulada y toxicogénica. El *B. anthracis* produce tres proteínas patogénicas, *antígeno protector* (PA), *factor letal* (LF) y *factor de edema* (EF). PA y LF forman la *toxina letal*. PA y EF forman la *toxina de edema*. PA es el componente B que se une a la célula en este tipo de toxinas AB (Tabla 28.4). EF causa edema y LF causa muerte celular. El crecimiento

de *B. anthracis* en los ganglios linfáticos y en el tejido linfático que drena los pulmones produce edema y muerte celular, que culminan en la destrucción de tejidos, choque y muerte.

Los síntomas clínicos pueden empezar con dolor de garganta, fiebre y dolores musculares. Después de varios días, la sintomatología incluye dificultad para respirar, seguida de choque sistémico. Las tasas de mortalidad pueden aproximarse al 90% incluso cuando se ha detectado la exposición y se ha iniciado el tratamiento, y puede acercarse al 100% en los casos en los que el tratamiento no se empezó hasta el comienzo de los síntomas.

Carbunco armamentístico

El término armamentístico (*weaponized*) se aplica a las cepas y preparaciones de *B. anthracis*, generalmente en forma de endosporas, que tienen propiedades que favorecen la diseminación y el uso como armas biológicas. Estas cepas y preparaciones se desarrollaron en varios países después de la II Guerra Mundial, pero el desarrollo abierto de nuevas armas biológicas fue detenido por el tratado internacional de 1972. Las características físicas de las preparaciones armamentísticas de carbunco incluyen típicamente un pequeño tamaño de partícula, generalmente intercalado con un agente finamente particulado como el talco. Esta forma pulverulenta, de partícula pequeña, asegura que las endosporas se diseminarán fácilmente con las corrientes de aire. Por tanto, al abrir un sobre que contiene endosporas o liberar la mezcla de polvo y endosporas en un sistema de ventilación u otra corriente de aire tiene el potencial de contaminar las áreas y el personal circundante.

Una forma armamentística de carbunco se utilizó en una serie de ataques de bioterrorismo en Estados Unidos en 2001. Estos incidentes se llevaron a cabo con sobres o paquetes de correos que contenían endosporas armamentísticas. Los ataques se dirigieron aparentemente a los medios periodísticos (Florida) y al gobierno (Washington, DC). Un tercer foco de ataque, el área de Pensilvania-New Jersey-New York, no tenía una diana definida, pero interrumpió el servicio de correos en el nordeste; algunas oficinas de correos contaminadas con carbunco seguían fuera de uso dos años después. En total, hubo 22 infecciones con carbunco. Once fueron de carbunco cutáneo. De 11 casos de inhalación de carbunco, 5 fueron mortales. Los bioterroristas no fueron identificados nunca.

Los incidentes en Estados Unidos no fueron las primeras ni las más graves infecciones debidas al carbunco como arma biológica. En un incidente previo, se liberaron inadvertidamente esporas de *B. anthracis* en la atmósfera de un laboratorio de armas biológicas en Sverdlovsk, Rusia, en 1979. Menos de 1 g de endosporas fueron diseminadas, y cada uno de los que se encontraban en el área circundante fue inmunizado y recibió terapia profiláctica con antibióticos tan pronto como se diagnosticó el primer caso de carbunco. Sin embargo, 77 personas contrajeron carbunco pulmonar y 66 fallecieron.

Vacunación, profilaxis, tratamiento y diagnóstico

La vacunación frente al carbunco se ha restringido a los individuos que se consideran en riesgo. Esto incluye a los que trabajan con animales en el campo y al personal militar. La vacuna actual, denominada vacuna adsorbida de carbunco (AVA, del inglés *antrax vaccine adsorbed*), se prepara de un filtrado de cultivo de *B. anthracis* libre de células.

El tratamiento de la infección con *B. anthracis*, que tiene un período de incubación mínimo de 8 días, se hace usualmente con antibióticos. Frente a las cepas resistentes a la penicilina, como muchas cepas de laboratorio y de armas biológicas, se utiliza ciprofloxacina, una quinolona de amplio espectro. La ciprofloxacina se usa también como medida profiláctica para tratar a los individuos potencialmente expuestos.

Hay pruebas rápidas de diagnóstico disponibles para detectar las endosporas bacterianas. Sin embargo, la identificación positiva de *B. anthracis* depende de técnicas de cultivo y de la observación directa ya sea de tejidos infectados o de microorganismos cultivados. El aspecto característico de cristal molido en agar sangre, junto con el aislamiento de bacilos grampositivos formadores de endosporas que crecen formando largas cadenas es una evidencia presuntiva de *B. anthracis* (Tabla 33.12).

33.12 Minirrevisión

Bacillus anthracis ha emergido como un patógeno importante por su uso como arma biológica. Preparaciones de esporas armamentistas altamente infectivas se han usado como agentes de bioterrorismo. La inhalación del carbunco tiene una tasa de mortalidad superior al 90% en los individuos no tratados. La eficacia del tratamiento depende de la rapidez de observación y diagnóstico de los síntomas. El tratamiento del carbunco inhalado no garantiza la supervivencia.

- ¿Qué factores contribuyen a que se prefiera el uso de *B. anthracis* como arma biológica?
- Indique los pasos que habría que dar para identificar el uso de *B. anthracis* en un ataque de bioterrorismo. Indicar los pasos del tratamiento para las víctimas potenciales.

Glosario de términos

Brote: la presencia de un gran número de casos de una enfermedad en un corto espacio de tiempo.

Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, del inglés *Centers for disease Control and prevention*): una agencia del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos que hace el seguimiento de enfermedades, suministra información sobre ellas a los profesionales de la salud y al público, y establece normas para la prevención e intervención de enfermedades.

Crónica: infección de larga duración.

Cuarentena: la práctica de restringir el movimiento de los individuos sospechosos de una infección grave y altamente contagiosa con el fin de prevenir la propagación de la enfermedad.

Enfermedad endémica: una enfermedad que está constantemente presente, usualmente en números bajos.

Epidemia: una enfermedad que ocurre en números inusualmente altos en una población localizada.

Epidemia de fuente común: una epidemia que resulta de la infección de un gran número de personas a partir de una única fuente contaminada.

Epidemia hospedador a hospedador: una epidemia que resulta del contacto persona a persona, caracterizada por una elevación y descenso graduales del número de casos.

Epidemiología: el estudio de la incidencia, distribución y determinantes de salud y enfermedad en una población.

Fomite: un objeto inanimado que, cuando está contaminado con un patógeno viable, puede transferir el patógeno al hospedador.

Guerra biológica: el uso de agentes biológicos para incapacitar o matar seres humanos.

Incidencia: el número de nuevos casos de enfermedad comunicados en una población en un determinado período de tiempo.

Infección aguda: infección de corta duración usualmente caracterizada por un comienzo brusco.

Infección emergente: enfermedad infecciosa cuya incidencia se ha incrementado recientemente o tiende a incrementarse en un futuro próximo.

Infección nosocomial: infección asociada a hospitales.

Infección reemergente: enfermedad infecciosa que se creía bajo control pero que causa una nueva epidemia.

Inmunidad de grupo: la resistencia de una población a un patógeno como resultado de la inmunidad de una gran proporción de la población.

Morbilidad: la incidencia de enfermedad en una población.

Mortalidad: la incidencia de muertes en una población.

Pandemia: una epidemia que se extiende por todo el mundo.

Prevalencia: el número total de casos nuevos y ya existentes de una enfermedad comunicados en una población y un determinado período de tiempo.

Portador: individuo infectado subclínicamente que puede propagar una enfermedad.

Reservorio: una fuente de agentes infecciosos viables de donde pueden contagiarse los individuos.

Salud pública: la salud de una población entera.

Vector: un agente vivo que transfiere un patógeno (véase un uso alternativo en el Capítulo 26).

Vehículo: una fuente no viva de patógenos que infectan gran número de individuos; vehículos comunes son los alimentos y el agua.

Vigilancia: observación, reconocimiento y comunicación de las enfermedades conforme ocurren.

Zoonosis: una enfermedad que ocurre principalmente en animales pero que puede trasmitirse al ser humano.

www.medicos.com

Preguntas de repaso

1. Enumere las cinco causas más comunes de mortalidad debida a enfermedades infecciosas en todo el mundo. ¿Alguna de estas enfermedades puede prevenirse por inmunización (Sección 33.1)?
2. Distinga entre mortalidad y morbilidad, prevalencia e incidencia, y epidemia y pandemia, en cuanto a términos relacionados con las enfermedades infecciosas (Sección 33.2).
3. Explique las diferencias entre un portador crónico y un portado agudo en una enfermedad infecciosa (Sección 33.3).
4. Dé ejemplos de trasmisión hospedador a hospedador de una enfermedad por contacto directo. Dé también ejemplos de trasmisión indirecta hospedador a hospedador a través de agentes vectores y de fomites (Sección 33.4).
5. ¿Cómo puede proteger de adquirir una enfermedad a los miembros no inmunes de una población la inmunidad de una gran proporción de la misma? ¿Funcionará esta inmunidad de grupo frente a enfermedades que tienen una fuente común, como el agua? ¿Por qué o por qué no (Sección 33.5)?
6. Identifique los principales factores de riesgo para adquirir el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en los Estados Unidos. ¿Son válidos estos patrones para todas las regiones geográficas (Sección 33.6)?
7. Los ambientes hospitalarios son propicios para la diseminación de enfermedades infecciosas. Revise las razones para la facilidad de propagación de infecciones en las instalaciones hospitalarias. ¿Cuáles son las fuentes de las infecciones hospitalarias (Sección 33.7)?

8. Describa las principales medidas médicas y de salud pública desarrolladas en el siglo veinte que han sido determinantes para controlar la propagación de las enfermedades infecciosas en los países desarrollados (Sección 33.8).
9. Compare el papel de las enfermedades infecciosas en la mortalidad en países desarrollados y en desarrollo (Sección 33.9).
10. Revise las principales razones para la emergencia de nuevas enfermedades infecciosas. ¿De qué métodos disponemos para identificar y controlar la emergencia de nuevas enfermedades infecciosas (Sección 33.10)?
11. Describa las propiedades generales de un agente de guerra biológica eficaz. ¿Cómo reúne la viruela estos criterios? Identifique otros microorganismos que reúnan los requisitos básicos para ser un arma biológica (Sección 33.11).
12. Describa el uso de *Bacillus anthracis* como un arma biológica. Diseñe un plan para protegerse a sí mismo contra un ataque con *B. anthracis* (Sección 33.12).

Ejercicios prácticos

1. La viruela, una enfermedad que se limitaba a los seres humanos, fue erradicada. La peste, una enfermedad con un reservorio zoonótico en roedores (Tabla 33.2) podría no ser erradicada nunca. Explique estas afirmaciones y si está de acuerdo o no con las posibilidades de erradicación de la peste a nivel global. Diseñe un plan para erradicar la peste en un ambiente limitado como un pueblo o ciudad. Asegúrese de que los métodos usados implican al reservorio, al patógeno y al hospedador.
2. El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es una enfermedad que puede ser eliminada porque se propaga por contacto persona a persona y no se le conocen reservorios animales. ¿Está usted de acuerdo o no con esta afirmación? Explique la respuesta. Diseñe un programa para la eliminación del SIDA de un país desarrollado y de un país en desarrollo. ¿En qué diferirían estos programas? ¿Qué factores podrían operar en contra del éxito de su programa, tanto en términos de conducta humana como de la enfermedad en sí? ¿Por qué continúa creciendo el número de enfermos infectados con VIH y enfermos con SIDA, especialmente en los países en desarrollo? La incidencia (nuevos casos) de VIH/SIDA en los países desarrollados prácticamente no ha cambiado en esta centuria (Figura 33.7). Sin embargo, el número de individuos que viven con SIDA se incrementa. Explicar esta contradicción.
3. Viajar a países en desarrollo supone alguna exposición a enfermedades infecciosas. ¿Qué precauciones generales deben tomarse antes, durante y después de la visita a países en desarrollo? ¿Dónde puede obtenerse información referente a las enfermedades infecciosas en un país concreto? ¿Por qué a su vuelta de un país extraño es usted un riesgo de enfermedad para su familia o sus amigos? Explíquelo.
4. Identifique un patógeno específico que podría ser un agente apropiado para la guerra biológica. Describa las propiedades del patógeno en el contexto de su uso como arma biológica. Describa el equipamiento y otros recursos necesarios para cultivar grandes cantidades del patógeno. Identifique un método apropiado de distribución. Ya que usted propagará y liberará al patógeno, describa las precauciones que tomará para protegerse a sí mismo. Ahora invierta su papel. Como una autoridad de salud pública en su universidad, describa cómo podría reconocer y diagnosticar la enfermedad causada por el agente. Indique las medidas que tomaría para tratar la enfermedad causada por el agente. ¿Cómo podría limitar mejor el daño? ¿Qué métodos de cuarentena y aislamiento serían útiles? ¿Qué se podría hacer respecto de inmunizaciones y antibióticos?

34

Enfermedades microbianas transmitidas de persona a persona

I TRANSMISIÓN DE ENFERMEDADES POR EL AIRE 1076

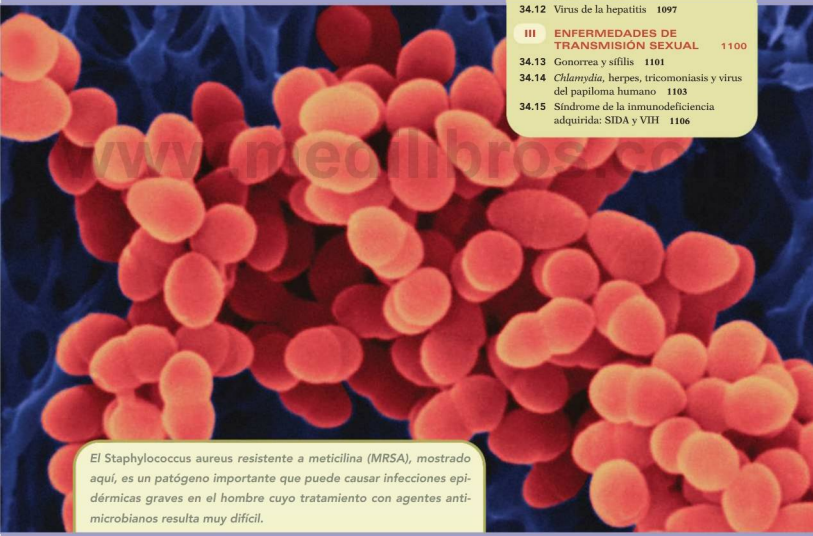
34.1 Patógenos transmitidos por el aire **1076**
34.2 Enfermedades estreptocócicas **1077**
34.3 *Corynebacterium* y difteria **1080**
34.4 *Bordetella* y tosferina **1082**
34.5 *Mycobacterium*. Tuberculosis y enfermedad de Hansen **1083**
34.6 *Neisseria meningitidis*, meningitis y meningococemia **1086**
34.7 Virus e infecciones respiratorias **1087**
34.8 Resfriados **1090**
34.9 Gripe **1091**

II TRANSMISIÓN DE ENFERMEDADES POR CONTACTO DIRECTO 1094

34.10 *Staphylococcus* **1094**
34.11 *Helicobacter pylori* y las úlceras gástricas **1096**
34.12 Virus de la hepatitis **1097**

III ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL 1100

34.13 Gonorrea y sífilis **1101**
34.14 *Chlamydia*, herpes, tricomoniasis y virus del papiloma humano **1103**
34.15 Síndrome de la inmunodeficiencia adquirida: SIDA y VIH **1106**



El Staphylococcus aureus *resistente a meticilina (MRSA), mostrado aquí, es un patógeno importante que puede causar infecciones epidérmicas graves en el hombre cuyo tratamiento con agentes antimicrobianos resulta muy difícil.*

www.medilibros.com

Es probable que en la naturaleza exista más de un millón de especies microbianas, pero solamente unos cuantos centenares causan enfermedades. La mayoría de los microorganismos se desarrollan independientemente, sin interaccionar con otros organismos, aunque varios establecen relaciones beneficiosas mediante estrechas asociaciones con plantas y animales, incluyendo al hombre. Sin embargo, las especies patógenas tienen marcados efectos negativos sobre las especies hospedadoras. En los siguientes cuatro capítulos, analizaremos patógenos humanos representativos y su biología, así como la patología, el diagnóstico, el tratamiento y la prevención de las enfermedades que producen. Nuestro análisis se organiza según el modo de transmisión del patógeno, presentando la enfermedad infecciosa en el contexto de la ecología del patógeno. En este capítulo consideramos enfermedades que se transmiten de persona a persona. En los Capítulos 35 al 37 examinaremos enfermedades cuyos modos de transmisión implican a animales artrópodos como vectores o que proceden de fuentes tan comunes como el suelo, el agua y los alimentos.

En nuestro tratamiento, al estudiar los patógenos según los modos de transmisión de las enfermedades que originan, estableceremos relaciones entre microorganismos aparentemente no relacionados. Por ejemplo, el virus de la influenza y los estreptococos causan enfermedades con síntomas que se solapan, aunque los agentes causales, uno vírico y otro bacteriano, son muy diferentes. Aquí estos patógenos se estudian juntos porque se transmiten de persona a persona por una ruta respiratoria. Mediante este abordaje, estableceremos conexiones entre agentes de enfermedades que son biológicamente diversos pero que están ecológica y biológicamente relacionados.

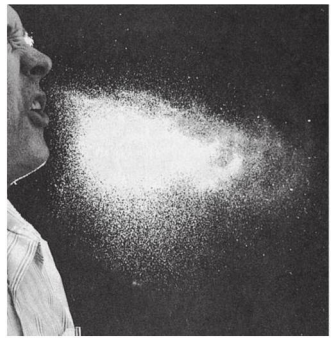

T. D. Brock.

Figura 34.1 Fotografía de alta velocidad de un estornudo.

I TRANSMISIÓN DE ENFERMEDADES POR EL AIRE

Los aerosoles, como los generados por el estornudo (**Figura 34.1**) son vehículos importantes de transmisión de muchas enfermedades infecciosas de una persona a otra. La mayoría de las enfermedades respiratorias se extiende casi exclusivamente de este modo. Por ejemplo, la bacteria *Mycobacterium tuberculosis*, que causa la tuberculosis, emplea esta estrategia para infectar al menos a un tercio de la población mundial. Además, los virus de la gripe y los de los resfriados se propagan tan fácilmente por la vía respiratoria que prácticamente todos los individuos resultan infectados, padeciendo a veces resfriados varias veces al año.

34.1 Patógenos transmitidos por el aire

Los microorganismos del aire proceden del suelo, del agua, de las plantas, de los animales y de otras fuentes. En el aire de ambientes exteriores predominan los microorganismos del suelo. En los interiores, la concentración de microorganismos es considerablemente más alta, especialmente en lo que respecta a los que derivan del tracto respiratorio humano.

Muchos microorganismos sobreviven con dificultad en el aire y por ello algunos patógenos sólo se transmiten eficazmente entre los humanos en distancias cortas. No obstante, otros patógenos resisten condiciones de sequedad y pueden permanecer vivos en el polvo durante largos períodos de tiempo. En general, las bacterias grampositivas (*Staphylococcus*, *Streptococcus*) son más resistentes a la sequedad que las gramnegativas debido al grosor y rigidez de su pared celular. También la capa cérea de las paredes celulares de *Mycobacterium* (Sección 34.5) resiste la sequedad y favorece la supervivencia. Las endosporas de las bacterias esporuladas son muy resistentes a la deshidratación pero normalmente no pasan de persona a persona en la forma de endospora.

Durante el estornudo se genera un gran número de pequeñas gotas de líquido (Figura 34.1) y se produce un número considerable de ellas mientras tosemos o cuando simplemente hablamos. Cada pequeña gota infecciosa tiene un diámetro de unos 10 µm y puede contener una o dos células bacterianas o viriones. La velocidad inicial de estas gotas en un estornudo se aproxima a 100 m/ seg (más de 325 km/h) y es de unos 16-48 m/seg mientras tosemos o hablamos. En un único estornudo, el número de bacterias varía de 10.000 a 100.000. Debido a su pequeño tamaño estas gotas se evaporan rápidamente en el aire, dejando un núcleo de materia orgánica y de mucus al que se adhieren las bacterias.

Infecciones respiratorias

A lo largo de nuestra vida, los humanos respiramos cerca de 500 millones de litros de aire, muchos de los cuales contienen polvo con microorganismos asociados. La velocidad a la que el aire se mueve en el tracto respiratorio es variable, y en la parte inferior la velocidad es muy lenta, lo que favorece que las partículas se depositen. Las partículas mayores se depositan antes que las pequeñas, y solamente las partículas de tamaño inferior a 3 μm logran alcanzar los bronquiolos de la parte inferior del tracto respiratorio (**Figura 34.2**). La mayoría de los patógenos presenta un tamaño menor, y los diferentes organismos suelen colonizar el tracto respiratorio a diferentes niveles. La parte superior y la inferior presentan ambientes distintos que favorecen a microorganismos diferentes.

Bacterias y virus patógenos

La mayoría de los patógenos respiratorios para el hombre se transmiten de persona a persona porque los humanos constituyen su único reservorio; la supervivencia del patógeno depende por tanto de esta transmisión. Unos cuantos patógenos respiratorios, como *Legionella pneumophila* (causante de la enfermedad del legionario) se transmiten fundamentalmente por el agua o por el suelo y no dependen de la propagación entre personas; comentaremos esto en el Capítulo 36. Las infecciones respiratorias por bacterias y virus, aunque son importantes por sí mismas, originan con frecuencia problemas secundarios que pueden resultar mortales. Por tanto, resulta necesario un diagnóstico y un tratamiento rápido y exacto para limitar el daño al hospedador. Muchos patógenos bacterianos y víricos se pueden controlar por inmunización. La mayoría de los patógenos bacterianos responden bien a la terapia con antibióticos, pero los patógenos víricos son más difíciles de tratar.

34.1 Minirrevisión

Los patógenos respiratorios bacterianos y víricos se transmiten por el aire. La mayoría se transfiere de persona a persona mediante aerosoles respiratorios producidos al estornudar, toser, hablar o respirar.

- Identifique características físicas de las bacterias grampositivas que permiten su supervivencia por largos períodos de tiempo en el aire y en el polvo.
- Identifique los patógenos más frecuentemente encontrados en el tracto respiratorio superior y aquellos más frecuentes en el tracto respiratorio inferior.

34.2 Enfermedades estreptocócicas

Las bacterias *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus pneumoniae* son patógenos respiratorios muy importantes para el hombre; ambos se transmiten por vía respiratoria. *S. pneumoniae* se encuentra en la flora respiratoria del 40% de los individuos sanos, y las cepas endógenas pueden producir enfermedades respiratorias graves en individuos debilitados.

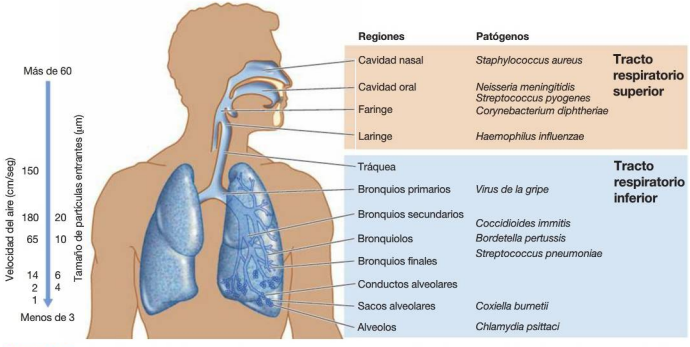


Figura 34.2 **Aparato respiratorio humano.** Los microorganismos señalados inician generalmente la infección en el lugar indicado.

Los estreptococos son cocos grampositivos no esporulados, homofermentativos, aerotolerantes y anaerobios (véase Sección 16.1). Las células de *S. pyogenes* muestran largas cadenas típicas (*véase* Figura 16.3*b*) mientras que las de las cepas patógenas de *S, pneumoniae* suelen crecer en pares o en cadenas cortas, y las cepas virulentas presentan una cápsula polisacarídica muy evidente (**Figura 34.3**).

Streptococcus pyogenes: epidemiología y patogénesis

Streptococcus pyogenes, también denominado *Streptococcus* del grupo A (GAS), se aísla con frecuencia del tracto respiratorio superior de individuos sanos. Aunque el número de *S. pyogenes* suele ser bajo, cuando las defensas del hospedador están debilitadas o se introduce una nueva cepa muy virulenta, se pueden producir infecciones agudas supurativas, formadoras de pus. *S. pyogenes* es el causante de la faringitis estreptocócica o dolor de garganta (Figura 34.2). La mayoría de los aislamientos de casos clínicos de faringitis estreptocócica producen una toxina que lisa los glóbulos rojos en los medios de cultivo, una propiedad que se denomina β-*hemólisis* (*véase* Figura 28.18). La faringitis estreptocócica se caracteriza por un dolor agudo de garganta, inflamación y secreción en las amígdalas, sensibilidad en los nódulos linfáticos cervicales, fiebre poco elevada y malestar general. *S. pyogenes* también puede ocasionar infecciones en el oído medio (otitis), en las glándulas mamarias (mastitis), así como infecciones en las capas superficiales de la piel (piodermatitis o impétigo, que también puede estar ocasionado por *Staphylococcus aureus*) (**Figura 34.4**), y erisipelas, que son infecciones epidérmicas agudas por estreptococos (**Figura 34.5**).

Casi la mitad de los casos clínicos graves de dolor de garganta se deben a *Streptococcus pyogenes,* y el resto a infecciones víricas. Es importante determinar con fiabilidad y de modo rápido la causa del dolor. Si se debe a *S. pyogenes,* se debe proceder a un tratamiento rápido y completo porque la falta de tratamiento puede conducir a enfermedades graves como la escarlatina, la fiebre reumática, la glomerulonefritis aguda y el síndrome del choque tóxico estreptocócico. Por otra parte, si es de origen vírico, el tratamiento con compuestos antibacterianos

Figura 34.4 Lesiones típicas de impétigo. El impétigo está causado generalmente por *Streptococcus pyogenes* o *Staphylococcus aureus.*

ebooks-libros.com

Figura 34.5 Erisipela. La erisipela es una infección cutánea por *Streptococcus pyogenes,* mostrada aquí en la nariz y en los carrillos, que se caracteriza por enrojecimiento y márgenes definidos en la infección.

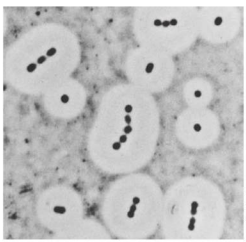


Figura 34.3 El patógeno grampositivo *Streptococcus pneumonia.* Tinción negativa con tinta china. Una gruesa cápsula rodea a las células que tienen cerca de 0,5 μm de diámetro.

(antibióticos) resulta ineficaz y puede favorecer la resistencia a los antibióticos (*véase* Sección 27.12).

Algunas cepas GAS poseen un bacteriófago lisogénico que codifica las exotoxinas pirogénicas SpeA, SpeB, SpeC y SpeF. Estas exotoxinas son las responsables de la mayoría de los síntomas del síndrome del choque tóxico estreptocócico y de la **escarlatina** (**Figura 34.6**). Las toxinas Spe son superantígenos que reclutan masivamente células T a los tejidos infectados (*véase* Sección 30.8). El choque tóxico se produce cuando las células T activadas secretan citoquinas que activan a muchos tipos de células, causando una inflamación generalizada y la destrucción de los tejidos.

En ocasiones, las cepas GAS causan infecciones sistémicas invasivas de tipo fulminante (rápidas y graves) como celulitis, una infección de las capas subcutáneas de la piel, y fascitis necrotizante, una enfermedad rápida y progresiva que origina una destrucción muy extensa de tejido subcutáneo, músculo y tejido adiposo. La fascitis necrotizante es la causa de las dramáticas descripciones de «bacterias comedoras de carne». En estos casos, tanto SpeA, SpeB, SpeC y SpeF, como la proteína M de la superficie bacteriana, funcionan como superantígenos. Esta enfermedad origina inflamación y destrucción tisular generalizada ocasionando la muerte en el 15% de los 11.000 casos anuales que se presentan. En todos estos casos, un adecuado tratamiento temprano de la infección por GAS impide la producción de superantígenos y de sus efectos.

www.micual

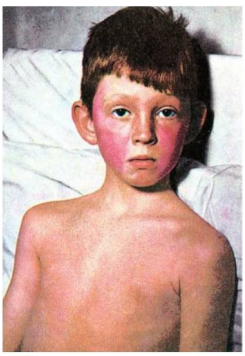


Figura 34.6 **Escarlatina.** Erupción típica de la escarlatina debida a la toxina eritrogénica producida por *Streptococcus pyogenes*.

Otros síndromes estreptocócicos

Las infecciones por *S. pyogenes* no tratadas, o insuficientemente tratadas, pueden conducir al desarrollo de otras enfermedades, incluso en ausencia de una infección activa. Estas enfermedades post-estreptocócicas graves y no supurativas (no formadoras de pus) normalmente se presentan entre 1 y 4 semanas después del inicio de la infección estreptocócica. La respuesta inmune al patógeno invasor produce anticuerpos con reacción cruzada contra antígenos de tejidos del hospedador, como el corazón, las articulaciones y los riñones, ocasionando por tanto daño en estos tejidos. La más importante de estas enfermedades es la **fiebre reumática** causada por cepas reumatogénicas de *S. pyogenes,* Estas cepas contienen antígenos superficiales similares a los de las válvulas del corazón o las articulaciones La fiebre reumática es una enfermedad autoinmune en la que los anticuerpos dirigidos contra los antígenos estreptocócicos reaccionan también contra los antígenos de las válvulas cardíacas y de las articulaciones (*véase* Sección 30.7). El daño a los tejidos del hospedador puede ser permanente y a menudo aumenta por infecciones estreptocócicas posteriores que originan brotes recurrentes de fiebre reumática.

Otra enfermedad no supurativa es la glomerulonefritis aguda post-estreptocócica, una afección del riñón que resulta muy dolorosa. Esta enfermedad inmune se inicia tras la infección por *S. pyogenes* debido a que se forman en la sangre complejos entre los antígeno estreptocócicos y los anticuerpos específicos. Los complejos inmunes se alojan en los glomérulos (sitios de filtración del riñón) originando una inflamación de este órgano (nefritis) acompañada de un intenso dolor. Normalmente los complejos se disuelven en unos días y el paciente vuelve a la normalidad. Por desgracia, incluso un tratamiento antibacteriano periódico no logra evitar la glomerulonefritis. Sólo unas cuantas cepas de *S. pyogenes* —las llamadas cepas nefrotócicas— producen esta dolorosa enfermedad, pero cerca de un 15% de las infecciones con este tipo de cepas ocasiona glomerulonefritis (*véase* Sección 30.7).

Como la infección induce una inmunidad que es específica para cada cepa, la reinfección por una cepa particular de *S. pyogenes* resulta rara. Sin embargo, hay más de 80 cepas diferentes definidas por distintas proteínas celulares M que son superficiales. Por tanto, un individuo puede resultar infectado múltiples veces por cepas diferentes de *S. pyogenes*. No existen vacunas disponibles para prevenir las infecciones por *S. pyogenes*.

Diagnóstico de *Streptococcus pyogenes*

De un dolor de garganta por estreptococos se pueden derivar importantes daños al hospedador, por lo que se han desarrollado varios sistemas de detección rápida (RAD, del inglés *rapid antigen detection*) para identificar *S. pyogenes*. Primero, se extraen directamentelos antígenos de un hisopo con el que se ha realizado un frotis de la garganta del paciente, por métodos enzimáticos o químicos. Después, se detectan los antígenos mediante anticuerpos específicos contra las proteínas superficiales de *S. pyoge-*

nes con métodos inmunológicos como la aglutinación con bolas de látex, la inmunofluorescencia y el enzimoinmunoensayo (ELISA) que se describen en el Capítulo 32. Mediante estas técnicas las muestras clínicas se procesan y analizan rápidamente, a veces en minutos. Estos procedimientos de diagnóstico rápido permiten al médico iniciar una terapia antibiótica inmediata para evitar infecciones serias por GAS y complicaciones como la fiebre reumática.

Una confirmación más exacta de la infección por GAS es el cultivo de muestras tomadas de la garganta en medio de cultivo con agar sangre (*véase* Figura 28.18). Aunque las pruebas RAD son casi tan específicas como los cultivos de garganta, pueden mostrar hasta un 40% menos de sensibilidad, conduciendo a falsos resultados negativos. Los cultivos requieren un proceso de hasta dos días de duración, lo que justifica la popularidad comparativa de las pruebas RAD. Las pruebas serológicas son las más sensibles para identificar infecciones estreptocócicas recientes. Los pacientes se examinan para presencia o aumento de anticuerpos contra antígenos estreptocócicos (incremento en el título). La detección de nuevos anticuerpos o el aumento en la cantidad de los existentes confirma una infección reciente por estreptococos (*véase* Sección 32.5).

Streptococcus pneumoniae

La otra especie patógena importante, *Streptococcus pneumoniae*, causa infecciones pulmonares invasivas que a menudo ocasionan infecciones secundarias con desórdenes respiratorios. Las cepas capsuladas de *S. pneumoniae* son particularmente patógenas por su potencial capacidad invasiva. Las células invaden los tejidos alveolares de los pulmones (tracto respiratorio inferior), donde la cápsula las capacita para resistir la fagocitosis e inducir en el hospedador una fuerte respuesta inflamatoria. La función pulmonar reducida, denominada neumonía, es el resultado de la acumulación a ese nivel de células fagocíticas reclutadas y de líquido. Las células de *S. pneumoniae* pueden extenderse después desde el foco de infección en forma de bacteremia, ocasionando a veces infecciones óseas, del oído interno y endocarditis. La neumonía invasiva no tratada tiene una tasa de mortalidad de un 30%. Incluso con un tratamiento antimicrobiano agresivo, la mortalidad en los individuos hospitalizados con neumonía neumocócica alcanza hasta el 10%.

El diagnóstico de laboratorio de *S. pneumoniae* se basa en el cultivo de diplococos grampositivos a partir de la sangre o de esputos del paciente. Existen más de 90 serotipos diferentes (debidos a variantes en los antígenos capsulares) y, como en el caso de *S. pyogenes*, la infección induce inmunidad solamente contra el serotipo de la cepa del *S. pneumoniae* infectante.

Prevención y tratamiento

Se dispone de una vacuna eficaz para prevenir la infección de, al menos, dos tercios de las 90 cepas conocidas de *S. pneumoniae*, que incluyen todas las cepas patógenas más frecuentes. La vacuna contiene una mezcla de los polisacáridos capsulares de las cepas patogénicas más comunes. La vacuna se recomienda en ancianos, cuidadores sanitarios, individuos con inmunidad comprometida y en otras personas con alto riesgo de infecciones respiratorias (*véase* Sección 30.5).

Los agentes de elección para el tratamiento de infecciones por GAS son las penicilinas y sus derivados. La eritromicina y otros antibacterianos se emplean en pacientes que muestran alergia a la penicilina. La mayoría de las cepas de *S. pneumoniae* responden rápidamente a la terapia con penicilinas. Sin embargo, son bastante frecuentes las cepas resistentes a la penicilina entre aquellas que causan infecciones de importancia sanitaria. Por tanto, los aislamientos individuales deben ser probados respecto a su sensibilidad a la penicilina. La eritromicina es el mejor antibiótico en el caso de organismos resistentes a penicilina, pero también pueden usarse fluoroquinolonas, cefalosporinas, ceftriaxon, cefotaxim o vancomicina. No obstante algunas de estas cepas también han adquirido resistencia a cada uno de estos compuestos, manifestando una resistencia múltiple que destaca la conveniencia de probar cada aislamiento de forma individual. La enfermedad invasiva causada por *S. pneumoniae* con resistencia múltiple es actualmente una enfermedad descrita en los Estados Unidos con más de 2.500 casos descritos anualmente. Casi la mitad de éstos corresponden a niños de edad menor a 5 años.

34.2 Minirrevisión

Las enfermedades causadas por estreptococos incluyen la faringitis estreptocócica y la neumonía neumocócica. En ocasiones, las infecciones por *Streptococcus pyogenes* evolucionan desde una faringitis hasta condiciones graves como la escarlatina y la fiebre reumática. La neumonía causada por *Streptococcus pneumoniae* es una enfermedad grave con elevada mortalidad. El diagnóstico definitivo de ambos patógenos se logra mediante cultivo. Las infecciones por estos patógenos se tratan con antimicrobianos, pero con frecuencia existen cepas resistentes de *S. pneumoniae*.

- ¿Cómo causa fiebre reumática una infección por *S. pyogenes*?
- ¿Cuál es el principal factor de virulencia de *S. pneumoniae*?

34.3 *Corynebacterium* y difteria

Corynebacterium diphtheriae es la causa de la *difteria*, una enfermedad respiratoria grave que típicamente afecta a niños y que se puede prevenir y tratar. *C. diphtheriae* es una bacteria grampositiva inmóvil y aerobia que forma

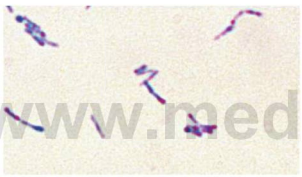
bacilos irregulares que durante el crecimiento pueden semejar palos de golf (**Figura 34.7***a*) (*véase* Sección 16.4).

Epidemiología y patología

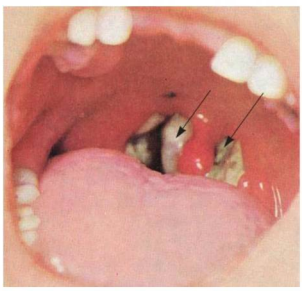
Corynebacterium diphtheriae penetra en el cuerpo por la ruta respiratoria y sus células se alojan en la garganta y las amígdalas. El organismos se transmite normalmente desde transportadores sanos o desde individuos infectados hasta personas susceptibles por medio de gotículas aéreas. La infección previa o la inmunización confiere resistencia a los potentes efectos de la exotoxina diftérica. Aunque el mecanismo de adhesión de las células de *C. diphtheriae* a los tejidos del tracto respiratorio superior no está claro, el organismo produce una neuraminidasa capaz de hidrolizar el ácido N-acetilneuramínico (que es un componente de las glicoproteínas superficiales de las células animales), lo que puede favorecer el proceso de invasión. La respuesta inflamatoria de los tejidos de la garganta tras la infección por *C. diphtheriae* origina la formación de una lesión característica llamada *seudomembrana* (Figura 34.7*b*), formada por células dañadas del hospedador y por células de *C. diphtheriae*. Las cepas patógenas de *C. diphtheriae* lisogenizadas por el bacteriófago, producen la toxina diftérica, que es una potente exotoxina que inhibe la síntesis proteica en eucariotas y por consiguiente mata a las células (*véase* Figura 28.20).

La muerte del tejido debida a la adsorción de la toxina origina la aparición de la seudomembrana en la garganta del paciente. Esta seudomembrana puede bloquear el paso del aire, y la muerte por difteria suele deberse a los efectos combinados de una asfixia parcial y de la destrucción tisular por la exotoxina. En las infecciones sin tratamiento, la toxina puede causar un daño sistémico al corazón (cerca del 25% de los pacientes de difteria desarrollan miocarditis), a los riñones, al hígado y a las glándulas suprarrenales.

Aunque hace tiempo la difteria constituía una importante enfermedad infantil, en la actualidad es rara debido a la disponibilidad de una vacuna efectiva. En Estados Unidos y en otros países desarrollados la enfermedad prácticamente ha desaparecido. A nivel mundial, aún se presentan 5.000 casos mortales de difteria al año, debido sobre todo a la inexistencia de un programa eficaz de inmunización en África y en el sudeste de Asia.



(a)



(b)

Figura 34.7 **Difteria.** *(a)* Células de *Corynebacterium diphtheriae* mostrando su típica apariencia de palos o golf o palillos de tambor. Estas células grampositivas tienen 0,5-1 μm de diámetro y pueden tener varias micras de longitud. *(b)* Pseudomembrana (flechas) en un caso de difteria causado por *C. diphtheriae*.

Diagnóstico, prevención y tratamiento

El diagnóstico de la difteria es el aislamiento de *Corynebacterium diphtheriae* de la garganta. Se utilizan los frotis de nariz o de garganta para inocular un medio agar sangre, un medio con telurito o el medio selectivo de Loeffler que inhibe el crecimiento de la mayor parte de otros patógenos respiratorios.

La protección contra la difteria se logra mediante una vacuna muy efectiva que se prepara tratando la exotoxina diftérica con formalina para obtener un toxoide inmunogénico. El toxoide de la difteria forma parte de la vacuna triple bacteriana **DTaP**, (que contiene los toxoides de la difteria y del tétanos y una preparación acelular de β-*pertussis* contra la tosferina). Se han autorizado vacunas alternativas con una dosis reducida de toxoide diftérico para adolescentes y adultos que inducen una inmunidad adecuada con menores efectos secundarios en dicha población (*véase* Sección 30.5).

Los pacientes diagnosticados con difteria se tratan con antibióticos. La penicilina, eritromicina y gentamicina son generalmente eficaces para detener el crecimiento de *C. diphtheriae* y la producción de la toxina, pero no alteran los efectos de la toxina preformada. La antitoxina diftérica (que es un antisuero producido en caballos) contiene anticuerpos neutralizantes pero se utiliza sólo en casos graves y agudos de difteria. Se requiere una administración temprana tanto de antibióticos como de antitoxina para tratar eficazmente la enfermedad aguda.

www.medilibros.com

34.3 Minirrevisión

La difteria es una enfermedad respiratoria aguda causada por la bacteria grampositiva *Corymebacterium diphtheriae*. La inmunización en edad infantil es eficaz en la prevención de esta grave enfermedad respiratoria.

- La patogénesis de la difteria, ¿es debida a la infección?
- ¿Cómo puede evitarse la difusión de la difteria?

34.4 *Bordetella* y tosferina

La tosferina es una enfermedad respiratoria grave causada por la infección de *Bordetella pertussis*, un cocobacilo pequeño, gramnegativo y aerobio, que pertenece a las Betaproteobacterias (*véase* Tabla 15.1). *B. pertussis* fue identificada en 1906 como la causa de la tosferina por el francés Jean Baptiste Bordet y el belga Octave Gengou.

Epidemiología y patología

La tosferina es una enfermedad respiratoria aguda y muy infecciosa que se observa con frecuencia en edad escolar antes de los 19 años. Los niños menores de 6 meses, que son demasiado jóvenes para ser vacunados con efectividad, presentan la mayor incidencia de la enfermedad y también la forma más grave. *B. pertussis* se une a las células del tracto respiratorio superior produciendo un factor específico de adherencia llamado *antígeno hemaglutinante filamentoso* que reconoce una molécula complementaria en la superficie de las células del hospedador. Tras la unión, *B. pertussis* crece y produce la *exotoxina de la tosferina*. Esta toxina es muy potente e induce la síntesis de adenosina monofosfato cíclico (AMP cíclico) que es responsable, al menos en parte, de los mecanismos que llevan a la destrucción del tejido del hospedador.

B. pertussis también produce una endotoxina que puede inducir algunos de los síntomas de la enfermedad. Clínicamente, la tosferina se caracteriza por una tos violenta y recurrente que puede durar hasta 6 semanas. La tos espasmódica da nombre a la enfermedad, y los sonidos producidos por el paciente derivan de respiraciones profundas para obtener aire suficiente. A nivel mundial se presentan 50 millones de casos y 300.000 muertes al año por tosferina, sobre todo en países sin desarrollar.

Tendencias actuales de la tosferina

En Estados Unidos, desde 1980, se registra un aumento de infecciones por *B. pertussis* y de la enfermedad, invirtiéndose la tendencia iniciada con la introducción de la vacuna. En 1976, que fue el año de menor incidencia, sólo se describieron 1.010 casos de tosferina. En cambio, en 2005 hubo 25.616 casos (**Figura 34.8**). En Estados Unidos la tosferina causa unas 14 muertes al año. Casi el 60% de los casos recientes afectó a adolescentes y adultos

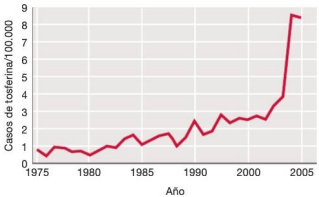


Figura 34.8 La tosferina en Estados Unidos. La incidencia de tosferina causada por infecciones respiratorias con *Bordetella pertussis* aumenta rápidamente por cada 100.000 habitantes. En 2005 hubo 25.616 casos, predominando la enfermedad en niños y escolares, y triplicando el número del año 2001. Datos de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU.

que carecían de inmunidad apropiada, y el 13% de los casos correspondió a niños menores de 6 meses que aun no habían recibido todas las dosis recomendadas de la vacuna. La amenaza de esta enfermedad tan contagiosa es elevada, como ilustran los recientes brotes esporádicos en algunas ciudades de Estados Unidos y brotes epidémicos en Afganistán. Hasta el 32% de los casos de tos permanente, que dura al menos 1-2 semanas, pueden estar causados por *B. pertussis*. Las investigaciones señalan que los programas globales de inmunización se deberían dirigir todavía a la población infantil, pero que la inmunización de los adolescentes y adultos debería constituir igualmente una prioridad, porque los individuos vacunados pierden la inmunidad efectiva en 10 años. En la actualidad resulta necesaria la vacunación en un porcentaje elevado de todos los miembros de la población para crear una inmunidad global adecuada (*véase* Sección 33.5) y evitar así infecciones graves por este patógeno respiratorio endémico.

Diagnóstico, prevención y tratamiento.

El diagnóstico de la tosferina puede hacerse por tinción inmunofluorescente de una muestra nasofaríngea o por cultivo directo del organismo. Para cultivar mejor *B. pertussis*, se inocula directamente un aspirado nasofaríngeo en una placa con medio sangre-glicerol-extracto de patata (aunque no es selectivo, este medio proporciona una buena recuperación de *B. pertussis*). Las colonias β-hemolíticas formadas por pequeños cocobacilos gramnegativos se analizan para ver si se trata de *B. pertussis* mediante una prueba de aglutinación con bolas de látex o por tinción con un anticuerpo fluorescente específico. La prueba diagnóstica preferida y la más sensible es una reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Las mejoras en el diagnóstico y en la descripción de la enfermedad también pueden ser una razón para el reciente aumento ob-

servado en los Estados Unidos, pero la enfermedad puede continuar siendo considerada inadecuadamente entre adolescentes y adultos.

Parte de la vacuna triple DTaP contiene proteína derivada de *B. pertussis*. Esta vacuna se suministra normalmente a los niños en edad temprana a intervalos apropiados (*véase* Sección 30.5). La vacuna acelular contra la tosferina tiene menos efectos secundarios que otras más antiguas y no ha causado muertes. Además de su empleo en niños, también se recomienda en adolescentes y en algunas poblaciones de adultos (trabajadores sanitarios y de la infancia).

Los cultivos de *B. pertussis* mueren con ampicilina, tetraciclina y eritromicina, aunque los antibióticos por sí solos no parecen ser capaces de eliminar al patógeno *in vivo*. Un paciente con tosferina permanece infeccioso 2 semanas después del inicio del tratamiento con antibióticos, lo que sugiere que la respuesta inmune puede ser más importante que los antibióticos para eliminar a *B. pertussis* del cuerpo.

34.4 Minirrevisión

En Estados Unidos se registra un reciente aumento en el número de casos anuales de tosferina. Los niños, adolescentes y adultos inadecuadamente inmunizados suponen un riesgo para la adquisición y extensión de esta enfermedad.

- ¿Qué medidas pueden tomarse para que disminuya la incidencia actual de tosferina en una población?
- Indique problemas potenciales asociados al uso de vacunas contra la tosferina.

34.5 *Mycobacterium*, tuberculosis y enfermedad de Hansen

La tuberculosis (TB) la origina el bacilo grampositivo y ácido-resistente *Mycobacterium tuberculosis* (*véase* Sección 16.5). En 1882, el famoso microbiólogo alemán Robert Koch aisló y describió el agente causal (*véase* Sección 1.8). Una especie relacionada de *Mycobacterium*, *Mycobacterium leprae*, causa la enfermedad de Hansen (lepra). Todas las micobacterias comparten la propiedad de ser ácido-resistentes debido a la presencia de ácidos micólicos en su pared celular. Los ácidos micólicos permiten a estos organismos retener el colorante rojo fucsina básica fenicada incluso después de lavados con 3% de ácido clorhídrico en alcohol (**Figura 34.9**; *véase* Sección 16.5).

Epidemiología

Mycobacterium tuberculosis se transmite fácilmente por vía respiratoria e incluso en una conversación normal puede pasar de una persona a otra. La tuberculosis llegó a ser la enfermedad infecciosa más importante en el hombre y representó la séptima parte de todas las muertes registradas a nivel mundial. En la actualidad, se presentan cada año 14.000 nuevos casos de tuberculosis en Estados Unidos y más de 700 muertes. En todo el mundo, la TB todavía causa casi 1,6 millones de muertes al año, es decir, un 11% de todas las muertes debidas a enfermedades infecciosas (*véase* Tabla 33.1). Un tercio de la población mundial ha estado infectada por *M. tuberculosis*. En Estados Unidos, se presentan muchos nuevos casos de TB en pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

Figura 34.9 ***Mycobacterium avium*** **en la biopsia de un nódulo linfático de un enfermo de SIDA con tinción de Ziehl-Neelsen**. Dentro de cada célula se observan múltiples bacilos teñidos de rojo con fucsina básica fenicada. Cada bacilo individual tiene 0,4 μm de diámetro y hasta 4 μm de largo.

Patología

La interacción entre el hombre y la bacteria viene determinada por la virulencia de la cepa y la resistencia del hospedador. La inmunidad mediada por células juega un papel importante en la prevención de la enfermedad activa tras la infección. La tuberculosis se puede considerar como una infección *primaria* (inicial) o como una infección *postprimaria* (reinfección). La infección primaria suele ser el resultado de inhalar pequeñas gotas que contienen bacterias viables de *M. tuberculosis* desde un individuo con una infección pulmonar activa. Las bacterias incorporadas se depositan y crecen en el pulmón. El hospedador responde con una respuesta inmune frente a *M. tuberculosis* que origina una reacción de hipersensibilidad tardía (*véase* Sección 30.7) y la formación de agregados de macrófagos activados, denominados *tubérculos* (*véase* Figura 1.16). Las micobacterias son capaces de sobrevivir y crecer dentro de los macrófagos incluso cuando está en marcha la respuesta inmune. En individuos con una resistencia baja, las bacterias no resultan con-

www.medil

troladas y la infección pulmonar se convierte en aguda, ocasionando una destrucción masiva del tejido pulmonar, la diseminación de la bacteria a otras partes del cuerpo, y la muerte. En estos casos, *M. tuberculosis* sobrevive al bajo pH y a los productos oxidantes antibacterianos que se encuentran en los lisosomas de los fagocitos como los macrófagos.

Sin embargo, en la mayoría de los casos de TB no se evidencia una infección aguda. La infección permanece localizada, suele ser inaparente y parece desaparecer. Pero esta infección inicial sensibiliza al hospedador frente a la bacteria o sus productos y altera la respuesta del individuo a posteriores exposiciones de *M. tuberculosis*. Se puede usar una prueba diagnóstica cutánea, llamada **prueba de la tuberculina**, para medir esta hipersensibilidad. En un individuo sensibilizado, la tuberculina, que es un extracto proteico de *M. tuberculosis*, induce una reacción local inmune de tipo inflamatorio en el sitio de inyección intradérmica a los 1-3 días. La reacción se caracteriza por induración e inflamación (edema) (*véase* Figura 30.6*b*). Un individuo con esta reacción se denomina *tuberculina-positivo* y muchas personas sanas muestran esta reacción como consecuencia de infecciones previas desapercibidas. Un resultado positivo en la prueba de la tuberculina no significa enfermedad activa sino sólo que el individuo ha estado expuesto antes al organismo y ha generado una respuesta inmune celular contra *M. tuberculosis*.

Para la mayoría de las personas, esta inmunidad celular sirve de protección para toda la vida. No obstante, algunos pacientes tuberculina-positivos desarrollan tuberculosis postprimaria por reinfección con fuentes externas o por reactivación de la bacteria que había permanecido latente en los macrófagos del pulmón, a veces durante años. Debido a la naturaleza latente de la infección por *M. tuberculosis*, los individuos que dan positiva la prueba de la tuberculina se suelen tratar con agentes antimicrobianos por períodos largos de tiempo. Hay factores, como la edad, la malnutrición, el hacinamiento, el estrés y los cambios hormonales que pueden reducir la eficacia de la inmunidad en individuos sin tratamiento y por tanto favorecer la reactivación de infecciones latentes.

Las infecciones secundarias por micobacterias se convierten a menudo en infecciones crónicas que destruyen los tejidos pulmonares, seguidas de fases de curación parcial y calcificación en los sitios de la infección. Esta tuberculosis crónica ocasiona frecuentemente una extensión gradual de las lesiones por los pulmones. Las bacterias se encuentran en los esputos de individuos con enfermedad activa y las áreas de tejido destruido pueden observarse por rayos X (**Figura 34.10**).

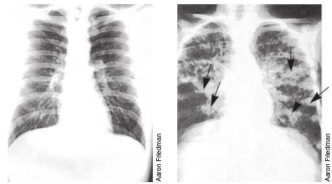


Figura 34.10 Radiografía de un caso de tuberculosis. *(a)* Radiografía torácica normal con rayos X. Las líneas blancas poco intensas son arterias y vasos sanguíneos. *(b)* Radiografía con rayos X de un caso avanzado de tuberculosis pulmonar; las flechas indican áreas enfermas. Estas áreas o tubérculos pueden contener células viables de *Mycobacterium tuberculosis*. El tejido pulmonar y sus funciones resultan destruidas por estas lesiones.

Prevención y tratamiento

Los individuos con casos de TB activa pueden extender la enfermedad al hablar o toser. Como la TB es muy contagiosa, la Administración sobre Seguridad y Salud Ocupacional de los Estados Unidos impone fuertes regulaciones para la protección del personal sanitario que atiende al cuidado de los pacientes de tuberculosis. Por ejemplo, los pacientes con tuberculosis infecciosa deben hospitalizarse en habitaciones con presión negativa y el personal en contacto con ellos deben estar equipados con máscaras personales con filtros de alta eficacia para aire particulado (HEPA) a fin de evitar el paso de *M. tuberculosis* de los esputos o de las partículas de polvo.

La terapia antimicrobiana de la tuberculosis ha sido un factor muy importante en el control de la enfermedad. El primer antibiótico eficaz fue la estreptomicina, pero la verdadera revolución en el tratamiento de la TB llegó con el descubrimiento de la hidracida del ácido nicotínico llamada *isoniacida* (INH) (**Figura 34.11**). Este compuesto, que es específico para micobacterias, es eficaz, barato, relativamente no tóxico y de fácil absorción cuando se toma oralmente. Aunque no se conoce por completo el modo de acción de la isoniacida, afecta a la síntesis de ácidos micólicos por *Mycobacterium*. El ácido micólico es un lípido que forma complejos con el peptidoglicano en la pared celular. Probablemente, la isoniacida funciona como análogo estructural de una molécula que actúa como un factor de crecimiento, la nicotinamida. Como tal, la isoniacida se incorporaría en lugar de la ni-

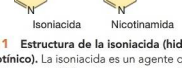


Figura 34.11 Estructura de la isoniacida (hidracida del ácido isonicotínico). La isoniacida es un agente quimioterápico eficaz en la tuberculosis. Nótese la semejanza estructural con la nicotinamida.

cotinamida e inactivaría las enzimas requeridas para la síntesis de ácido micólico.

El tratamiento de micobacterias con pequeñas cantidades de isoniacida (tan bajas como 5 picomoles por cada 10^9 células) produce una inhibición completa de la síntesis de ácido micólico y, tras una incubación mantenida, se pierden zonas externas de la pared celular que llevan a la pérdida de la integridad y a la muerte celular. Después de un tratamiento con isoniacida, las micobacterias pierden su carácter de ser ácido-resistentes, lo que evidencia el papel responsable del ácido micólico en estas propiedades de tinción.

Normalmente el tratamiento consiste en dosis diarias de isoniacida y rifampicina durante 2 meses, seguido de 4 dosis cada dos semanas durante 9 meses. Este tratamiento elimina los bacilos de los tubérculos y evita la aparición de organismos resistentes a antibióticos. No completar por entero el tratamiento prescrito puede suponer la reactivación de la infección, y el organismo reactivado suele ser resistente a los compuestos del tratamiento original. El tratamiento incompleto favorece la resistencia a los antibióticos porque una elevada tasa de mutaciones espontáneas entre las células de *M. tuberculosis* supervivientes proporciona una rápida adquisición de resistencia a antibióticos aislados. Para asegurar el tratamiento e impedir el desarrollo de organismos resistentes a antibióticos, puede resultar necesaria la observación directa del tratamiento en individuos no cooperantes. En poblaciones de hospitales y enfermerías, donde es más probable la presencia de cepas resistentes, los pacientes se tratan con hasta 4 compuestos antibacterianos distintos durante 2 meses y se continúa con un tratamiento de isoniacida-rifampina durante un total de 6 meses. La terapia múltiple reduce la posibilidad de que aparezcan cepas con resistencia a más de un compuesto.

Sin embargo, la resistencia de *M. tuberculosis* a isoniacida y a otros agentes antimicrobianos está en aumento, particularmente en pacientes con SIDA. Han aparecido varias cepas que son resistentes a la isoniacida y a la rifampicina. El tratamiento de estas cepas, denominadas *cepas tuberculosas de resistencia múltiple* (MDR TB), requiere el uso de compuestos de segunda línea que en general son más tóxicos, menos eficaces y más caros que la rifampicina y la isoniacida. Un análisis de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre las cepas MDR TB indica que el 20% son cepas con resistencia múltiple muy extendida (XDR TB). Estas cepas presentan resistencia a prácticamente todos los compuestos anti-TB, incluyendo los compuestos de segunda línea. El evitar la emergencia de estas cepas requiere mejoras en el diagnóstico y en las pruebas de susceptibilidad además de nuevos compuestos de tratamiento para la TB.

En muchos países, para la prevención de la tuberculosis se inmuniza de modo rutinario con una cepa atenuada de *Mycobacterium bovis*, el *bacilo de Calmette-Guerin* (*BCG*). Sin embargo en Estados Unidos y en otros países donde la prevalencia de tuberculosis es baja no se aconseja la vacunación con BCG. La vacuna viva BCG induce una respuesta de hipersensibilidad de tipo retardado y todos los individuos que la reciben dan positiva la prueba de la tuberculina. Esto limita el valor de la prueba de la tuberculina como un indicador diagnóstico y epidemiológico de la extensión de la infección por *M. tuberculosis*.

Mycobacterium leprae y enfermedad de Hansen (lepra)

Mycobacterium leprae, descubierto en 1873 por el noruego G.A. Hansen, es el agente etiológico de la lepra o enfermedad de Hansen. *M. leprae* es la única micobacteria que no puede crecer en medios artificiales. El armadillo es el único animal experimental usado con éxito para hacer crecer *M. leprae* y que desarrolla síntomas similares a los de la enfermedad en humanos.

La forma más grave de la enfermedad de Hansen se caracteriza por lesiones abultadas y con dobleces en el cuerpo, especialmente en la cara y las extremidades (**Figura 34.12**). Las lesiones se deben al crecimiento de *M. leprae* en las células de la piel y contienen hasta 10^9 células bacterianas por gramo de piel. Como otras micobacterias, las células de *M. leprae* de las lesiones se tiñen de rojo con fucsina básica fenicada mediante el procedimiento de tinción de ácido-resistencia, y esto constituye una demostración rápida y definitiva de una infección activa. Esta forma lepromatosa de la enfermedad de Hansen tiene muy mala prognosis. En los casos más graves las lesiones desfigurantes llegan a destruir los nervios periféricos y a provocar pérdida de la función motora.

Muchos pacientes de la enfermedad de Hansen manifiestan lesiones menos pronunciadas de las que no se recuperan células bacterianas. Estos individuos desarrollan

(a) (b)

Figura 34.12 Lesiones cutáneas de lepra lepromatosa. La lepra lepromatosa está causada por infecciones de *Mycobacterium leprae*. Las lesiones pueden contener hasta 10^9 células por gramo de tejido indicando una infección incontrolada y activa, con una mala prognosis.

la forma *tuberculoide* de la enfermedad, caracterizada por una fuerte hipersensibilidad de tipo retardado (*véase* Sección 30.7), y tienen una buena pronosis de recuperación espontánea. En cualquiera de sus formas, y en formas intermedias, la enfermedad de Hansen se trata con terapia múltiple, que incluye alguna combinación de dapsona (4, 4′-sulfonilbisbencenamina), rifampicina y clofazimina. Como en el caso de la tuberculosis, han aparecido cepas resistentes, especialmente tras tratamiento con un solo compuesto o un tratamiento inadecuado. La terapia múltiple se extiende hasta un año para lograr la erradicación del organismo.

La patogenicidad de *M. lepra* se debe a una combinación de la hipersensibilidad retardada y de la capacidad de invasión del organismo. La transmisión se realiza por contacto directo y por vía respiratoria, y el tiempo de incubación varía de varias semanas a años, o incluso a décadas; sin embargo, la enfermedad de Hansen no es tan contagiosa como la tuberculosis. Las células de *M. lepra* crecen dentro de los macrófagos, causando una infección intracelular que puede dar origen a un elevado número de bacterias dentro de la piel, formando las lesiones características.

En muchas zonas del mundo la incidencia de la enfermedad de Hansen es muy baja. A un nivel mundial se describen unos 750.000 nuevos casos al año, de los que unos 100 se sitúan en Estados Unidos, sobre todo en los estados del sur, entre inmigrantes de las islas caribeñas o de Centroamérica. El 90% de los casos mundiales se registra en Madagascar, Mozambique, Tanzania y Nepal. A consecuencia de la enfermedad de Hansen, hasta dos millones de personas presentan incapacidad permanente pero, debido a su naturaleza crónica y al largo período de latencia de la enfermedad, puede que exista en forma inaparente en unos 12 millones de personas.

Otras especies patógenas de *Mycobacterium*

Un patógeno muy común en las vacas de leche, *Mycobacterium bovis*, es también patógeno para el hombre y para otros animales. *M. bovis* penetra en el hombre por vía intestinal, por lo general después de la ingestión de leche no pasteurizada. Tras una infección intestinal localizada, el organismo alcanza el tracto respiratorio e inicia los síntomas clásicos de la tuberculosis. *M. bovis* es un organismo diferente a *M. tuberculosis*, aunque sus genomas son muy similares. Pese a que el genoma de *M. bovis* presenta varias delecciones respecto al de *M. tuberculosis*, no hay diferencias observables en cuanto a infectividad y patogénesis en humanos. En los países desarrollados, la pasteurización de la leche y la eliminación del ganado vacuno enfermo ha erradicado la transmisión de la tuberculosis desde los animales al hombre.

Varias otras especies de *Mycobacterium* son también patógenos humanos ocasionales. Por ejemplo, *M. kansasii*, *M. scrofulaceum*, *M. chelonae* y otras cuantas micobacterias pueden causar enfermedad. La enfermedad respiratoria debida al complejo de *M. avium* (que incluye *M. avium* y *M. intracellulare*) es particularmente peligrosa para pacientes de SIDA y otros individuos inmunocomprometidos; estos patógenos oportunistas no suelen infectar a individuos sanos (Figura 34.9).

34.5 Minirrevisión

La tuberculosis es una de las enfermedades más peligrosas y frecuentes del mundo. Su incidencia está aumentando en los países desarrollados debido en parte a la aparición de cepas resistentes de *Mycobacterium tuberculosis*. La patología de la tuberculosis y de la enfermedad de Hansen está influenciada por la respuesta inmune celular.

- ¿Por qué *Mycobacterium tuberculosis* es un patógeno respiratorio tan extendido?
- Describa factores que contribuyen a la resistencia a fármacos en las infecciones por micobacterias.
- Identifique otras especies del género *Mycobacterium* que pueden causar enfermedades en humanos.

34.6 *Neisseria meningitidis*, meningitis y meningococemia

La **meningitis** es una inflamación de las meninges, la membrana que protege el sistema nervioso central, especialmente la médula espinal y el cerebro. La meningitis puede tener una causa vírica, bacteriana, fúngica o deberse a infecciones por protozoos. Aquí trataremos la meningitis bacteriana infecciosa causada por *Neisseria meningitidis* y una infección relacionada, la **meningococemia**.

Neisseria meningitidis, a menudo llamado *meningococo*, es un diplococo gramnegativo no esporulado, con cápsula, aerobio obligado y oxidasa-positivo (*véanse* Sección 15.10; **Figura 34.13**) que tiene cerca de 0,6-1,0 μm

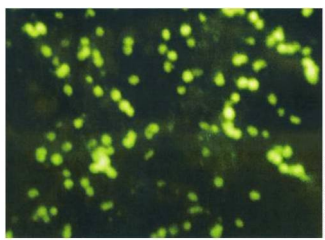


Figura 34.13 Tinción inmunofluorescente de *Neisseria meningitidis*. Este organismo causa meningitis y meningococemia. La muestra procede del líquido cefalorraquídeo de un enfermo. Los cocos individuales tienen 0,6-1 μm de diámetro.

de diámetro. Se reconocen al menos 13 cepas patogénicas de *N. meningitidis* por diferencias antigénicas en sus polisacáridos capsulares.

Epidemiología y patología

A menudo la meningitis meningocócica se presenta en epidemias, generalmente en poblaciones cerradas, como instalaciones militares y colegios. Típicamente afecta a escolares o adultos jóvenes. Hasta un 30% de los individuos son portadores de *N. meningitidis* en la nasofaringe sin aparentes efectos perjudiciales. En situaciones epidémicas la frecuencia de los transportadores puede elevarse al 80%. No se conoce el factor que determina la conversión del estado de transportador asintomático en una infección aguda.

En una infección meningocócica aguda, normalmente la bacteria se transmite al hospedador por el aire y se une a las células de la nasofaringe, desde donde el organismo accede al torrente sanguíneo causando bacteremia y síntomas en el tracto respiratorio superior. La bacteremia a veces produce una meningococemia fulminante, con septicemia, coagulación intravascular, choque, y muerte en el 10% de los casos. Otro posible resultado de la infección es la meningitis, caracterizada por un rápido dolor de cabeza, vómitos y rigidez de cuello que puede progresar hasta el coma y la muerte en cuestión de horas. El 3% de las víctimas de la meningitis meningocócica aguda fallece.

Durante 2005 hubo 1.245 casos de enfermedades meningocócicas en los Estados Unidos, la cifra más baja desde 1977. Este patrón de frecuencia descendente refleja el éxito de la vacunación generalizada entre la población susceptible. Sin embargo, la tasa de mortalidad en los últimos años superó el 10%.

Diagnóstico, prevención y tratamiento

Las muestras procedentes de frotis nasofaríngeos, de sangre o de líquido cefalorraquídeo, se inoculan en medio Thayer-Martin modificado (*véase* Figura 32.5), que es un medio selectivo que suprime el crecimiento de la mayoría de la flora normal pero permite el crecimiento de las neiserias patógenas, es decir, *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae*. Las colonias que contengan diplococos gramnegativos y den positiva la prueba de la oxidasa se identifican potencialmente como *Neisseria* (*véase* Tabla 32.3). Debido a la rápida aparición de síntomas peligrosos para la vida, el diagnóstico preliminar se basa a menudo en los síntomas clínicos y se inicia el tratamiento antes de que los cultivos confirmen la infección con *N. meningitidis*.

La penicilina G es el antibiótico de elección en el tratamiento de las infecciones por *N. meningitidis*. Sin embargo, se han descrito cepas resistentes. En individuos que son sensibles a la penicilina, el cloranfenicol es un tratamiento alternativo. También resultan eficaces varias cefalosporinas de amplio espectro.

En la mayoría de los adultos, los anticuerpos específicos desarrollados contra cepas de ocurrencia natural en infecciones subclínicas son eficaces para evitar las infecciones. Para inmunizar a individuos susceptibles se dispone de vacunas comercializadas, con polisacáridos purificados o con polisacáridos conjugados a proteínas de las cepas más frecuentes. Las vacunas se emplean para evitar la infección en poblaciones susceptibles como las de los campamentos militares o las de residencias con dormitorios comunes. Además, como profiláctico antimicrobiano se emplea con frecuencia rifampicina para evitar el contagio en contactos con individuos infectados.

Otras causas de meningitis

Otros organismos también pueden causar meningitis. La meningitis aguda puede estar causada por alguna bacteria piogénica como *Staphylococcus*, *Streptococcus* o *Haemophilus influenzae*. *H. influenzae* infecta fundamentalmente a niños pequeños. Se dispone de una vacuna eficaz para evitar la meningitis por *H. influenzae* que es obligatoria en los Estados Unidos para niños en edad escolar (*véase* Sección 30.5).

Varios virus también causan meningitis, entre ellos el virus del herpes símpl, el de la coriomeningitis linfocítica, el de las paperas, y diversos enterovirus. En general, la meningitis vírica es menos grave que la bacteriana.

www.medilibros.com

34.6 Minirrevisión

Neisseria meningitidis causa la meningococemia y la meningitis en adultos jóvenes y se presenta en ocasiones en forma de epidemias en poblaciones cerradas, como escuelas e instalaciones militares. La meningitis y la meningococemia bacteriana son enfermedades graves, con una elevada tasa de mortalidad. Existen estrategias de tratamiento y prevención para evitar brotes epidémicos. Se dispone de vacunas eficaces frente a la mayoría de las cepas patógenas prevalentes.

- Identifique los síntomas y causas de la meningitis.
- Describa la infección por *Neisseria meningitidis* y el desarrollo de la meningococemia.

34.7 Virus e infecciones respiratorias

Como vimos en la Sección 27.10, los virus son más difíciles de controlar por medios quimioterápicos que las bacterias debido a que su propagación depende de funciones celulares del hospedador. Muchos de los agentes quimioterápicos que atacan específicamente a virus causan efectos laterales en las células del hospedador. Las infecciones humanas más frecuentes están causadas por virus. La mayoría de las enfermedades víricas son agudas y autolimitadas pero algunas pueden ser problemáticas en adultos sanos. Unas cuantas enfermedades graves, como la viruela y la rabia, se han controlado eficazmente por inmunización. Comenzamos aquí la descripción del sa-

rampión, las paperas, la rubéola y la varicela. Todas son enfermedades víricas que se transmiten por pequeñas gotas infecciosas siguiendo una transmisión aérea.

Sarampión

Normalmente el *sarampión* afecta a niños susceptibles como una enfermedad aguda muy infecciosa, con frecuencia en forma de epidemia. El virus del sarampión es un paramixovirus con RNA monocatenario y polaridad negativa (*véase* Sección 19.8) que penetra por la nariz y la garganta transmitido por el aire y desarrolla una rápida viremia sistémica. Los síntomas de la infección se inician con descargas nasales, enrojecimiento de los ojos, tos y fiebre. A medida que progresa la enfermedad, la fiebre y la tos se intensifican rápidamente y aparece una erupción cutánea (**Figura 34.14**); por lo general, los síntomas duran 7-10 días. Los anticuerpos circulantes contra el virus del sarampión se detectan alrededor de los 5 días de la infección y tanto los anticuerpos séricos como los linfocitos T citotóxicos se combinan para eliminar los virus del sistema. Después de la infección pueden presentarse complicaciones que afectan al oído interno, neumonía y, en casos raros, encefalomielitis. La encefalomielitis derivada del sarampión puede causar desórdenes neurológicos y epilepsia, y presenta una tasa de mortalidad cercana al 20%.

El sarampión, aunque fue una enfermedad infantil frecuente, en la actualidad ocurre en brotes más bien aislados debido a programas de inmunización que comenzaron a mediados de los años 1960 (**Figura 34.15*a***). Globalmente, sin embargo, ocasiona unas 600.000 muertes anuales, principalmente en niños. Como la enfermedad es muy infecciosa, todos los sistemas de enseñanza pública en los Estados Unidos exigen una prueba de inmunización antes de la admisión. La inmunización activa se logra con virus atenuado que forma parte de la vacuna triple vírica (sarampión, paperas y rubéola) (*véase* Figura 30.4). El sarampión infantil suele conferir inmunidad duradera frente a la infección durante toda la vida.

(a)

(b)

Figura 34.14 **Sarampión infantil**. *(a)* La erupción rosada comienza en la cabeza y cuello y *(b)* se extiende al pecho, abdomen y piernas. Las pápulas individuales se unen a medida que progresa la erupción formando manchas durante varios días.

Paperas

Como el sarampión, las paperas están producidas por un paramixovirus que es también muy infeccioso. Las paperas se transmiten por gotículas aéreas y la enfermedad se caracteriza por inflamación de las glándulas salivares que provoca un hinchamiento de las mejillas y el cuello (**Figura 34.16**). El virus se extiende por el torrente sanguíneo y puede alcanzar otros órganos, como el cerebro, los testículos y el páncreas. Las complicaciones graves pueden incluir encefalitis y, raramente, esterilidad. La respuesta inmune del hospedador produce anticuerpos contra las proteínas superficiales del virus de las paperas, y esto conduce generalmente a una pronta recuperación. Existe una vacuna atenuada muy eficaz para prevenir las paperas (*véase* Figura 30.4). Por tanto, su prevalencia en los países desarrollados es muy baja y la enfermedad suele estar reducida a individuos que no han sido vacunados (Figura 34.15*b*).

Rubeola

La *rubéola* (o *sarampión alemán*) está causada por un virus del grupo de los togavirus con RNA monocatenario y polaridad positiva (*véase* Sección 10.11). Los síntomas de la enfermedad son semejantes a los del sarampión, pero generalmente más suaves. La rubeola es menos contagiosa que el sarampión y por tanto grandes sectores de la población nunca han sido infectados. Sin embargo, durante los primeros 3 meses del embarazo, el virus de la rubeola puede infectar al feto por transmisión placentaria y causar graves malformaciones. La rubeola puede causar aborto, sordera y defectos cardíacos y oculares. En consecuencia, las mujeres no deben inmunizarse con la vacuna contra la rubeola o contraer la enfermedad du-

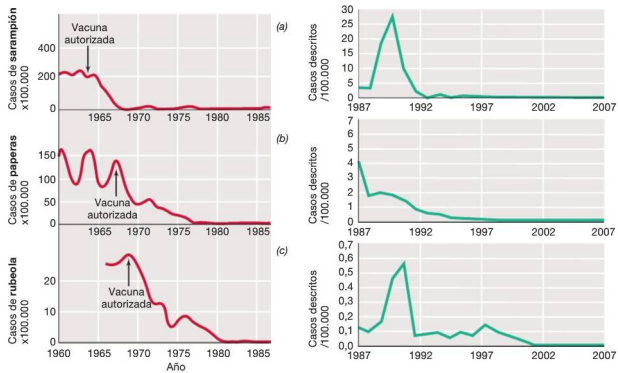


Figura 34.15 **Enfermedades víricas y vacunas.** Las principales enfermedades víricas infantiles están controladas actualmente en los Estados Unidos por vacunación contra el sarampión, las paperas y la rubéola. Datos de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU.

www.medilibros.com

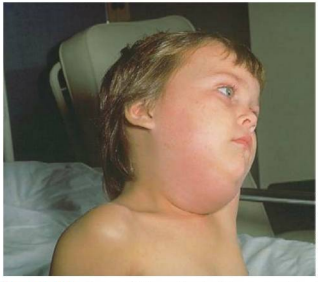


Figura 34.16 **Paperas**. Inflamación glandular característica de la infección por el virus de las paperas.

rante el embarazo. Por esta razón se debe practicar la vacunación rutinaria contra la rubeola en la infancia. Se administra un virus atenuado como parte de la vacuna triple vírica (*véase* Figura 30.4). El bajo número de casos en los últimos 5 años, junto con el alto grado de protección de la vacuna y la relativamente baja capacidad infectiva del virus, sugiere que la rubeola ya no es endémica en los Estados Unidos (Figura 34.15*c*).

Varicela y herpes

La varicela es una enfermedad infantil común causada por un herpesvirus con DNA, el virus de la varicela-zóster (VZV) (*véase* Sección 19.12). El VZV es muy contagioso y se transmite por pequeñas gotas infecciosas, especialmente cuando los individuos susceptibles están en estrecho contacto. Entre los escolares, por ejemplo, el confinamiento durante el invierno favorece la transmisión de la varicela mediante pequeñas gotas de compañeros infectados y a través del contacto con fomites contaminados. El virus penetra por el tracto respiratorio, se multiplica y se disemina rápidamente por la sangre originando una erupción papular sistémica que cura pronto y que en ocasiones deja marcas (**Figura 34.17**). En los Estados Unidos se usa ahora una vacuna atenuada. La incidencia anual descrita para la varicela en la actualidad es de unos 32.000 casos, y representa la quinta parte de los casos descritos antes de 1995, el año en que se autorizó el uso de la vacuna. Esta enfermedad siempre se ha declarado por debajo de su incidencia real.

El virus VZV establece una infección latente en las células nerviosas que dura toda la vida. Ocasionalmente el virus emigra desde este reservorio a la piel ocasionando una dolorosa erupción conocida como *herpes zóster*. El herpes zóster normalmente afecta a individuos con inmunosupresión

Figura 34.17 **Varicela**. Erupción papular asociada a la infección por el virus de la varicela-zóster (VZV), el herpesvirus que causa la varicela.

o a ancianos. El uso profiláctico de globulina hiperinmune preparada contra el virus tiene utilidad para evitar la aparición de los síntomas del herpes zóster. Esta terapia solamente se aconseja en pacientes en los que las infecciones secundarias que a veces se asocian con el herpes zóster, como la neumonía o la encefalitis, puede amenazar la vida. Para evitar el herpeszóster se aconseja una vacuna a individuos mayores de 60 años. La vacuna estimula la inmunidad por anticuerpos y por linfocitos T citotóxicos frente al VZV, evitando que el virus emigre desde los ganglios nerviosos a las células de la piel.

34.7 Minirrevisión

Las enfermedades víricas respiratorias son muy infecciosas y pueden causar graves problemas de salud. Sin embargo, las enfermedades infantiles más comunes, como el sarampión, las paperas, la rubéola y la varicela se controlan con una inmunización adecuada.

- Describa las consecuencias potencialmente graves de la infección por cada unos de estos virus.
- Identifique los efectos de la inmunización sobre la incidencia del sarampión, las paperas, la rubéola y la varicela.

34.8 Resfriados

Los resfriados son las enfermedades infecciosas más frecuentes, Como indica la **Figura 34.18**, las personas adquieren unos diez resfriados por cada una de las otras enfermedades infecciosas, exceptuando la gripe. Los resfriados son infecciones víricas transmitidas de persona a persona por pequeñas gotas mediante toses, estornudos y secreciones respiratorias. Normalmente son de corta duración y presentan síntomas más suaves que otras enfermedades respiratorias como la gripe. La **Tabla 34.1** compara los síntomas de los resfriados con los de la gripe.

Resfriado común

Cada persona sufre más de tres resfriados cada año a lo largo de su vida (Figura 34.18). Los síntomas del resfriado son rinitis (inflamación de la región nasal, especialmente de las membranas mucosas), obstrucción nasal, descargas nasales acuosas y una sensación general de malestar, normalmente sin fiebre. La causa más frecuente de los resfriados son rinovirus, que pertenecen al grupo de los picornavirus y tienen RNA monocatenario con polaridad positiva (**Figura 34.19*a*** y *véase* Sección 19.8). Se han identificado más de 115 rinovirus. Aproximadamente el 25% de los resfriados se deben a otros virus. Los coronavirus (Figura 34.19*b*) causan el 15% de los resfriados en adultos. En conjunto, los adenovirus, los virus

INSTRUCCIÓN

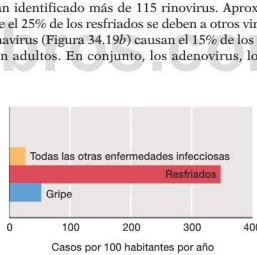
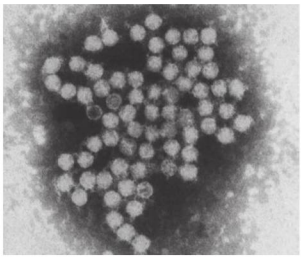


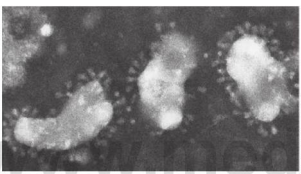
Figura 34.18 **Resfriados y gripe.** Estas enfermedades víricas son las enfermedades infecciosas agudas predominantes en los Estados Unidos. La frecuencia mostrada es típica de los últimos años. Los resfriados y la gripe causan mucha más morbilidad que el resto de las enfermedades infecciosas.

Tabla 34.1 **Resfriados y gripe**

Síntomas	*Resfriado*	*Gripe*
Fiebre	Rara	Frecuente y súbita (39-40 °C)
Dolor de cabeza	Raro	Frecuente
Malestar general	Débil	Frecuente; a veces fuerte y duradero
Descargas nasales	Frecuentes, abundantes	Raras, poco abundantes
Dolor de garganta	Frecuente	Menos frecuente
Vómitos y/o diarreas	Raro	Frecuentes en niños

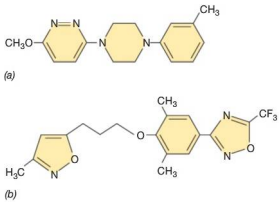


(a)



(b)

Figura 34.19 **Virus del resfriado común**. Micrografías de microscopio electrónico de transmisión. *(a)* Rinovirus humanos. Cada virión tiene unos 30 nm de diámetro. *(b)* Coronavirus humanos. Cada virión tiene unos 60 nm de diámetro.



(a)

(b)

Figura 34.20 **Fármacos experimentales contra rinovirus.** *(a)* estructura del 3-metoxi-6-[4-(3-metilfenil]-1 piperacinil. *(b)* estructura del WIN 52084, un compuesto bloqueante del receptor.

coxsackie, los virus respiratorios sincitiales y los ortomixovirus originan cerca del 10% de los resfriados.

Cada uno de estos virus puede ocasionar también enfermedades más graves. Por ejemplo, hay una cepa de adenovirus que produce una infección respiratoria grave y a veces letal. En general, los resfriados inducen una respuesta local y específica de anticuerpos neutralizantes de tipo IgA. Sin embargo, la cantidad potencial de agentes infecciosos hace que la inmunidad debida a infecciones previas sea poco eficaz. El gran número de virus que puede provocar un resfriado impide también el desarrollo de vacunas eficaces.

La vía más probable de transmisión de los resfriados es mediante aerosoles, aunque varios experimentos con voluntarios sugieren que también actúa en la transmisión el contacto directo y el contacto a través de fomites. La mayoría de los compuestos antivíricos son ineficaces contra el resfriado común, aunque un derivado de la pirazidina (**Figura 34.20*a***) parece prometedor para evitar resfriados después de la exposición a virus. Además, se están diseñando nuevos compuestos antivíricos basados en la información derivada de estructuras tridimensionales. Por ejemplo, el compuesto antirinovirus WIN 52084 (Figura 34.20*b*) se une al virus cambiando su configuración superficial e impidiendo la unión del rinovirus al receptor ICAM-1 (mólecula de adhesión intercelular, 1 del inglés *intercellular adhesion molecule*-1) sobre la célula del hospedador, lo que evita la infección. El interferón-a, una citoquina, también evita la aparición de resfriados. Por tanto, existen varias posibilidades experimentales para la prevención y el tratamiento de los resfriados, aunque ninguna se considera por completo eficaz y segura. Como en general los resfriados son breves y autolimitados, los tratamientos de orientan a controlar los síntomas, especialmente las descargas nasales, mediante el uso de antihistamínicos y anticongestivos.

www.MiraCielo.com

34.8 Minirrevisión

Los resfriados son las infecciones víricas más frecuentes. Suelen estar causadas por rinovirus y por lo general son enfermedades suaves y autolimitadas. Cada infección produce inmunidad efectiva y específica, pero el gran número existente de patógenos del resfriado impide una inmunidad de protección o vacunas.

- Describa las consecuencias potencialmente graves de la infección por cada unos de estos virus.
- Identifique los efectos de la inmunización sobre la incidencia del sarampión, las paperas, la rubéola y la varicela.

34.9 Gripe

La gripe está causada por un virus con RNA del grupo de los ortomixovirus (*véase* Sección 19.8). El virus de la gripe tiene un genoma monocatenario con polaridad negativa y está rodeado por una envuelta de proteína, una bi-

capa lipídica y glicoproteínas externas (**Figura 34.21**). Hay tres tipos diferentes de virus de la gripe: influenza A, influenza B e influenza C. Sólo trataremos aquí el virus de la influenza A porque es el patógeno humano más importante.

El genoma del virus de la influenza A es un RNA monocatenario dispuesto de una manera poco común. Como se comentó en la Sección 10.8, el genoma es *segmentado*, con los genes dispuestos en ocho fragmentos o módulos diferentes de RNA monocatenario (*véase* Figura 19.16*b*). Esta disposición permite la recombinación de módulos de genes entre diferentes cepas de virus cuando una misma célula resulta simultáneamente infectada por más de una cepa. Durante la maduración del virus en la células del hospedador, los módulos del RNA vírico se encapsidan al azar, de modo que en una célula infectada con dos cepas del virus de la gripe se originan nuevos viriones que contienen una nueva disposición de los módulos de RNA de cada virus infectante. Solamente los virus que tengan una dotación completa de módulos son cepas nuevas de virus. Esta recombinación origina un **salto antigénico**, es decir, un cambio en la proteína antigénica de la envuelta vírica a consecuencia del reemplazamiento total de un segmento del RNA genómico. El salto antigénico se traduce en una notable alteración de una de las dos proteínas que son importantes en la unión y posterior liberación del virus de la célula hospedadora, la hemaglutinina (HA o H) y la neuraminidasa (NA o N) (Figura 34.21). Los antígenos glicoproteicos H y N también sufren cambios antigénicos puntuales debidos a mutaciones puntuales en las secuencias que los codifican y que alteran uno o más aminoácidos. Estas mutaciones limitadas crean antígenos ligeramente modificados y este fenómeno se llama **deriva antigénica**.

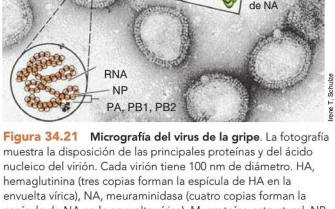


Figura 34.21 **Micrografía del virus de la gripe**. La fotografía muestra la disposición de las principales proteínas y del ácido nucleico del virión. Cada virión tiene 100 nm de diámetro. HA, hemaglutinina (tres copias forman la espícula de HA en la envuelta vírica), NA, meuraminidasa (cuatro copias forman la espícula de NA en la envuelta vírica). M, proteína estructural. NP, nucleoproteína. PA, PB1 y PB2 son otras proteínas internas, algunas de las cuales pueden tener funciones enzimáticas.

Epidemiología de la gripe

El virus de la gripe humana se transmite por el aire de persona a persona, fundamentalmente en pequeñas gotas producidas durante la tos y el estornudo. El virus infecta las membranas mucosas del tracto respiratorio superior y ocasionalmente invade los pulmones. Los síntomas incluyen fiebre baja que dura 3-7 días, escalofríos, cansancio, dolor de cabeza y dolor generalizado (Tabla 34.1). Normalmente la recuperación es espontánea y rápida. La mayoría de las complicaciones graves de la gripe se debe a infecciones bacterianas secundarias, en personas cuya resistencia ha descendido por la gripe. La gripe ocasiona 3-5 millones de casos anuales graves y origina 250.000-500.000 muertes en todo el mundo.

La mayoría de los individuos infectados desarrolla inmunidad contra el virus infectante lo que, hasta que el virus encuentre otra población susceptible, hace imposible que una cepa de tipo antigénico similar provoque una infección diseminada. La inmunidad se debe sobre todo a la producción de anticuerpos secretorios IgA que se dirigen contra determinantes antigénicos de las glicoproteínas de la hemaglutinina (H) y de la neuraminidasa (N).

La gripe existe en la población humana como una enfermedad vírica endémica y se producen brotes anuales en el otoño e invierno. La deriva antigénica es la causa de la reducción de la inmunidad en la población y la responsable, a la vez, de las recurrencias epidémicas, que son brotes importantes y localizados de gripe que ocurren en ciclos de 2-3 años. Las pandemias son epidemias mundiales, mucho menos frecuentes y separadas por 10-40 años, y que son el resultado del salto antigénico.

El brote de la llamada gripe asiática de 1957 se convirtió en una pandemia (**Figura 34.22**). La cepa pandémica era un virus mutante virulento, de composición antigénica distinta a la de cepas anteriores. No existía inmunidad contra esta cepa, de modo que el virus se extendió rápidamente por todo el mundo. Apareció primero en el interior de China en febrero de 1957 y en abril se extendió a Hong Kong, de donde pasó a San Diego, California, a través de unos marineros. En mayo se registró un brote en un barco en Newport, Rhode Island. A partir de entonces, aparecieron continuamente brotes en diversas partes de Estados Unidos. La máxima incidencia se alcanzó en octubre, con 22 millones de casos nuevos.

En la pandemia de 1918, la «gripe española» debida al virus de la influenza A, mató a 230 millones de personas, varios de ellos en Estados Unidos (*véase* Figura 33.1). Aunque ha habido muchas pandemias, ninguna ha sido tan catastrófica como la gripe de 1918. La virulencia de ese virus no se comprende por completo pero parece debida a la respuesta del hospedador frente al nuevo patógeno. Aparentemente, este patógeno estimulaba la producción y liberación de gran cantidad de citoquinas inflamatorias, originando inflamaciones sistémicas graves y la enfermedad en individuos susceptibles.

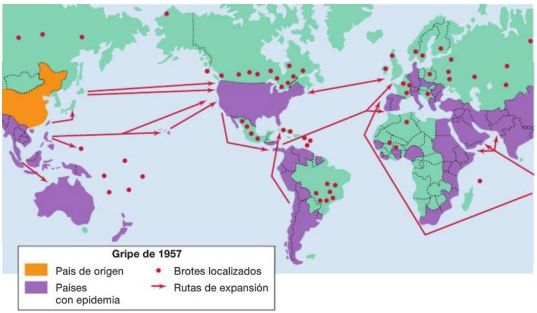


Figura 34.22 Pandemia de gripe. Se muestra la ruta de expansión de la pandemia de la gripe asiática de 1957. El foco epidémico original de la pandemia estuvo probablemente en China. La evidencia sugiere que la manipulación de aves y cerdos y la interacción humana con estos animales favorecieron la recombinación de genomas víricos de la gripe de las tres especies, produciendo una nueva cepa para la que no había memoria inmunológica entre los humanos.

Las pandemias de 1918 y de 1957 fueron el resultado de la recombinación del virus de la gripe aviar y de la gripe humana en el cerdo. Las células porcinas tienen receptores tanto para ortomixovirus aviares como humanos y pueden unir y multiplicar ambos tipos de cepas. Si los cerdos se infectan simultáneamente con ambas cepas, los dos virus no relacionados pueden recombinarse originando virus antigénicamente nuevos (salto antigénico) que pueden infectar a todos los humanos debido a su total falta de inmunidad. Esta recombinación con cepas de animales y la infección posterior a humanos ocurre periódicamente, pero de un modo impredecible, presentándose siempre la posibilidad de que aparezca una cepa muy virulenta para la que no existe inmunidad en la población humana.

En 1997 apareció en Hong Kong una nueva cepa de virus de la gripe aviar, la cepa influenza A H5N1, también llamada *gripe aviar*, que pareció saltar directamente del hospedador aviar a los humanos (**Figura 34.23**). La H5N1 se ha descrito ahora en aves de Asia, Europa, Oriente medio, y norte de África. Esta cepa reapareció en 2003 en China y Vietnam y ha causado infecciones y muertes en varios países del sudeste asiático, África y el Oriente medio. La H5N1 todavía se transmite directamente a los humanos desde hospedadores aviares, normalmente pollos o patos domésticos. En la actualidad, la gripe aviar sólo se transmite de humano a humano tras un prolongado y estrecho contacto. Hasta junio de 2007, se han dado 313 casos de gripe aviar en humanos por todo el mundo, con 191 muertes. Existen indicaciones de que la cepa H5N1 ha infectado a cerdos, estableciendo así un escenario para la recombinación con cepas de gripe humana que también infectan al cerdo. Esta recombinación podría crear un virus nuevo y muy infectivo frente al cual el hombre no tiene inmunidad, comenzando así una nueva pandemia de gripe. Se están desarrollando planes para disponer de vacunas potenciales y de ayuda en caso de una pandemia potencial iniciada por este o por otros virus emergentes de la gripe. (**http://www.cdc.gov/flu/pandemic/cdcplan.htm**)

Prevención y tratamiento de la gripe

Las epidemias de gripe se pueden controlar por inmunización. Sin embargo, la elección de la vacuna apropiada resulta complicada por el gran número de cepas existentes y la capacidad de las mismas para sufrir salto antigénico y deriva antigénica. Cuando aparecen nuevas cepas, no se dispone inmediatamente de vacunas pero, con cuidadosa vigilancia a nivel mundial, se obtienen muestras de las principales cepas emergentes antes de la aparición de brotes epidémicos. En Estados Unidos, las cepas candidatas recogidas al final de cada estación de gripe se cultivan en huevos embrionados y se inactivan. Estas cepas inactivadas se mezclan para preparar una vacuna que se usa como inmunización antes de la siguiente estación.

Se recomienda la vacunación contra la gripe para individuos con mayor probabilidad de adquirirla y desarrollar enfermedades secundarias graves. La inmunización es deseable para mayores de 50 años, los pacientes con enfermedades crónicas debilitantes (por ejemplo, SIDA, enfermedades respiratorias crónicas, etc.) y para el personal sanitario. La inmunización artificial efectiva por el virus inactivado dura sólo unos cuantos años y es específi-

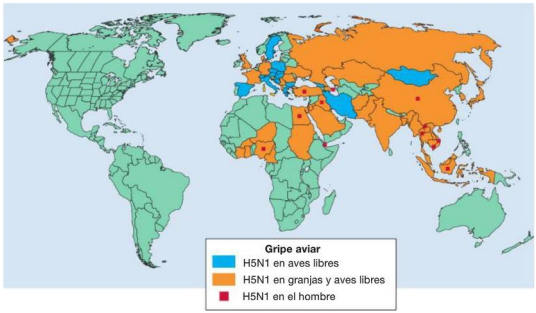


Figura 34.23 **Gripe aviar.** Casos acumulativos de gripe aviar en 2007confirmados en todo el mundo, tanto en aves domésticas como libres. Las localizaciones de brotes en humanos se indican en rojo (Fuente: Organización Mundial de la Salud).

ca de especie. Por tanto, las preparaciones para inmunización se actualizan todos los años.

La gripe por el virus de la influenza A también puede controlarse usando amantadina y rimantadina, que son aminas sintéticas inhibidoras de la replicación viral. El virus aviar H5N1 no es, sin embargo, sensible a estos compuestos. Los inhibidores de la neuraminidasa, oseltamivir y zanamivir (*véase* Tabla 27.5), bloquean la liberación de viriones de gripe tipo A y B, y del virus aviar H5N1 recién replicados. Estos compuestos se emplean para tratar casos de gripe y acortan el tiempo y la gravedad de la infección. Resultan más efectivos cuando se administran al principio de la infección. La amantadina, rimantadina y oseltamivir también evitan el inicio y la dispersión de la gripe.

El tratamiento de los síntomas gripales con aspirina, sobre todo en el caso de los niños, no está recomendado. Tal tratamiento se ha relacionado con el desarrollo del *síndrome de Reye*, una complicación rara pero ocasionalmente mortal que afecta al sistema nervioso central.

34.9 Minirrevisión

Los brotes de gripe ocurren anualmente debido a la plasticidad del genoma de los virus de la influenza. Periódicamente ocurren epidemias y pandemias. Se emplea la vigilancia y la inmunización para evitar la gripe.

- Distinga entre salto antigénico y deriva antigénica en la gripe.
- Exponga las posibilidades de programas eficaces de inmunización contra la gripe y compare esas posibilidades con la inmunización contra el resfriado común.

II TRANSMISIÓN DE ENFERMEDADES POR CONTACTO DIRECTO

Algunos patógenos se diseminan por contacto directo con una persona infectada o por contacto con su sangre o secreciones. Muchas de las enfermedades respiratorias que hemos considerado también pueden transmitirse por contacto directo. Aquí expondremos las infecciones estafilocócicas, las úlceras y la hepatitis, que son enfermedades que se transmiten de persona a persona, sobre todo por contacto directo con individuos infectados.

34.10 *Staphylococcus*

El género *Staphylococcus* contiene patógenos para el hombre y otros animales. Por lo general, los estafilococos infectan la piel y las heridas. La mayoría de estas infecciones son consecuencia de la transferencia de estafilococos de la flora normal desde un individuo infectado asintomático a otro susceptible.

Los estafilococos son cocos grampositivos no esporulados de unos 0,8-1,0 μm de diámetro. Se dividen en diferentes planos para formar acumulaciones irregulares (*véase* Figura 16.1). Son resistentes a la sequedad y se dispersan con facilidad por partículas de polvo a través del aire y de las superficies. Hay dos especies importantes para el hombre: *Staphylococcus epidermidis*, una especie no pigmentada que es frecuente en la piel y en las membranas mucosas, y *Staphylococcus aureus*, una especie con pigmentos amarillos. Ambas son patógenos potencia-

les, pero *S. aureus* está relacionado con más frecuencia con enfermedades humanas. Las dos especies suelen estar presentes en la flora normal del tracto respiratorio superior y de la piel (Figura 34.2).

Epidemiología y patogénesis

Los estafilococos causan enfermedades como el acné, forúnculos (**Figura 34.24**), granos, impétigo, neumonía, osteomielitis, endocarditis, meningitis y artritis. Muchas de estas enfermedades originan pus, por lo que se las denomina *piogénicas* o formadoras de pus. Los individuos sanos son a menudo transportadores y en muchos casos los estafilococos residentes en el tracto respiratorio superior o en la piel no causan enfermedad. Los recién nacidos resultan colonizados a partir de la madre durante la primera semana de vida o por medio de otro contacto humano. Las infecciones estafilocócicas graves ocurren cuando la resistencia del hospedador es baja debido a cambios hormonales, a una enfermedad debilitante, a heridas o a tratamiento con esteroides o con otros fármacos que comprometen el sistema inmunitario.

Las cepas de *S. aureus* que causan enfermedades producen factores de virulencia (*véase* Sección 28.9). Se han reconocido al menos cuatro *hemolisinas* diferentes, y cada cepa determinada puede producir varias. Las hemolisinas lisan los glóbulos rojos, como se aprecia alrededor de las colonias creciendo en placas de agar sangre. *S. aureus* es también capaz de producir una enterotoxina asociada con enfermedades transmitidas por los alimentos (Sección 37.5). Todos los estafilococos producen catalasa, una enzima que convierte H_2O_2 en H_2O y O_2. La catalasa no se considera un factor de virulencia, pero la prueba de la catalasa permite distinguir a los estafilococos de los estreptococos, que no producen catalasa.

Otra sustancia producida por *S. aureus* es la *coagulasa*, una enzima que causa la coagulación de la fibrina formando un coágulo (*véase* Sección 28.9). La producción de coagulasa suele asociarse con patogenicidad. La coagulación producida por la coagulasa da lugar a que la fibrina se acumule alrededor de las células microbianas, impidiendo el contacto de la bacteria con los agentes inmunitarios de la defensa del hospedador y evitando su fagocitosis (Figura 34.24). La mayoría de las cepas de *S. aureus* también producen *leucocidina*, una proteína que destruye los leucocitos. En las lesiones de la piel, como en quemaduras y granos, la producción de leucocidina ocasiona una considerable destrucción de células del hospedador y es uno de los factores responsables de la formación de pus. Algunas cepas de *S. aureus* también producen otros factores extracelulares de virulencia, como enzimas proteolíticos, hialuronidasa, fibrinolisina, lipasa, ribonucleasa y desoxiribonucleasa (*véase* Tabla 28.4).

Ciertas cepas de *S. aureus* han sido descritas como agentes responsables del síndrome del **choque tóxico (TSS)**, una consecuencia grave de la infección estafilocócica caracterizada por fiebre muy elevada, erupciones cutáneas, vómitos, diarreas y ocasionalmente la muerte. El TSS se observó primero en mujeres con menstruación y su presencia se asoció al uso de tampones. Durante la menstruación, la sangre y el mucus de la vagina puede colonizarse por el *S. aureus* de la piel y la presencia de un tampón concentra este material creando condiciones ideales para el crecimiento del microorganismo. Mediante educación y la alteración de los materiales de los tampones, el síndrome del choque tóxico es relativamente raro en la actualidad, con menos de 100 casos descritos al año. Sin embargo, más del 70% de los casos terminan en muerte. El síndrome del choque tóxico se observa tanto

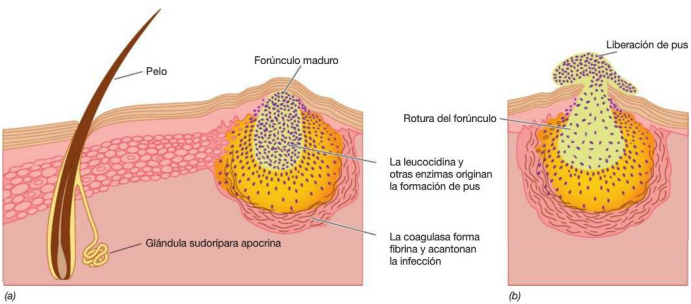


Figura 34.24 **Estructura de un forúnculo**. *(a)* Los estafilococos inician una infección cutánea localizada y se encapsulan con sangre coagulada y fibrina mediante la coagulasa. *(b)* La rotura del forúnculo libera pus y bacterias.

en mujeres como en hombres y normalmente se inicia por infecciones estafilocócicas que siguen a intervenciones quirúrgicas.

Indirectamente, los síntomas del TSS se deben a una exotoxina denominada *toxina-1 del síndrome del choque tóxico* (TSST-1) que es un superantígeno (*véase* Sección 30.8) liberado por los estafilococos durante el crecimiento, que causa una reacción masiva de células T y que culmina con la respuesta inflamatoria característica de las reacciones con superantígenos. Una reacción similar a TSS puede estar causada por superantígenos de otras bacterias patógenas, como *Streptococcus pyogenes* (Sección 34.2).

La *enterotoxina A* de los estafilococos, que es otro superantígeno, determina una forma de envenenamiento alimenticio. Después de la ingestión de la enterotoxina con alimentos contaminados, la toxina estimula a las células T localizadas a lo largo del intestino ocasionando una respuesta masiva con liberación de mediadores de la inflamación. El resultado final es una diarrea aguda pero de corta duración y vómitos por la intoxicación alimenticia (*véase* Sección 37.5).

Tratamiento y prevención

El uso tan extendido de antibióticos ha originado la selección de cepas resistentes de *S. aureus* y de *S. epidermidis*. Las infecciones nosocomiales por estafilococos resistentes a antibióticos, asociadas a instalaciones sanitarias, suelen darse en pacientes cuya resistencia está debilitada debido a otras enfermedades, a prácticas quirúrgicas o a tratamientos con fármacos (*véase* Sección 33.7). A menudo los pacientes adquieren los estafilococos del personal sanitario que son transportadores asintomáticos de estas cepas. Como consecuencia, la terapia apropiada contra *S. aureus* mediante fármacos antimicrobianos es un problema importante en los medios sanitarios. Por ejemplo, cada año se describen en instalaciones sanitarias más de 100.000 casos de infección por *S. aureus* resistentes a la meticilina (MRSA), pero algunos estudios elevan esta estimación a más de 1 millón. Las infecciones invasivas por MRSA han constituido un problema desde los años 1960. Muchas de estas infecciones están todavía asociadas a escenarios de cuidados sanitarios, pero hasta el 15% se adquieren en la comunidad sin relación con pacientes o contactos sanitarios. Aunque algunas de estas infecciones por estafilococos son aún tratables con penicilinas, las cepas MRSA y otras de *S. aureus* resistentes a antibióticos son cada vez más frecuentes. Los aislamientos de *S. aureus* de casos de enfermedad, independientemente de su origen, deben caracterizarse por lo tanto en lo que respecta a su susceptibilidad a los antibióticos.

La prevención de las infecciones estafilocócicas es problemática porque muchos individuos son portadores asintomáticos, y hay enfermedades como el acné y el impétigo que se pueden transmitir por simple contacto con dedos contaminados. En los ambientes hospitalarios, los transportadores conocidos de patógenos deberían ser excluidos o tratados con compuestos tópicos o sistémicos para eliminar a los patógenos.

34.10 Minirrevisión

Aunque los estafilococos suelen ser habitantes normales del tracto respiratorio superior y de la piel, varias enfermedades importantes derivan de infecciones piogénicas o de las acciones de las exotoxinas de los estafilococos como supernatígenos.

- ¿Cuál es el hábitat normal de *Staphylococcus aureus*? ¿Cómo se transmite de persona a persona?
- Identifique los mecanismos del envenenamiento alimenticio por estafilococos y del síndrome de choque tóxico.

34.11 *Helicobacter pylori* y úlceras gástricas

Helicobacter pylori es una bacteria gramnegativa muy móvil y con morfología espiral (**Figura 34.25**) que está relacionada con *Campylobacter* (*véase* Sección 37.9). El organismo tiene 2,5-3,5 μm de largo por 0,5-1 μm de ancho y seis flagelos polares en un extremo. *H. pylori* se identificó inicialmente en 1983 en biopsias del intestino humano y es un patógeno asociado con gastritis, úlceras y cáncer gástrico. Este organismo coloniza la mucosa estomacal que no secreta ácido y la parte superior del intestino, incluyendo el

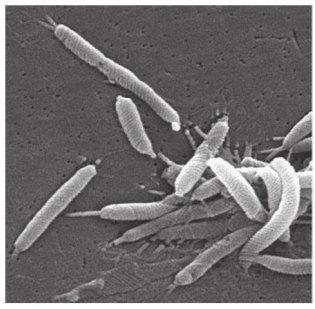


Figura 34.25 Helicobacter. Micrografía de microscopio electrónico de barrido. El tamaño de las células varía de 1,5-10 μm de largo y 0,3-1 μm de diámetro. El organismo de la zona inferior izquierda tiene 3.2 μm de largo. Nótese la presencia de flagelos envainados.

duodeno (*véase* Figura 28.8). Estudios genéticos con diferentes cepas de *H. pylori* han demostrado que este organismo ha estado íntimamente asociado al hombre, al menos desde que los primeros humanos emigraron de África.

Epidemiología

Más del 80% de los pacientes con úlcera gástrica están infectados por *H. pylori*, y cerca del 50% de los adultos asintomáticos en países desarrollados lo están de forma crónica. Los métodos de transmisión de *H. pylori* más probables son el contacto personal y la ingestión de agua o alimento contaminado. Aunque no se conoce la existencia de un reservorio natural distinto al hombre, el organismo se aísla en ocasiones de gatos domésticos, lo que indica que puede ser esparcido desde o hasta los animales por el contacto cercano con los humanos. En algunas familias existe un elevado índice de infección y la incidencia total en la población aumenta con la edad. Estas observaciones apoyan un tipo de transmisión de hospedador a hospedador. Sin embargo, en ocasiones las infecciones por *H. pylori* ocurren en focos epidémicos sugiriendo que pueden deberse a un origen común como el agua o los alimentos.

Patología, diagnosis y tratamiento

La evidencia actual indica que *H. pylori* es una causa importante de muchas úlceras gástricas que se pueden evitar y tratar. La bacteria es poco invasiva y coloniza la superficie de la mucosa gástrica, protegiéndose de los efectos de los ácidos del estómago por la capa de mucus gástrico. Después de la colonización se produce una combinación de los productos del patógeno y de respuestas del hospedador que origina una inflamación, la destrucción del tejido y la ulceración. Productos tales como una citotoxina (vacA), la ureasa y la producción de lipopolisacárido pueden contribuir a la destrucción tisular localizada y a la ulceración. Los individuos afectados presentan normalmente anticuerpos contra *H. pylori* pero no son anticuerpos protectores ni evitan la colonización. Los individuos que adquieren *H. pylori* tienden a desarrollar infecciones crónicas a menos que sean tratados con antibióticos. Las gastritis crónicas debidas a infecciones por *H. pylori* que no son tratadas pueden determinar la aparición de cánceres gástricos.

Los síntomas clínicos de la infección por *H. pylori* incluyen eructos y dolor estomacal epigástrico. El diagnóstico definitivo requiere el aislamiento en cultivo o la observación de *H. pylori* en biopsias de las úlceras gástricas. La presencia de anticuerpos indica infección por *H. pylori*, pero como las infecciones parecen crónicas y los anticuerpos duran meses tras una infección determinada, los anticuerpos contra *H. pylori* no son indicadores fiables de una enfermedad aguda activa. Se dispone de una prueba diagnóstica simple *in vivo* para *H. pylori*, la prueba de la ureasa, en la que el paciente ingiere urea ($H_2N—CO—NH_2$) marcada con ^{13}C o ^{14}C. Si existe ureasa, la urea se hidrolizará a CO_2 y 2 NH_2. La presencia de CO_2 marcado en el aliento del paciente revela la presencia de ureasa, que es producida casi exclusivamente por *H. pylori*. La detección de *H. pylori* o de sus antígenos en las heces es también un indicador de la infección.

La evidencia de una relación causal entre *H. pylori* y las úlceras gástricas se basa en el tratamiento de la enfermedad con antibióticos. La mayoría de los pacientes mejoran en 1 año con un tratamiento continuado a base de preparaciones anti-ácidos. Sin embargo, el tratamiento de las úlceras como una enfermedad infecciosa permite la obtención de curaciones permanentes. Las infecciones por *H. pylori* se tratan normalmente con una combinación de fármacos que incluye el antibacteriano metronidazol, un antibiótico como tetraciclina o amoxicilina y un compuesto anti-ácido con bismuto. La administración del tratamiento combinado durante 15 días elimina la infección por *H. pylori* y proporciona una cura duradera. Por sus contribuciones a aclarar las conexiones entre *H. pylori* y las úlceras pépticas y duodenales, los australianos Robin Warren y Barry Marshall recibieron el premio Nobel de Fisiología y Medicina en 2005.

34.11 Minirrevisión

La infección por *Helicobacter pylori* parece ser la causa más frecuente de úlceras gástricas. En la actualidad se tratan como una enfermedad infecciosa y se logra una curación permanente.

- Describa la infección por *H. pylori* y el desarrollo de una úlcera.
- Describa la evidencia que indica que las infecciones por *H. pylori* se transmiten de persona a persona y también por fuentes comunes.

34.12 Virus de la hepatitis

La **hepatitis** es una inflamación del hígado, causada normalmente por un agente infeccioso. A veces la hepatitis evoluciona a enfermedad aguda con destrucción de la anatomía funcional y celular del hígado, una situación que se denomina **cirrosis**. La hepatitis infecciosa puede ser crónica o aguda, y algunas formas conducen a la aparición de cáncer de hígado. Aunque muchos virus y unas cuantas bacterias pueden ocasionar hepatitis, a menudo se asocia un grupo limitado de virus con esta enfermedad hepática. Los virus de la hepatitis son diversos y no están genéticamente relacionados entre sí, pero todos infectan a las células del hígado. La **Tabla 34.2** caracteriza a los cinco virus de la hepatitis conocidos.

Epidemiología

El *virus de la hepatitis A* (HAV) se transmite de persona a persona o por ingestión de alimento o de agua con contaminación fecal. El virus causa una infección normalmen-

www.libros.com

Tabla 34.2 Virus de la hepatitis

Enfermedad	*Virus y genoma*	*Vacuna*	*Enfermedad clínica*	*Transmisión*
Hepatitis A	Hepatovirus (HAV) RNA 1 cadena	Sí	Aguda	Entérica
Hepatitis B	Ortohepadnavirus (HBV) DNA 2 cadenas	Sí	Aguda, crónica, oncogénica	Parenteral y sexual
Hepatitis C	Hepacivirus (HCV) RNA 1 cadena	No	Crónica, oncogénica	Parenteral
Hepatitis D	Deltavirus (HDV) RNA 1 cadena	No	Fulminante, sólo con HBV	Parenteral
Hepatitis E	Fam. Calicivirus (HEV) RNA 1 cadena	No	Fulminante en mujeres embarazadas	Entérica
Hepatitis G	Fam. Flavivirus (HGV) RNA 1 cadena	No	Asintomática	Parenteral

te suave llamada *hepatitis infecciosa*, que puede ser subclínica, pero que en algunos casos origina una enfermedad hepática grave. Los alimentos más típicos que transmiten la hepatitis A son los bivalvos, sobre todo ostras y almejas recolectadas de aguas contaminadas con material fecal humano. Recientemente el HAV también se transmite por productos frescos. En 2003 un brote importante aparecido en el este de Estados Unidos se debió a la ingestión de cebollas crudas no cocinadas. La tendencia general de las infecciones por HAV es descendente (**Figura 34.26**), en parte debido a la existencia de una vacuna eficaz. El HAV causa más episodios de hepatitis que ningún otro virus, y más del 30% de los individuos en Estados Unidos tienen anticuerpos contra el HAV, lo que indica una infección pasada.

La infección por el *virus de la hepatitis B* (HBV) se denomina a menudo *hepatitis sérica*. El HBV es un hepadnavirus, con DNA parcialmente bicatenario (*véase* Sección 19.15). La partícula vírica madura con el genoma vírico se llama *partícula de Dane* (**Figura 34.27**). El HBV causa una enfermedad aguda y con frecuencia letal que puede conducir a malfuncionamiento hepático y muerte. La infección crónica por HBV puede acarrear cirrosis y cáncer hepático. Normalmente el virus se transmite por vía parenteral (fuera del intestino), con transfusiones de sangre o mediante agujas hipodérmicas compartidas que están contaminadas con sangre infectada. El HBV también puede adquirirse por intercambio de líquidos corporales, como en la relación sexual. El número de infecciones nuevas por HBV está descendiendo, debido también a una vacuna eficaz. Sin embargo, más de 150.000 personas en todo el mundo, y casi 5.000 en los Estados Unidos, mueren cada año por complicaciones derivadas de infecciones crónicas por el HBV, como distintos tipos de cáncer.

El *virus de la hepatitis D* (HDV) es un virus defectivo que carece de genes para su propia cápsida proteica (*véase* Sección 19.15). El HDV también se transmite por vía parenteral, pero como es defectivo, no puede replicarse ni expresar su información a menos que la célula se infecte también con el HBV: el genoma del HDV se replica independientemente pero usa la cápsida proteica del HBV, de modo que las infecciones por HDV son siempre coincidentes con las del HBV.

El *virus de la hepatitis C* (HCV) se transmite asímismo de forma parenteral. Generalmente, al principio produce una enfermedad suave e incluso asintomática, pero un

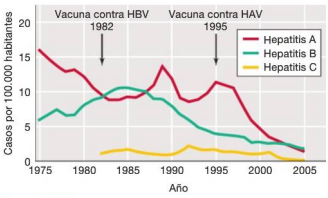


Figura 34.26 Hepatitis en Estados Unidos. Se muestra la frecuencia de hepatitis por diversos agentes víricos. En 2005 se describieron 4.488 casos de hepatitis A, 5.119 casos de hepatitis B y 652 casos de hepatitis C. Datos obtenido de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU.

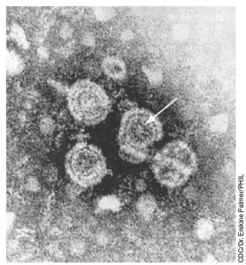


Figura 34.27 Virus de la hepatitis B (HBV). La flecha señala una partícula completa de HBV, con 42 nm de diámetro, que se denomina partícula de Dane.

85% de las personas infectadas desarrollan hepatitis crónica, de los cuales un 20% presenta disfunciones hepáticas y cirrosis. En el 3-5% de los infectados, la infección crónica acarrea hepatocarcinoma (cáncer de hígado). El período de latencia para el desarrollo del cáncer puede durar varias décadas desde la infección inicial. Los nuevos casos descritos en Estados Unidos (Figura 34.26) son solamente una fracción de las 25.000 nuevas infecciones que se producen cada año y ocurren muchas muertes relacionadas con el HCV debido a infecciones crónicas que originan cáncer de hígado. De hecho, las enfermedades hepáticas inducidas por el HCV son las enfermedades de hígado que se presentan con más frecuencia en las clínicas estadounidenses y suponen 10.000 de las 25.000 muertes anuales que se registran debidas a cáncer de hígado, enfermedades hepáticas crónicas y cirrosis.

El *virus de la hepatitis E* (HEV) se transmite por vía entérica y causa una hepatitis aguda y autolimitada cuya gravedad varía según los casos pero que ocasiona a menudo una enfermedad fulminante en mujeres embarazadas. El HEV es endémico en Méjico así como en regiones tropicales y subtropicales de Asia y África.

El *virus de la hepatitis G* (HGV) se encuentra a menudo en la sangre de pacientes con otras formas de hepatitis aguda, pero por sí mismo parece causar una enfermedad muy leve o ser completamente asintomático. Los análisis para HGV muestran que el 8,1% de los donantes de sangre son positivos para este virus, pero como el HGV no está asociado con enfermedades clínicas demostrables, la significación de este hecho no está clara.

Patología y diagnosis

La hepatitis es una enfermedad aguda del hígado. Los síntomas incluyen fiebre, ictericia (producción y liberación de exceso de bilirrubina por el hígado debido a la destrucción de los hepatocitos, que origina el color amarillento de la piel y ojos), hepatomegalia (aumento del hígado) y cirrosis (rotura de la arquitectura normal del tejido hepático, incluyendo fibrosis). La hepatitis suave se caracteriza por una elevación relativamente pequeña de enzimas hepáticos como la alanina aminotransferasa (ALT). La enfermedad fulminante se caracteriza por la aparición rápida de síntomas graves como la ictericia y la cirrosis, y a menudo es una enfermedad letal. Todos los virus de la hepatitis causan enfermedades clínicas agudas semejantes y no se pueden distinguir fácilmente basándose sólo en los síntomas clínicos. Las infecciones crónicas de hepatitis, normalmente producidas por el HBV o el HCV, suelen ser asintomáticas o producen síntomas muy ligeros, pero pueden ser causa de enfermedades hepáticas graves, incluso en ausencia de hepatocarcinoma.

El diagnóstico de la hepatitis se basa fundamentalmente en aspectos clínicos y en pruebas de laboratorio que revelan problemas en la función hepática. La cirrosis se diagnostica por examen visual de biopsias del tejido del hígado. Para confirmar el diagnóstico también se emplean pruebas específicas para los virus que identifican el agente infeccioso y determinan la pauta de tratamiento. El cultivo directo de los virus de la hepatitis no se suele usar para la identificación, y el HCV y HGV no se han logrado cultivar.

Muchos de los instrumentos de diagnóstico molecular presentados en el Capítulo 32 se emplean para diagnosticar la hepatitis. Algunos de los más corrientes para identificar los virus son pruebas de enzimoinmunoensayo (ELISA). La mayoría de los ELISA para hepatitis identifican proteínas víricas en muestras de sangre. Sin embargo, también se dispone de pruebas de ELISA de tipo indirecto que indican la presencia de anticuerpos IgM o IgG contra HBV. La IgM se asocia con la respuesta inmune primaria contra el HBV y la IgG con la secundaria. Por tanto, la identificación de la clase de anticuerpo puede determinar si la infección por HBV es nueva (IgM) o bien si es crónica o latente (IgG). Otras pruebas inmunológicas usadas para la detección de los virus de la hepatitis son la inmunotransferencia, la microscopía inmunoelectrónica y la inmunofluorescencia. Las pruebas de la reacción en cadena de la polimerasa y las de hibridación de DNA *in situ* también se emplean para detectar el genoma viral en la sangre o en muestras tisulares del hígado obtenidas por biopsia.

Prevención y tratamiento

La infección por HAV o HBV se puede evitar con vacunas efectivas. Se recomienda la vacunación contra el HBV y, en muchos casos, es obligatoria para los escolares en Estados Unidos. No existen vacunas eficaces contra los otros virus de la hepatitis.

Existen precauciones estandarizadas para el personal que maneja desechos infecciosos y fluidos corporales. Hay normas que están legalmente establecidas para instalaciones de cuidados sanitarios y laboratorios clínicos a fin de prevenir la infección por todos los virus de la hepatitis que se transmiten por vía parenteral (HBV, HCV, HDV, y HGV) y para evitar el HIV (virus de la inmunodeficiencia humana). Las precauciones exigen un alto nivel de vigilancia, la manipulación aséptica y una serie de procedimientos especiales para tratar con los pacientes, con los fluidos corporales y con los materiales de desecho. Además de transmitirse persona a persona, el HAV se puede diseminar por contaminación de fuentes comunes como el alimento y el agua. Los brotes epidémicos de hepatitis A se pueden prevenir manteniendo el agua y los alimentos libres del patógeno.

Para prevenir la infección por el HAV se puede emplear gamma globulina humana inmune con tal de que se suministre pronto después de la infección. Para prevenir la infección de HBV después de la exposición, resulta efectiva la inmunoglobulina específica contra la hepatitis B junto con la administración de la vacuna contra el HBV.

La mayoría de los tratamientos de la hepatitis son de apoyo, recomendándose descanso y tiempo para permitir

que se resuelva el daño al hígado y su reparación. En algunos casos el tratamiento con fármacos antivirales resulta efectivo. El interferon a resulta eficaz contra el HCV en algunos pacientes cuando se combina con ribavirina. El HBV se puede tratar con los antivirales foscarnet, ribavirina, lamivudina y ganciclovir.

34.12 Minirrevisión

La hepatitis vírica puede ocasionar cirrosis, que es una enfermedad hepática aguda. El HBV y HCB pueden causar infecciones crónicas que conducen a cáncer del hígado. Se dispone de vacunas contra el HAV y HBV. La incidencia y prevalencia de la hepatitis ha descendido de modo notable en los últimos 20 años en los Estados Unidos, pero la hepatitis vírica continúa siendo un importante problema de sanidad pública por la elevada capacidad infectiva de los virus y la falta de opciones de tratamiento eficaz.

- Describa el modo de transmisión del virus de la hepatitis A, de la hepatitis B y de la hepatitis C.
- Describa métodos potenciales de prevención y tratamiento para los virus de la hepatitis A y la hepatitis B.

III ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL

Las **infecciones transmitidas sexualmente** (**STI**, de *sexually transmited infections*), también llamadas *enfermedades venéreas*, están causadas por una amplia variedad de bacterias, virus, protozoos e incluso hongos (**Tabla 34.3**). A diferencia de los patógenos respiratorios que están siendo constantemente liberados en gran número por un individuo infectado, los patógenos que se transmiten sexualmente solamente se encuentran por lo general en los fluidos del tracto genitourinario que se intercambian durante la actividad sexual. Esto se debe a que estos patógenos son típicamente muy sensibles a la sequedad y a otros estreses ambientales como el calor y la luz. Su hábitat normal, el tracto genitourinario humano, es un ambiente protegido y húmedo. Por tanto, estos patógenos colonizan preferentemente, y a veces exclusivamente, el tracto genitourinario.

El diagnóstico y el tratamiento de las STI supone un desafío por motivos sociales y biológicos. En primer lugar, hasta un tercio de todas las STI se presenta en adolescentes que tienen múltiples parejas, lo que hace difícil identificar el origen de la infección y detener su transmisión. En segundo lugar, muchas STI tienen síntomas leves y los individuos afectados no emplean tratamiento. Por otra parte, la existencia de estigmas sociales relacionados con las STI impide a muchos individuos solicitar tratamiento. Sin embargo, un tratamiento precoz y efectivo es importante por diversas razones. Primero, porque la mayoría de las STI son curables y prácticamente todas se controlan con una intervención médica apropiada. Segundo, porque un retraso en el tratamiento puede llevar a problemas a largo plazo, como infertilidad, cáncer, enfermedades cardíacas, enfermedades neurodegenerativas, defectos de nacimiento, aborto o destrucción del sistema inmune.

Tabla 34.3 Enfermedades de transmisión sexual y pautas de tratamiento

Enfermedad	*Organismo(s) causante(s)*[a]	*Tratamiento recomendado*[b]
Gonorrea	*Neisseria gonorrhoeae* (B)	Cefixima/ceftriaxona y azitromicina/deoxiciclina
Sífilis	*Treponema pallidum* (B)	Penicilina G con benzatina
Infecciones por *Chamydia trachomatis*	*C. trachomatis* (B)	Deoxiciclina o azitromicina
Uretritis no gonocócica	*C. trachomatis* (B o *Ureaplasma urealyticum* (B) o *Mycoplasma genitalium* (B) o *Tricomonas vaginalis* (B)	Azitromicina
Linfogranuloma venéreo	*C. trachomatis* (B)	Deoxiciclina
Chancro	*Haemophilus ducreyi* (B)	Azitromicina
Herpes genital	Herpes símple tipo 2 (V)	Sin cura, los síntomas se controlan con aciclovir, valciclovir y otros fármacos antivirales
Verrugas genitales	Algunas cepas de virus del papiloma humano (HPV)	Sin cura, las verrugas sintomáticas se eliminan por cirugía, compuestos químicos o crioterapia.
Tricomoniasis	*Trichomonas vaginalis* (P)	Metronidazol
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida humana (SIDA)	Virus de la inmunodeficiencia humana (HIV)	Sin cura; puede retrasarse la lenta evolución de la enfermedad con análogos de bases nucleotídicas, inhibidores de proteasa y de fusión, e inhibidores no nucleosídos de la transcripasa inversa.
Enfermedad pélvica inflamatoria	*N. gonorrhoeae* (B) o *C. trachomatis* (B)	Cefotetan
Candidiasis vulvovaginal	*Candida albicans* (F)	Butoconazol

[a] B, bacteria; V, virus; P, protozoo; F, hongo.

[b] Recomendaciones del Departamento de Sanidad y Servicios Humanos, Servicio de Salud Pública, EE.UU. Muchas pautas de tratamiento presentan otras alternativas.

Como la transmisión de las STI se limita al contacto físico íntimo, generalmente durante el acto sexual, su extensión se puede controlar por abstinencia sexual (no intercambio de fluidos corporales) o por el uso de barreras como preservativos, que detienen el intercambio de los fluidos del cuerpo durante la actividad sexual.

34.13 Gonorrea y sífilis

Tanto la *gonorrea* como la *sífilis* son STI bacterianas evitables y tratables. Debido a la disparidad de síntomas, las dos enfermedades difieren considerablemente entre sí. La gonorrea es muy frecuente, y a menudo asintomática, principalmente en mujeres; muchas veces la enfermedad no llega a ser diagnosticada y permanece sin tratamiento. Por otra parte, la sífilis tiene en la actualidad una incidencia baja (**Figura 34.28**). Esto se debe en parte a que la sífilis muestra síntomas muy evidentes en sus fases iniciales y a que los individuos afectados buscan un tratamiento inmediato.

Gonorrea

Neisseria gonorrhoeae, con frecuencia llamada *gonococo*, es la causa de la gonorrea. *N. gonorrhoeae* es un diplococo gramnegativo no esporulado, aerobio estricto y oxidasa positivo, que está bioquímica y filogenéticamente relacionado con *Neisseria meningitidis* (*véanse* Sección 15.10 y Sección 34.6). *N. gonorrhoeae* es muy sensible a la desecación y normalmente no sobrevive fuera de las membranas mucosas del aparato genitourinario (**Figura 34.29**). Los gonococos mueren rápidamente por deshidratación y por la luz solar y la luz ultravioleta. Debido a su gran sensibilidad a las condiciones ambientales, *N. gonorrhoeae* sólo se transmite por contacto directo íntimo de una persona a otra. El patógeno entra en el cuerpo por las membranas mucosas del tracto genitourinario.

Los síntomas de la gonorrea son muy diferentes en el hombre y en la mujer. En las mujeres, la gonorrea presenta una vaginitis débil y es difícil distinguirla de infecciones vaginales causadas por otros organismos, de modo que la infección puede pasar fácilmente desapercibida. Las complicaciones surgidas por falta de tratamiento en las mujeres pueden conducir, no obstante, a una situación conocida como enfermedad pélvica inflamatoria, que es de naturaleza crónica y puede originar esterilidad a largo plazo. En el hombre, el organismo causa una infección dolorosa del canal uretral. La falta de tratamiento de la gonorrea puede ocasionar, tanto en el hombre como en la mujer, daño en las válvulas cardíacas y en las articulaciones debido a la acumulación de complejos inmunes.

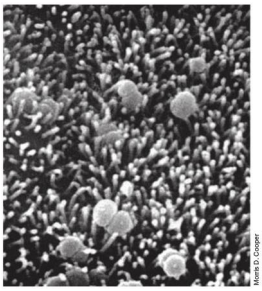


Figura 34.29 ***Neisseria gonorrhoeae*, el agente causante de la gonorrea.** La micrografía por microscopía electrónica de barrido de las microvellosidades de la mucosa de las trompas de Falopio muestra células de *N. gonorrhoeae* adheridas a la superficie de las células epiteliales. Nótese la típica disposición en diplococos. Las células tienen cerca de 0,8 μm de diámetro.

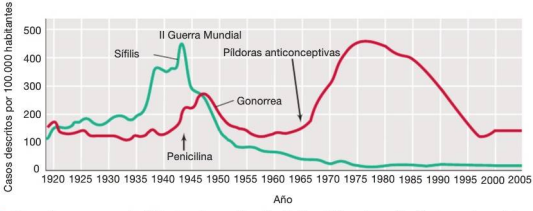


Figura 34.28 Casos de gonorrea y de sífilis descritos en Estados Unidos. Nótese la tendencia descendente de las enfermedades tras la introducción de los antibióticos y la incidencia alcista de la gonorrea tras la introducción de píldoras anticonceptivas. En 2005 se dieron 339.593 casos de gonorrea y solo 8.724 casos de sífilis primaria y secundaria en Estados Unidos.

Además de la gonorrea, *N. gonorrhoeae* también causa infecciones oculares en los neonatos. Los niños que nacen de madres infectadas pueden adquirir la infección ocular durante el parto. Para evitar la infección gonocócica en los niños, es importante tomar medidas profilácticas en los ojos de todos los recién nacidos mediante pomadas con eritromicina. En la Sección 32.1 expusimos la microbiología clínica y el diagnóstico de la gonorrea.

En el pasado, el tratamiento de la gonorrea con penicilina resultaba eficaz. Sin embargo, en los años 1980 aparecieron cepas resistentes de *N. gonorrhoeae* que están ahora muy extendidas. Las quinolonas ciprofloxacino, ofloxacino y levofloxacino también se han utilizado, pero en 2006 cerca del 15% de las cepas aisladas habían desarrollado resistencia. Las cepas resistentes a la penicilina y a las quinolonas responden a una terapia antibiótica alternativa con una dosis única del b-lactámico cefixima o ceftriaxona. A menudo se suministra al mismo tiempo un agente anticlamidias, normalmente azitromicina o deoxiclina, porque casi el 50% de los pacientes con gonorrea están también infectados con el patógeno de transmisión sexual *Chlamydia trachomatis*, que es más difícil de diagnosticar (Tabla 34.3; Sección 34.14).

La incidencia de la infección gonocócica mantiene relativamente alta por las siguientes razones: (1) No existe inmunidad adquirida; por tanto es posible la aparición de reinfecciones repetitivas. Aunque se producen anticuerpos no son protectores, o son específicos para la cepa, y no aportan inmunización cruzada. Dentro de una misma cepa puede haber cambios antigénicos que afectan a los antígenos proteicos de opacidad (Opa) y a los de la pilina superficial. Estos cambios crean nuevos serotipos que impiden una inmunidad eficaz. (2) El uso de anticonceptivos orales altera el ambiente local de las mucosas a favor del patógeno. Los anticonceptivos orales inducen al cuerpo a simular situaciones de embarazo, lo que origina, entre otras cosas, una falta de producción de glucógeno en la vagina y un aumento en el pH vaginal. Las bacterias lácticas que se encuentran normalmente en la vagina de una mujer adulta (*véase* Figura 28.11) no se desarrollan bajo tales circunstancias facilitando la colonización de *N. gonorrhoeae* transmitida por una pareja infectada. (3) En la mujer los síntomas son tan débiles que la enfermedad tiende a pasar sin ser reconocida, y una mujer infectada que tenga muchas parejas puede infectar a muchos hombres. La enfermedad se puede controlar si se identifican rápidamente los contactos sexuales de las personas infectadas y se someten a tratamiento. Esta información es a menudo difícil de obtener e incluso más difícil establecer un tratamiento, ya que los estigmas sociales asociados con las enfermedades de transmisión sexual suponen obstáculos para el cuidado médico.

Sífilis

La sífilis está causada por una espiroqueta muy fina, *Treponema pallidum*, que mide 10-15 μm de largo por 0,15 mm de ancho (**Figura 34.30**). La espiroqueta es muy sensible a variaciones ambientales, por lo que la sífilis se transmite normalmente de persona a persona por contacto sexual íntimo. En la Sección 16.16 se presentó la biología de las espiroquetas y del género *Treponema*.

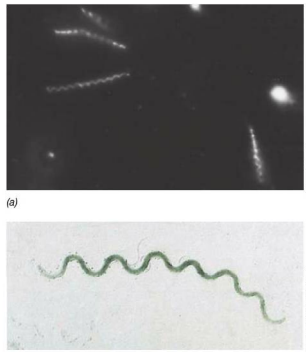


Figura 34.30 **La espiroqueta de la sífilis, *Treponema pallidum*.** *(a)* Exudado observado en un microscopio de campo oscuro. Las células de *T. pallidum* miden 0.15 μm de ancho y 10-15 μm de largo. *(b)* Micrografía electrónica de una preparación sombreada de *T. pallidum*. Los endoflagelos son típicos de espiroquetas.

Con frecuencia la sífilis se transmite al mismo tiempo que la gonorrea. Sin embargo, la sífilis es potencialmente más grave que la gonorrea. Por ejemplo, en todo el mundo la sífilis mata más de 150.000 personas al año, mientras que la gonorrea mata directamente sólo a unas 1.000. No obstante, sobre todo debido a la diferencia de síntomas y de patobiología entre las dos enfermedades, la frecuencia de la sífilis en Estados Unidos es menor que la de la gonorrea (Figura 34.28).

La espiroqueta de la sífilis no traspasa la piel intacta, y probablemente la infección inicial ocurre a través de pequeñas fisuras de la capa epidérmica. En el hombre, la infección inicial se presenta en el pene; en la mujer, en la vagina, cérvix y región perineal. En un 10% de los casos la infección es extragenital, normalmente en la boca. Durante el embarazo, el organismo se puede transmitir de la madre infectada al feto; la enfermedad adquirida de este modo se llama **sífilis congénita**.

La sífilis es una enfermedad muy compleja y en cada paciente pude progresar hasta alcanzar alguna de las tres fases características. La enfermedad siempre se inicia con

una infección localizada llamada *sífilis primaria*. En esta fase, *T. pallidum* se multiplica en el sitio de entrada inicial y se forma una lesión primaria característica llamada *chancro* entre 2 semanas y 2 meses después de la infección (**Figura 34.31**). Los exudados del chancro sifilítico revelan por microscopía de campo oscuro la presencia de espiroquetas activas móviles (Figura 34.30*a*). En la mayoría de los casos el chancro se cura espontáneamente y *T. pallidum* desparece del lugar. Sin embargo, algunas células pueden desplazarse desde el sitio inicial a otras partes del cuerpo, como membranas mucosas, ojos, articulaciones, huesos y sistema nervioso central donde se multiplica. A menudo ocurre una reacción de hipersensibilidad contra los treponemas que se revela por el desarrollo de un sarpullido generalizado y que es un síntoma clave de la *sífilis secundaria*. Al principio, las pápulas del sarpullido pueden contener *T. pallidum*, por lo que son muy infecciosas. Con el tiempo las espiroquetas disminuyen de las lesiones secundarias y se reduce la capacidad infectiva.

El desarrollo posterior de la enfermedad en ausencia de tratamiento es muy variable. Casi la cuarta parte de los individuos infectados cura espontáneamente como demuestra el descenso en el título de anticuerpos. Otra cuarta parte no muestra más síntomas, aunque los títulos estabilizados o elevados de anticuerpos indican una infección activa y persistente. Aproximadamente la mitad de los pacientes sin tratar desarrolla *sífilis terciaria*, con síntomas que varían desde infecciones relativamente suaves de la piel y de los huesos hasta infecciones graves e incluso mortales del sistema cardiovascular y del sistema nervioso central. El daño en el sistema nervioso puede causar parálisis generalizada u otras patologías nerviosas graves. En individuos con sífilis terciaria se presenta un número relativamente bajo de células de *T. pallidum*, y la mayoría de los síntomas probablemente son consecuencia de la inflamación debida a reacciones de hipersensibilidad retardada frente a las espiroquetas.

En la Sección 32.1 se presentó la inmunología clínica y la microbiología de la sífilis así como el diagnóstico de laboratorio. El síntoma clínico más importante de la sífilis primaria, el chancro, es un diagnóstico de la enfermedad. Los individuos infectados solicitan generalmente tratamiento para la sífilis por la visibilidad del chancro.

La penicilina es muy eficaz en la terapia contra la sífilis, y las fases primaria y secundaria de la enfermedad pueden generalmente controlarse con una inyección única de penicilina G con benzatina. En la sífilis terciaria el tratamiento con penicilina requiere períodos más prolongados. La incidencia de sífilis primaria y secundaria en Estados Unidos ha descendido de modo notable en las últimas dos décadas y está en su nivel más bajo de todas las estadísticas recogidas.

34.13 Minirrevisión

Las gonorrea y la sífilis, causadas respectivamente por *Neisseria gonorrhoeae* y por *Treponema pallidum*, son enfermedades de transmisión sexual con secuelas potenciales graves en ausencia de tratamiento. Aunque la frecuencia de estas enfermedades ha descendido en los últimos años, se presentan más de 330.000 nuevos caso de gonorrea y cerca de 8.000 nuevos casos de sífilis cada año en Estados Unidos.

- Explique al menos una posible razón para la elevada frecuencia de la gonorrea en comparación con la sífilis.
- Describa la evolución de la gonorrea y de la sífilis sin tratamiento ¿Curan los tratamientos estas enfermedades?

34.14 *Chlamydia*, herpes, tricomoniasis y virus del papiloma humano

Las infecciones por clamidias, herpes, tricomonas y el virus del papiloma humano son importantes STI. Esta enfermedades son muy frecuentes en la población y más difíciles de diagnosticar y tratar que la sífilis y la gonorrea.

(a)

(b)

Figura 34.31 Lesiones de sífilis primaria. *(a)* Chancro labial. *(b)* Varios chancros en el pene. El chancro es la lesión característica de la sífilis primaria en el lugar de infección por *Treponema pallidum*. Los enfermos generalmente buscan ayuda médica y la obviedad del chancro acelera el diagnóstico y el tratamiento.

Chlamydia

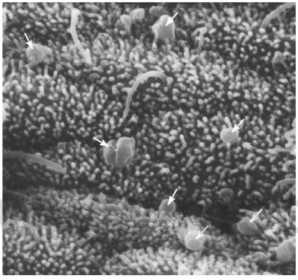
Varias enfermedades de transmisión sexual se deben a la infección por la bacteria intracelular *Chlamydia trachomatis* (**Figura 34.32** y *véase* Sección 16.9). La incidencia total de las infecciones por *C. trachomatis* transmitidas sexualmente probablemente supera con mucho a la de la gonorrea. Cada año se describen más de 900.000 casos y puede haber más de 4 millones de nuevas infecciones por *C. trachomatis* transmitidas sexualmente. En Estados Unidos este organismo es la causa de la STI descrita con más frecuencia. *C. trachomatis* también origina una enfermedad ocular grave llamada *tracoma*, pero las cepas de *C. trachomatis* responsables de las STI son distintas de las que causan el tracoma. Las infecciones por clamidias también pueden transmitirse de manera congénita a los recién nacidos durante el parto, dando lugar a conjuntivitis y neumonía.

La *uretritis no gonocócica* (NGU, del inglés *nongonococcal urethritis*) producida por *C. trachomatis* es una de las enfermedades de transmisión sexual observadas más frecuentemente en hombres y mujeres, pero a menudo es inaparente. En un pequeño porcentaje esta enfermedad clamidial produce complicaciones agudas graves, como hinchamiento testicular e inflamación de la próstata en el hombre, y cervicitis, inflamación pélvica y daño en las trompas de Falopio en las mujeres; las células de *C. trachomatis* se unen a las microvellosidades de las trompas, penetran, se multiplican y finalmente lisan las células (Figura 34.32). La falta de tratamiento de esta enfermedad puede originar esterilidad.

La NGU producida por clamidias es difícil de diagnosticar por métodos tradicionales de aislamiento e identificación, pero el organismo puede ser cultivado. Sin embargo, para acelerar el diagnóstico, se han desarrollado pruebas para identificar a *C. trachomatis* en frotis vaginales o pélvicos o en descargas. Entre estas pruebas están las sondas con ácidos nucleicos, la amplificación de ácidos nucleicos, la inmunofluorescencia y el enzimoinmunoensayo (ELISA), que detectan genes y antígenos de *C. trachomatis*. Si se sospecha una infección por clamidias se inicia el tratamiento, incluso en ausencia de una prueba diagnóstica positiva, con azitromicina o doxiciclina (Tabla 34.3).

La NGU por clamidias aparece con frecuencia como una infección secundaria a la gonorrea. Si tanto *Neisseria gonorrhoeaea* como *C. trachomatis* se transmiten al nuevo hospedador en un mismo suceso, el tratamiento de la gonorrea con cefixima o ceftriaxon suele ser eficaz, pero no elimina las clamidias. Tales pacientes, aunque curados de gonorrea están aún infectados con clamidias y finalmente experimentan una recurrencia de aparente gonorrea que en este caso es una NGU por clamidias. Por tanto a los pacientes con gonorrea se les suministra también azitromicina o doxiciclina para tratar la posible coinfección con *C. trachomatis* que normalmente no resulta diagnosticada.

El linfogranuloma venéreo es una enfermedad transmitida sexualmente que está producida por una cepa distinta de *C. trachomatis* (LGV1, 2 y 3). La enfermedad se presenta con más frecuencia en hombres y se caracteriza por infección e inflamación de los nódulos linfáticos de las ingles. Las clamidias pueden viajar de los nódulos linfáticos al recto y causar una dolorosa inflamación de los tejidos rectales llamada proctitis. El linfogranuloma venéreo tiene la capacidad de dañar los nódulos linfáticos regionales y complicar la proctitis. Es la única infección por clamidias que puede invadir más allá de la capa de células epiteliales.



(a)

(b)

Figura 34.32 Células de *Chlamydia trachomatis* (flechas) unidas al tejido de las trompas de Falopio. *(a)* Células unidas a las microvellosidades de una trompa de Falopio. *(b)* Lesión conteniendo una célula de *C. trachomatis* (flecha).

Herpes

Los herpesvirus son un diversificado grupo de virus con DNA bicatenario (*véase* Sección 19.12) muchos de los cuales son patógenos para el hombre. Un subgrupo de los herpesvirus, los virus del herpes símple, es el responsable de los herpes labiales y de infecciones genitales.

El *virus del herpes símple tipo 1* (*HSV-1*) infecta las células epiteliales de alrededor de la boca y los labios causando herpes labial (**Figura 34.33a**). Sin embargo, en ocasiones el HSV-1 puede infectar otras partes del cuerpo como las regiones anales y genitales. El HSV-1 se transmite por contacto directo o por saliva. El período de incubación de la infección es corto (3-5 días) y la lesión cura sin tratamiento en 2-3 semanas. Parece probable que el virus se disemina sobre todo por contacto con lesiones infectadas. Las infecciones latentes de herpes son frecuentes, y el virus persiste en bajo número en el sistema nervioso. Las infecciones recurrentes en forma aguda se deben a una inducción periódica de la actividad vírica por causas desconocidas o indeterminadas, como pueden ser coinfecciones o estrés. El herpes oral por HSV-1 es muy común y aparentemente no tiene efectos perjudiciales para el hospedador mas allá de la molestia de la ampolla oral.

Las infecciones por *virus del herpes símple tipo 2* (*HSV-2*) se asocian fundamentalmente con la región anogenital, donde el virus produce ampollas dolorosas en el pene en los hombres (Figura 34.33*b*) y en el cérvix, vulva o vagina en las mujeres. Las infecciones por HSV-2 se transmiten generalmente por contacto sexual directo y la enfermedad se transmite con más facilidad cuando se presentan ampollas activas, aunque también puede ocurrir durante períodos asintomáticos o incluso cuando la infección parece latente. El HSV-2 infecta a veces otras zonas como las membranas mucosas de la boca, y puede transmitirse también al recién nacido durante el parto por contacto con lesiones herpéticas del conducto de alumbramiento. En el recién nacido la enfermedad varía desde una infección latente sin daño aparente hasta una enfermedad sistémica con daño cerebral o muerte. Para evitar las infecciones del neonato por herpes se recomienda el parto por cesárea en mujeres embarazadas con infecciones genitales por herpes. Los efectos del herpes genital a largo plazo no se conocen por completo. Sin embargo, hay estudios que indican una estrecha correlación entre el herpes genital y el carcinoma cervical en mujeres.

En la actualidad las infecciones por herpes genital son incurables, aunque un número limitado de fármacos ha mostrado eficacia en el control del estado infeccioso en la fase de ampollas. El análogo de la guanina aciclovir (**Figura 34.34**), en tratamiento oral o tópico, es particularmente eficaz para limitar la cantidad de virus liberado de las ampollas y favorecer la curación de las lesiones resultantes. El aciclovir, valciclovir y vidarabina son análogos de nucleósidos que interfieren con la DNA polimerasa de los herpesvirus inhibiendo la replicación del DNA vírico.

Tricomoniasis

La uretritis no gonocócica puede deberse también a infecciones con el protozoo *Trichomonas vaginalis* (**Figura 34.35**). *T. vaginalis* no produce células en reposo o quistes que son importantes en el ciclo de vida de muchos protozoos. Por tanto, la transmisión se produce por lo general de persona a persona, normalmente por relación sexual. No obstante, las células de *T. vaginalis* pueden sobrevivir durante 1-2 horas en superficies húmedas, 30-40 minutos en agua y hasta 24 horas en la orina y en el se-

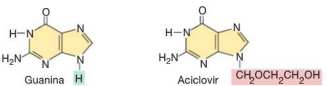


Figura 34.34 Guanina y su análogo aciclovir. El aciclovir se emplea como quimioterápico para controlar el herpes genital (HSV-2).

Figura 34.33 Herpesvirus. *(a)* Un caso grave de ampollas de herpes en la cara por infección con herpes símple tipo 1. *(b)* Infección en el pene con herpes símple tipo 2.

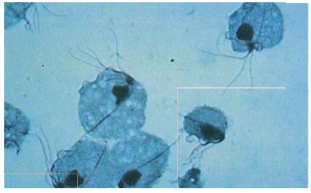


Figura 34.35 *Trichomonas vaginalis*. Este protozoo flagelado produce tricomoniasis, que es una enfermedad transmitida sexualmente.

men. En consecuencia, *T. vaginalis* se transmite en ocasiones por asientos contaminados en los aseos, recintos de sauna y por papel higiénico. En las mujeres *T. vaginalis* infecta la vagina, en el hombre la próstata y las vesículas seminales, y en ambos casos la uretra.

En el hombre, muchos casos de tricomoniasis son por completo asintomáticos. En las mujeres la tricomoniasis se caracteriza por descargas vaginales, vaginitis y dolor al orinar. La infección es más frecuente en las mujeres y el 25-50% de las sexualmente activas están infectadas mientras que solo el 5% de los hombres están infectados a causa de la acción letal del líquido prostático. La pareja de una mujer infectada debería examinarse para *T. vaginalis* y tratarse, si fuera necesario, porque los hombres asintomáticos sexualmente activos pueden transmitir la infección a varias mujeres. La tricomoniasis se diagnostica por observación de los protozoos móviles en preparaciones frescas de fluidos de los pacientes. El compuesto contra protozoos *metronidazol* es eficaz en el tratamiento de la tricomoniasis (Tabla 34.4).

Virus del papiloma humano

Los **papilomavirus humanos** (**HPV**) forman una familia de virus con DNA bicatenario. Existen más de 100 cepas diferentes, de las que unas 30 se transmiten sexualmente, y algunas causan verrugas genitales y cáncer cervical (*véase* Capítulo 30, Información adicional: «La promesa de nuevas vacunas»). En Estados Unidos, cerca de 20 millones de personas están infectadas y hasta el 80% de las mujeres mayores de 50 años han tenido al menos una infección con HPV. Al año adquieren nuevas infecciones por HPV más de 6 millones de personas. Cerca de 10.000 mujeres desarrollan cáncer cervical, con 3.700 muertes anuales.

La mayoría de las infecciones por HPV son asintomáticas, y algunas progresan hasta formar verrugas genitales. Otras causan neoplasias cervicales (anormalidades en las células del cuello del útero) y unas pocas se convierten en carcinomas. La mayor parte de las infecciones se resuelven espontáneamente pero, como en la mayoría de las infecciones víricas, no existe un tratamiento adecuado o cura para las infecciones activas. Por su capacidad potencial como virus oncogénicos, se ha desarrollado una vacuna contra HPV que ha sido diseñada para inducir inmunidad contra la mayoría de las cepas víricas que son oncogénicas. En la actualidad se recomienda la vacuna para mujeres de 11-26 años. En el futuro también puede ser recomendable para hombres, pues pueden desarrollar cáncer en el ano y en el pene por infecciones con HPV, del que son portadores.

34.14 Minirrevisión

La infección de transmisión sexual más frecuente está causada por la bacteria *Chlamydia trachomatis*. La uretritis clamidial no gonocócica causa complicaciones graves en hombres y mujeres. Las lesiones herpéticas también se pueden transmitir sexualmente y están producidas por los virus del herpes símple tipos 1 y 2. El HSV-2 se asocia generalmente con la transmisión sexual de infecciones en la región anogenital. No existe cura para las infecciones por herpes. *Tricomonas vaginalis* es un protozoo responsable de la tricomoniasis. Los virus del papiloma humano causan infecciones muy frecuentes transmitidas sexualmente que pueden producir cáncer. Existe una vacuna efectiva contra HPV. En general, estas enfermedades de transmisión sexual están muy distribuidas y son más difíciles de diagnosticar y tratar que la gonorrea y la sífilis.

- Describa caracteres clínicos y pautas de tratamiento para la clamidia, el herpes, la tricomoniasis y el virus del papiloma humano.
- ¿Por qué son estas enfermedades más difíciles de diagnosticar que la gonorrea y la sífilis?

34.15 Síndrome de la inmunodeficiencia adquirida: SIDA y HIV

El síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se reconoció en 1981como una enfermedad diferencial. Desde entonces, sólo en Estados Unidos se han descrito más de 950,000 casos de SIDA y más de 530.000 han muerto por esta causa (*véase* Sección 33.6). Al menos 476.000 individuos, y tal vez hasta 1,4 millones, están viviendo con una infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV, del inglés *human inmunodeficiency virus*) que es el agente causal del SIDA. En todo el mundo, se han infectado más de 70 millones de personas con HIV, y al menos 5 millones se infectan cada año. Anualmente mueren 3 millones de personas y más de 25 millones lo han hecho ya debido al SIDA.

HIV

El HIV se divide en dos tipos, *HIV-1* y *HIV-2*. Aunque distinto, el HIV-1 es genéticamente similar al HIV-2. El HIV-2 se descubrió en África oriental en 1985, es menos virulento que el HIV-1 y ocasiona una enfermedad semejante al SIDA pero más suave. En la actualidad más del 99% de los casos de SIDA en todo el mundo se deben al HIV-1 y por ello nos centraremos aquí en él.

El HIV-1 es un retrovirus (*véase* Sección 19.15) cuyo genoma contiene 9.749 nucleótidos en cada una de sus dos cadenas idénticas de RNA. Utilizando el RNA vírico como molde, la transcriptasa inversa del virión intacto cataliza la formación de una molécula monocatenaria de DNA complementario. El enzima convierte después el DNA complementario (cDNA) en DNA bicatenario que se integra en el genoma de la célula hospedadora (*véase* Figura 10.24).

El número de individuos infectados por HIV continuará en aumento hasta que se descubran tratamientos curativos o métodos de prevención. En Estados Unidos, las nuevas infecciones diagnosticadas está aumentando, y los descensos en morbilidad y mortalidad atribuibles a la terapia antiretroviral parece que han terminado, invir-

tiéndose la tendencia que se observaba en los años 1990 hacia una disminución en la prevalencia y gravedad del SIDA. Con anterioridad hemos considerado la epidemiología del SIDA (*véase* Sección 33.6) y algunos métodos de diagnóstico para identificar la infección por HIV (*véanse* Secciones 32.10-32.11). Aquí nos centraremos ahora en la patogénesis del SIDA, el curso normal de la infección por el HIV y los efectos del HIV sobre el sistema inmune.

Definición del SIDA

La primera sospecha de que el SIDA es una enfermedad que afecta al sistema inmune se debe a la observación de que en algunas poblaciones ocurría un gran número de infecciones oportunistas (*véase* Sección 33.6). Las **infecciones oportunistas** son infecciones que normalmente se observan sólo en individuos con un malfuncionamiento del sistema inmune. En 1993 se adoptó la siguiente definición del SIDA por los Centros de Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta (Georgia, USA).

En la definición de un caso de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) se incluye a quienes (a) den positiva la prueba para el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) y (b) cumplan uno de los dos criterios siguientes:

1. Presencia de un número de células T CD4 menor de 200/mm^3 en sangre completa (la concentración normal es de 600-1000/mm^3) o un porcentaje de células T CD4 respecto a linfocitos totales menor del 14%.
2. Presencia de un número de células T CD4 mayor de 200/mm^3 *y* cualquiera de las siguientes condiciones (**Figura 34.36**): enfermedades fúngicas como candidiasis, cocidiomicosis, criptococosis, histoplasmosis, isosporiasis, neumonía por *Pneumocystis carinii*, criptoporidiosis o toxoplasmosis cerebral; enfermedades bacterianas como tuberculosis pulmonar u otras infecciones por especies de *Mycobacterium*, o septicemias recurrentes de *Salmonella*; enfermedades víricas como infección por citomegalovirus, encefalopatía relacionada con HIV, síndrome de debilidad por HIV, úlceras crónicas, bronquitis debida a herpes símple; o leucoencefalopatía progresiva multifocal, enfermedades malignas como cáncer cervical invasivo, sarcoma de Kaposi, linfoma de Burkitt, linfoma cerebral primario, o linfoma inmunoblástico; o neumonía recurrente debida a cualquier agente.

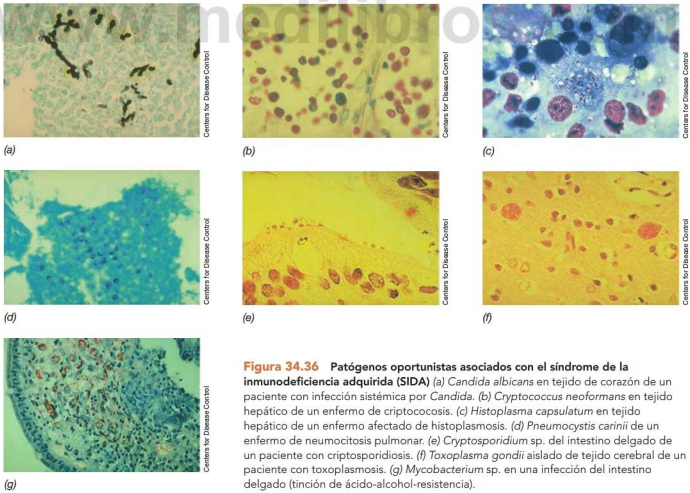


Figura 34.36 Patógenos oportunistas asociados con el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida (SIDA) *(a) Candida albicans* en tejido de corazón de un paciente con infección sistémica por *Candida*. *(b) Cryptococcus neoformans* en tejido hepático de un enfermo de criptococosis. *(c) Histoplasma capsulatum* en tejido hepático de un enfermo afectado de histoplasmosis. *(d) Pneumocystis carinii* de un enfermo de neumocitosis pulmonar. *(e) Cryptosporidium* sp. del intestino delgado de un paciente con criptosporidiosis. *(f) Toxoplasma gondii* aislado de tejido cerebral de un paciente con toxoplasmosis. *(g) Mycobacterium* sp. en una infección del intestino delgado (tinción de ácido-alcohol-resistencia).

La enfermedad oportunista más frecuente en enfermos de SIDA es la neumonía causada por el protozoo *P. carinii*. Una enfermedad no microbiana igualmente frecuente en pacientes de SIDA es el sarcoma de Kaposi, que es un cáncer atípico muy común en hombres homosexuales infectados por HIV. El sarcoma de Kaposi es un cáncer de las células que recubren los vasos sanguíneos y se caracteriza por la aparición de manchas de color púrpura en la superficie de la piel, sobre todo en las extremidades (**Figura 34.37**). El sarcoma de Kaposi se debe a la coinfección de HIV y el herpesvirus humano tipo 8 (HHV-8) y es 20.000 veces más frecuente en pacientes de SIDA que en la población general.

En resumen, un individuo tiene SIDA si da positiva la prueba para el HIV o para anticuerpos contra el HIV y tiene una drástica reducción en el número de linfocitos T de tipo helper o presenta al menos una de las infecciones oportunistas o formas atípicas de cáncer.

Patogénesis del HIV

El HIV infecta células que contienen la proteína superficial CD4. Los dos tipos de células infectadas más a menudo son los macrófagos y una clase de linfocitos denominados T-helper (T_H). Ambos son componentes importantes del sistema inmune. Los macrófagos y las células T infectadas producen y liberan muchas partículas de HIV, que a su vez infectan otras células que exhiben CD4 (**Figura 34.38**).

Además de interaccionar con CD4, el HIV debe interaccionar con co-receptores en las células diana. Normalmente, la infección por HIV ocurre primero en los macrófagos, un tipo de célula presentadora de antígenos (APC) que tiene muy bajo nivel de CD4 en su superficie (**Figura 34.39**). En la superficie celular del macrófago, la molécula de CD4 se une a la proteína gp120 del HIV. La proteína vírica gp120 interacciona después con otra proteína transmembranal del macrófago, el receptor de quimioquinas CCR5. CCR5 es un co-receptor para el HIV y, junto con CD4, forma el lugar de acoplamiento donde la envoltura del HIV se fusiona con la membrana citoplásmica de la célula hospedadora, permitiendo la entrada de la nucleocápsida viral en la célula. El co-receptor CCR5 es necesario para la unión del HIV a los macrófagos. Las personas que expresan una proteína variante de CCR5 no unen HIV y no adquieren la infección. Después de que el virus ha infectado a los macrófagos APC, se produce una forma diferente de gp120, que a su vez se une a un co-receptor diferente, el receptor de quimioquinas CXCR4 de las células T.

A continuación, el HIV entra en los linfocitos T-helper CD4 y destruye las células T_H1 y T_H2 que proporcionan las respuestas inflamatorias mediadas por células y la ayuda a las células B (*véase* Sección 29.8). Por tanto, la infección por HIV comienza en los macrófagos y evoluciona hasta una infección de las células T. El resultado de la infección es una destrucción sistemática de los macrófagos y de las células T originando una catastrófica disfunción de la inmunidad; las infecciones oportunistas pueden desarrollarse así a continuación sin problemas.

Las personas con SIDA tienen un reducido número de linfocitos CD4. Sin embargo, la infección no mata inmediatamente a la célula hospedadora y el HIV puede existir como provirus y no como un virión infectivo; bajo estas condiciones, mediante la transcripción inversa, el genoma del HIV se integra (como DNA) en el DNA del cromosoma de la célula hospedadora. La célula puede no

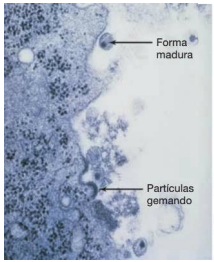
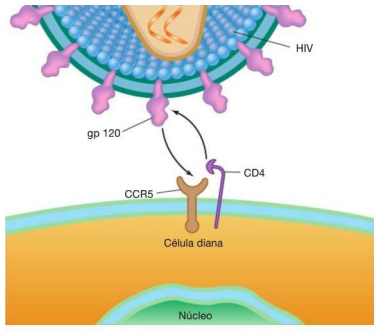


Figura 34.38 **Linfocito humano liberando HIV**. Micrografía electrónica de transmisión de un corte fino donde se observan células de un enfermo hemofílico que desarrolló SIDA. Las partículas de HIV tienen 90-120 nm de diámetro.

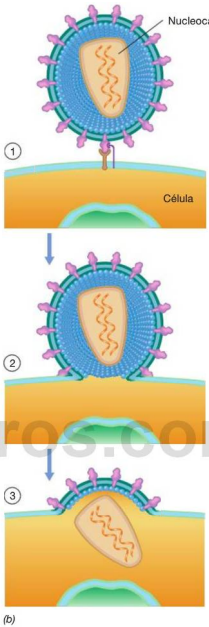
(a)

(b)

Figura 34.37 **Sarcoma de Kaposi.** Se muestran lesiones en el talón y parte lateral del pie *(a)*, y en la porción distal de la pierna y tobillo *(b)*.



(a)



(b)

www.medilibros.com

Figura 34.39 Infección de una célula diana CD4 por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). *(a)* Interacción del HIV con una célula diana a través de la unión específica de la gp120 del HIV con el receptor CD4 y el co-receptor CCR5. *(b)* La fusión de la envuelta del HIV con la célula hospedadora comienza con la interacción del virus con un par receptor co-receptor sobre la superficie de la célula hospedadora. A continuación, la envoltura vírica y la membrana de la célula hospedadora se fusionan. Finalmente, la nucleocápsida se inserta en la célula hospedadora dando origen a la infección vírica activa.

mostrar signos externos de infección y el DNA del HIV puede permanecer latente por períodos largos, replicándose cuando lo hace el DNA del hospedador. Finalmente, se sintetiza virus y se producen nuevas partículas de HIV que se liberan de la célula. Las células T que producen virus no se dividen y mueren.

La destrucción de las células CD4 se acelera tras el procesamiento de los antígenos por células T. Tales células insertan moléculas de gp120 de las partículas de HIV en sus superficies, y la proteínas gp120 insertadas en las células infectadas se unen luego a las de CD4 de células sin infectar. Después las células infectadas y no infectadas se pueden fusionar formando células gigantes multinucleadas formando un *sincitio*. Cada célula T infectada por HIV puede llegar a formar fusiones con hasta 50 células sin infectar. Poco después de la formación de sincitios, las células fusionadas pierden su capacidad inmune y mueren.

La infección por HIV provoca un descenso progresivo en el número de células CD4. En un individuo sano, representan cerca del 70% de las células T totales; en un paciente de SIDA, el número de células CD4 decrece sostenidamente y, al tiempo en que puede aparecer una infección oportunista, las células CD4 pueden estar casi ausentes (*véanse* Figura 32.31 y **Figura 34.40**).

Consecuencias de la infección por HIV

La reducción de células T CD4 tiene graves consecuencias para los pacientes de SIDA. A medida que desciende su número, desciende la producción de citoquinas ocasionando una reducción funcional de la respuesta inmu-

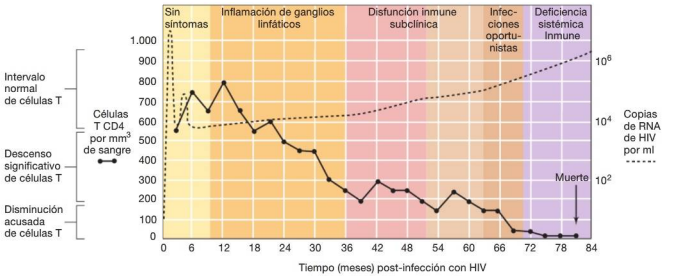


Figura 34.40 Descenso de los linfocitos T CD4 y evolución de la infección por el HIV. Durante la evolución típica del SIDA no tratado hay una pérdida progresiva del número de células T CD4 y de su funcionalidad mientras que la carga vírica, medida como copias de RNA específico del HIV por mililitro de sangre, aumenta gradualmente después de un descenso inicial.

ne; en pacientes de SIDA las respuestas inmunes mediadas por anticuerpos y las mediadas por células se destruyen gradualmente. Las infecciones sistémicas por hongos y bacterias oportunistas indican una pérdida de inmunidad mediada por células T_H1. Las infecciones oportunistas por virus y bacterias asociadas con el SIDA revelan un descenso en la producción de anticuerpos debido a la pérdida de células T_H2 que son necesarias para estimular la producción de anticuerpos por las células B.

El progreso de la infección por HIV hasta el SIDA sigue una trayectoria predecible. Durante el período de latencia clínica, se pone en marcha una infección muy activa. Primero hay una intensa respuesta inmune al HIV: cerca de mil millones de viriones se destruyen cada día y el número de HIV desciende. Sin embargo, esto significa que el HIV se está multiplicando a una velocidad muy alta, y eso ocasiona la correspondiente destrucción de casi 100 millones de células T CD4 cada día. Al final, la respuesta inmune resulta desbordada, los niveles de HIV aumentan y las células T resultan completamente destruidas, con consecuencias catastróficas para la respuesta inmune que permiten el inicio de infecciones por patógenos oportunistas. El caso mostrado en la Figura 34.40 ejemplifica la destrucción de células T y el aumento de HIV en una cinética temporal típica de una infección por HIV no tratada que termina en SIDA.

Diagnóstico de HIV

La infección por HIV puede ser diagnosticada por medios inmunológicos. El HIV-ELISA (*véase* Figura 32.23) se emplea para análisis a gran escala de sangre donada a fin de evitar la transmisión de HIV asociada con transfusiones. Más del 0,25% (3-4 de cada mil) de toda la sangre donada por voluntarios en Estados Unidos resulta positiva para HIV en pruebas ELISA. Un resultado positivo en una prueba HIV-ELISA debe confirmarse por un segundo método denominado inmunotransferencia (Western blot), una técnica que combina los métodos analíticos de la purificación de proteínas y de la inmunología (*véase* Figura 32.26).

También existen pruebas rápidas para identificar individuos infectados con HIV. Estas pruebas se emplean en el análisis preliminar de sangre y otras muestras del cuerpo para determinar la presencia de anticuerpos contra el HIV. Una prueba utiliza una sola gota de sangre del paciente y un único reactivo. El reactivo es un anticuerpo modificado por bioingeniería que presenta un lugar de unión dirigido a los antígenos de los glóbulos rojos y el otro al antígeno superficial gp41 del HIV. Cuando la prueba es positiva, el anticuerpo bifuncional permite una aglutinación visible entre los glóbulos rojos y el HIV al establecerse puentes de entrecruzamiento. En otra prueba se usa la saliva como fuente de anticuerpos secretorios contra el HIV. La saliva se coloca en un dispositivo que contiene antígenos inmovilizados del HIV y luego se añade un segundo anticuerpo reactivo que está conjugado con una enzima. Al añadir el sustrato de la enzima, si la reacción es positiva aparece un producto coloreado. Las pruebas rápidas están diseñadas para ofrecer una máxima comodidad, más velocidad (minutos en vez de horas o de días que son necesarios para ELISA o inmunotransferencia), una vida media larga y facilidad de transporte, uso e interpretación. Sin embargo, por lo general las pruebas rápidas no son tan sensibles o específicas como las pruebas estándar de tipo HIV-ELISA o HIV-inmunotransferencia (*véanse* Secciones 32.10 y 32.11).

Independientemente de su sensibilidad o especificidad, estas pruebas no detectan individuos positivos para HIV que acaban de adquirir el virus y que por tanto no

presentan una cantidad de anticuerpo suficientemente detectable. Este período puede durar más de 6 semanas desde la exposición al HIV. Pese a este inconveniente, las pruebas sirven para garantizar la seguridad general en los bancos de sangre, y el riesgo de contraer el virus por sangre contaminada o sus derivados es ahora muy bajo. El contacto sexual con muchas parejas y el uso en grupo de drogas intravenosas representan el mayor riesgo de adquisición de la infección por HIV (*véase* Figura 33.8).

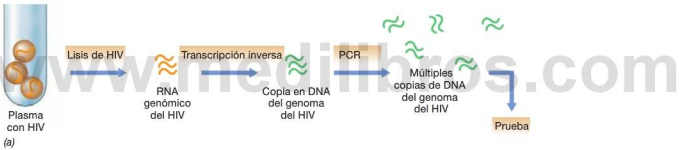
Algunas pruebas de laboratorio detectan directamente el RNA del HIV en muestras de sangre de forma cuantitativa. Estas pruebas usan una reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa específica del virus (RT-PCR). La RT-PCR cuantifica el número de virus presentes en la sangre, o **carga vírica**. La prueba indica la magnitud de la replicación del HIV y la correlaciona con la velocidad de destrucción de células T CD4, que es un indicador directo del nivel de destrucción del sistema inmune. La prueba RT-PCR no se emplea rutinariamente para analizar el HIV porque es costosa y técnicamente exigente. Sin embargo, después de un diagnóstico inicial de infección, la prueba RT-PCR se usa para determinar la progresión del SIDA y la eficacia de la quimioterapia (**Figura 34.41**).

La prognosis para un individuo no tratado e infectado con HIV es mala. Los patógenos oportunistas o las enfermedades relacionadas acabarán provocando la muerte en la mayoría de los pacientes de SIDA. Estudios realizados a largo plazo indican que la persona infectada por HIV suele pasar por varias fases de disminución en la función inmune, con pérdida de células T CD4 desde un valor normal en la sangre de 600-1.000/mm^3, a casi cero en un período de 5-7 años (Figura 34.40). Aunque la velocidad del descenso en la inmunidad varía de un individuo infectado a otro, es raro que un individuo positivo para el HIV viva más de 10 años sin alguna forma de terapia retrovírica.

Tratamiento

Se han identificado varios compuestos que retrasan la manifestación del SIDA y prolongan la vida de los infectados con HIV (**Tabla 34.4**). La terapia intenta reducir la carga vírica por debajo de niveles detectables. La estrate-

www.medilibros.com



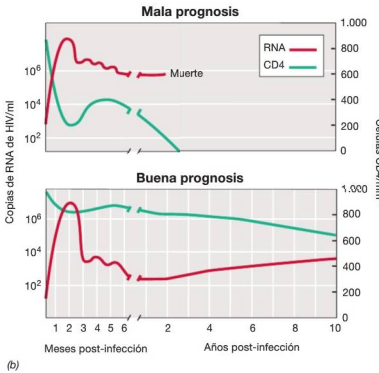


Figura 34.41 Seguimiento de la carga vírica. *(a)* Detección de HIV por la prueba RT-PCR (reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa). Las copias de HIV se comparan cuantitativamente con las copias de DNA de un molde control que se amplifica en la misma tecnica (amplificación por PCR). La carga de HIV se expresa como el número de copias de HIV por ml de plasma del enfermo. *(b)* Cinética de la infección con HIV determinada por HIV RT-PCR. La evolución de la infección se estima siguiendo la carga vírica a diferentes tiempos después de la infección. El recuento de células T CD4 se mide en células por milímetro cúbico. En el panel superior, una carga vírica superior a 10^4 copias por mililitro se correlaciona con un nivel por debajo del normal de número de células CD4 (normal = 600−1.500/mm^3) indicando una mala prognosis y la próxima muerte del paciente. En el panel inferior, una carga vírica inferior a 10^4 copias por mililitro se correlaciona con un número normal de células CD4, indicando una buena prognosis y la supervivencia dilatada del paciente. Los datos están adaptados de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, GA, USA.

Tabla 34.4 Agentes quimioterápicos para tratamiento del HIV/SIDA

Nombre del fármaco	*Tipo de fármaco y mecanismo de actividad*
Azidotimidina (AZT, ZDV o Zidovudina) Dideoxicitidina (ddC o zalcitabina) Dideoxiinosina (ddI o didanosina) Stavudina (d4T) Lamivudina (3TC)	*Inhibidores nucleosídicos de transcriptasa inversa (NRTI)*; Análogos de nucleósidos que inhiben la transcriptasa inversa; terminan la síntesis de la cadena nucleotídica; aumentan la supervivencia y reducen las infecciones oportunistas; tóxicos para las células de la médula ósea; pueden usarse combinados con otros fármacos en protocolos de tratamiento múltiple.
Efavirenz Nevirapina Delavirdina	*Inhibidores no nucleosídicos de transcriptasa inversa (NNRTI)*; se unen ditectamente a la transcriptasa inversa y modifican el sitio catalítico; no compiten con nucleósidos; pueden usarse combinados con otros fármacos en protocolos de tratamiento múltiple.
Indinavir Nelfinavir Saquinavir Ritinovir	*Inhibidores de proteasa*; análogos peptídicos sintéticos diseñados para unirse al sitio activo de la proteasa del HIV e inhibir el procesamiento de polipéptidos víricos y la maduración; pueden usarse combinados con otros fármacos en protocolos de tratamiento múltiple.
Enfuvirtida	*Inhibidor de la fusión*; polipéptido sintético que une la proteína gp41 e inhibe la fusión entre las membranas del virus y de la célula hospedadora.
Elvitegravir Raltegravir	*Inhibidores de la integrasa*; fármacos experimentales que inhiben la integración del DNA del HIV en el DNA de la célula hospedadora.

gia empleada para lograr esto se denomina *terapia antiretroviral muy activa* y se lleva a cabo suministrando a la vez al menos tres fármacos antivíricos para impedir el desarrollo de cepas resistentes de HIV. No obstante, la terapia múltiple no supone una curación de la infección por HIV. Los individuos tratados que no tienen una carga vírica detectable vuelven a desarrollar altos niveles de virus si se interrumpe el tratamiento o si aparecen resistentes a la terapia múltiple.

Los fármacos efectivos contra el HIV se pueden clasificar en cuatro categorías. La primera es un grupo de análogo de nucleósidos que funcionan como inhibidores de la transcriptasa inversa. La transcriptasa inversa es la enzima que convierte la información genética contenida en la cadena de RNA en DNA complementario. El fármaco anti-HIV eficaz más antiguo es la *azidotimidina* (AZT), que inhibe la replicación del HIV porque es estructuralmente similar al nucleósido timidina pero carece del sitio correcto de unión a la base siguiente en la cadena de nucleótidos que se está replicando, determinando la terminación de la cadena de DNA en crecimiento. Por tanto, AZT y otros análogos similares son **nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa (NRTI**, del inglés *nucleoside reverse transcriptase inhibitors*), y detienen la replicación del HIV (**Figura 34.42a**, Tabla 34.4). Cuando estos fármacos se suministran a individuos infectados se origina un rápido descenso en la carga vírica. Si sólo se administra un único NRTI, en la mayoría de los pacientes aparecen resistentes al cabo de unas semanas como resultado de mutaciones y de selección. Aunque este proceso parece muy rápido, el HIV se replica muy rápidamente (ver antes) y tan sólo se necesitan cuatro mutaciones en los nucleótidos para adquirir resistencia frente a un análogo determinado de nucleósido.

La segunda categoría de fármacos anti-HIV son los **inhibidores no nucleosídicos de la transcriptasa inversa (NNRTI**, del inglés *non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors*) (Figura 34.42*b*; Tabla 34.4). Estos compuestos inhiben directamente la actividad de la transcriptasa inversa interaccionando con la proteína y alterando la conformación del centro catalítico activo. Por desgracia, una única mutación en el gen de la transcriptasa inversa es a menudo suficiente para reducir la eficacia de estos fármacos.

Otra categoría de compuestos anti-HIV la representa el **inhibidor de la proteasa** (Figura 34.42*c*; Tabla 34.4). Los inhibidores de proteasa son análogos de péptidos diseñados por computadora que inhiben el procesamiento de los polipéptidos del virus uniéndose al centro activo de la enzima responsable del procesamiento, la proteasa del HIV (*véase* Figura 27.31). Esto produce una inhibición de la maduración del virus. Sin embargo, como en la otra estrategia quimioterápica dirigida a una enzima (transcriptasa inversa; ver antes), una simple mutación en el gen de la proteasa del HIV puede causar la resistencia al fármaco.

Finalmente, una categoría de compuestos anti-HIV que ha sido autorizada es la representada por el fármaco *enfuvirtide*, un **inhibidor de la fusión** formado por un péptido sintético de 36 aminoácidos que funciona uniéndose a la proteína gp41 de la membrana del virus (Tabla 34.3). La unión a la proteína detiene los cambios conformacionales que son necesarios para que ocurra la fusión de la envoltura viral con las membranas citoplásmicas de las células CD4. El enfuvirtide se administra a individuos positivos para el HIV que han desarrollado resistencia a fármacos antiretrovirales o que aumentan la carga vírica después de otro tipo de terapia.

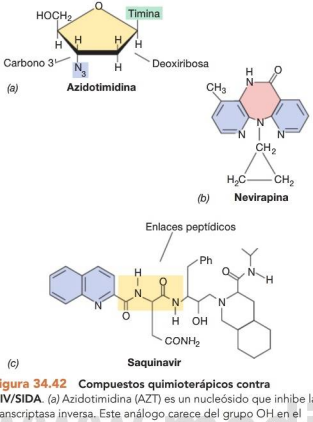


Figura 34.42 Compuestos quimioterápicos contra HIV/SIDA. *(a)* Azidotimidina (AZT) es un nucleósido que inhibe la transcriptasa inversa. Este análogo carece del grupo OH en el carbono 3' causando, cuando se incorpora, la terminación de la elongación de la cadena nucleotídica y la inhibición de la replicación vírica. *(b)* Nevirapina es un inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa que se une directamente al centro activo de la transcriptasa inversa del HIV, inhibiendo también la elongación de la cadena de nucleótidos. *(c)* Saquinavir, un inhibidor de proteasa diseñado por computadora para encajar en el sitio activo de la proteasa del HIV. Es un análogo peptídico: el área marcada muestra la región análoga a los enlaces peptídicos. El bloqueo de la actividad de la proteasa del HIV evita el procesamiento de las proteínas víricas y la maduración del virus.

Los *inhibidores de la integrasa* son una nueva categoría de fármacos, cuyo empleo generalizado aún no está autorizado; estos compuestos interfieren con la integración del DNA bicatenario del virus en el DNA de las células del hospedador, interrumpiendo así el ciclo de multiplicación del HIV. Se están realizando ensayos clínicos con dos inhibidores de la integrasa, *eltegravir* y *raltegravir*, en pacientes que han desarrollado resistencias frente a todas las otras clases de fármacos contra el HIV (Tabla 34.4).

Debido a la resistencia a los fármacos, un protocolo típico recomendado para el tratamiento de un individuo con una infección establecida de HIV incluye al menos un inhibidor de la proteasa o un NNRTI más una combinación de dos NRTI (Tabla 34.4). La terapia múltiple reduce la posibilidad de que pueda aparecer un virus resistente porque el virus necesita desarrollar resistencia a tres compuestos simultáneamente. Esta terapia de combinación se examina luego mediante RT-PCR para determinar cambios en la carga vírica. Un protocolo eficaz reduce la carga vírica a niveles indetectables (menos de 500 copias de HIV por ml de sangre) en varios días (Figura 34.41). La terapia se continúa y la carga vírica se determina indefinidamente. Si la carga vírica alcanza de nuevo niveles detectables, la mezcla de fármacos se cambia porque dicho incremento revela la aparición de HIV resistentes.

Además del problema de las resistencias, algunos fármacos antivíricos son tóxicos para el paciente. En muchos casos, los análogos de nucleósidos no son bien tolerados, probablemente porque interfieren con funciones normales del hospedador como la división celular (Tabla 34.4). En general, los NNRTI y los inhibidores de la proteasa se toleran mejor porque interfieren solamente con funciones que son específicas del virus. Sin embargo, tanto las resistencias como la toxicidad son problemas importantes en todas las formas de terapia contra el HIV. Por esta causa, se están desarrollando continuamente nuevos agentes quimioterápicos y protocolos con fármacos adaptados a las necesidades de los pacientes individuales.

Inmunización contra el SIDA

La variabilidad genética del HIV ha impedido hasta el presente el desarrollo de una vacuna contra el SIDA. Una posibilidad de vacunación es inducir anticuerpos frente a la proteína de la envuelta, gp120. Estos anticuerpos bloquearían la interacción entre CD4-gp120 e inhibirían la infección. Una vacuna con la subunidad gp120 está actualmente en fase III de ensayo clínico en humanos, que es el paso anterior al de uso público generalizado. La vacuna se compone de dos variantes de gp120 que predominan en la población local de Tailandia, donde está siendo probada. Por desgracia, este abordaje no resultará probablemente muy eficaz para una vacuna general ya que el gen que codifica gp120 muta frecuentemente, originando variantes antigénicas de la proteína que no serían reconocidas por anticuerpos inducidos por la vacuna referida.

Se están realizando ensayos clínicos de inmunización con vacunas con otras subunidades (*véanse* Secciones 26.5 y 30.6). En estas vacunas, mediante técnicas de ingeniería genética, se han introducido los genes de varias proteínas de la envoltura del HIV en partículas de virus de la viruela o de adenovirus. Usando estos virus inofensivos como vectores de expresión y vehículos para la presentación de antígenos del HIV, se puede inducir una fuerte respuesta inmune humoral y celular contra el HIV.

Otros candidatos potenciales para la inmunización son los propios HIV intactos y muertos. El uso de estas vacunas inactivadas se limita a individuos infectados por HIV porque los procedimientos de inactivación puede que no inactiven el 100% de los virus y no sería ético exponer a individuos no infectados a un riesgo de infección por pequeño que sea. Algunos laboratorios están explorando la posibilidad de producir vacunas vivas atenuadas para em-

pleo en la inmunización. Esta estrategia se basa en el hecho de que en los individuos infectados con HIV-2, que es un virus relacionado que causa una forma de SIDA más suave y con un período de latencia muy largo, se impide la infección con HIV-1, que es la cepa responsable del SIDA. Sin embargo, también existen riesgos hipotéticos en este abordaje. Por ejemplo, el virus integrado podría causar cáncer, o algunas mutaciones podrían reactivar la virulencia en las cepas atenuadas de las vacunas.

Aunque se están sometiendo a ensayos clínicos diversos protocolos de actuación para obtener inmunización, hasta ahora ninguno ha resultado suficientemente protector y seguro. Por otra parte, probablemente la inmunización contra el HIV no sería eficaz para tratar a pacientes que ya han adquirido el SIDA, porque estos individuos carecen de capacidad inmune significativa y podrían no responder a la vacunación. En definitiva, pese al conocimiento que se posee sobre los mecanismos de infección del HIV y sobre el desarrollo del proceso de la enfermedad del SIDA, no existe una estrategia de intervención médica para evitar o curar el SIDA.

Prevención del SIDA

La educación pública y el evitar comportamientos de alto riesgo continúan siendo las mejores prácticas para evitar la infección por HIV y el SIDA. La transmisión del HIV está ligada a actividades sexuales promiscuas y a otras acciones que incluyen intercambio de fluidos del cuerpo y que implican, no solo a homosexuales, sino también a la prostitución y al uso de drogas intravenosas. En Estados Unidos, el grupo de transmisión de mayor crecimiento está entre los heterosexuales. La prevención requiere evitar comportamientos de alto riesgo asociados con el intercambio de líquidos naturales. En este contexto, se han hecho recomendaciones específicas que se pueden seguir si se desea reducir la probabilidad de infección por HIV. Entre estas recomendaciones están las siguientes.

1. Evitar el contacto oral con el pene, vagina o recto.
2. Evitar toda actividad sexual que pueda causar cortes o arañazos en el pene, vagina o recto.
3. Evitar las actividades sexuales con individuos de alto riesgo. Aquí se incluyen la prostitución (tanto de hombres como de mujeres), las parejas múltiples (tanto homosexuales como bisexuales) y los consumidores de drogas intravenosas.
4. Si una persona ha tenido sexo con un miembro de un grupo de alto riesgo, se debe realizar una prueba de sangre para determinar si ha adquirido la infección por HIV. Hay que tener en cuenta que la prueba debe repetirse a intervalos de un año o más por el tiempo de latencia en la respuesta inmune. Si la prueba resulta positiva, las parejas del individuo positivo para HIV deben protegerse usando un condón durante el acto sexual. El uso de este preservativo es también recomendado para toda actividad sexual extramarital.

Para más información sobre la prevención de STI y de HIV/SIDA puede visitarse el sitio web http://www.ashatd.org/contactus.cfm. **Tutorial online 34.1: Replicación del HIV. www.microbiology-place.com**

34.15 Minirrevisión

El SIDA es una de las enfermedades infecciosas más frecuentes en la población humana. El virus de la inmunodeficiencia humana destruye el sistema inmune y a continuación los patógenos oportunistas matan al hospedador. No existe cura eficaz de la infección por HIV o el SIDA. Sin embargo, hay varios fármacos antivíricos que ralentizan o detienen la evolución del SIDA. No hay una vacuna eficaz contra el HIV. La prevención de la extensión de la infección por el HIV requiere educación y evitar comportamientos de alto riesgo.

- Exponga la definición del SIDA. ¿Qué síntomas son compartidos por todos los pacientes con SIDA?
- ¿Cuál es el tratamiento actual para la infección por HIV? ¿Es eficaz?

Glosario de términos

Carga vírica: determinación cuantitativa de la cantidad de virus en un organismo, normalmente en la sangre.

Cirrosis: rotura de la arquitectura normal del hígado originando fibrosis.

Deriva antigénica: cambios menores en los antígenos del virus de la gripe debidos a mutaciones génicas.

Escarlatina: erupción rojiza característica causada por una exotoxina producida por *Streptococcus pyogenes*.

Fiebre reumática: enfermedad inflamatoria autoinmune causada por la respuesta inmune a la infección por *Streptococcus pyogenes*.

Hepatitis: inflamación del hígado causada generalmente por un agente infeccioso.

Infección oportunista: una infección que normalmente se observa solo en individuos con disfunción del sistema inmune.

Infección transmitida sexualmente (STI): infección que normalmente se contrae por contacto sexual.

Inhibidor de la fusión: polipéptido sintético que se une a glicoproteínas víricas inhibiendo la fusión entre las membranas víricas y las membranas celulares del hospedador.

Inhibidor de la proteasa (IP): compuesto que inhibe la acción de la proteasa vírica uniéndose directamente al sitio catalítico y evitando el procesamiento de la proteína vírica.

Inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa (NNRTI): compuesto no nucleósido que inhibe la acción de la transcriptasa inversa vírica por unión directa al sitio catalítico.

Inhibidor nucleosídico de la transcripatasa inversa NRTI): compuesto análogo a un nucleósido que inhibe la acción de la transcriptasa inversa compitiendo con nucleósidos.

Meningitis: inflamación de las meninges (tejido cerebral) causada a veces por *Neisseria meningitidis* y caracterizada por aparición brusca de dolor de cabeza, vómitos y rigidez de cuello, que con frecuencia conduce a coma en cuestión de horas.

Meningococemia: enfermedad grave de evolución rápida causada por *Neisseria meningitidis* y caracterizada por septicemia, coagulación intravascular y choque.

Papilomavirus humano (HPV): virus transmitido sexualmente que ocasiona verrugas genitales, neoplasia cervical y cáncer.

Prueba de la tuberculina: prueba cutánea para identificar infecciones previas por *Mycobacterium tuberculosis*.

Salto antigénico: cambios importantes en antígenos del virus de la gripe debidos a recombinación génica.

Sífilis congénita: sífilis contraída de su madre por el recién nacido durante el nacimiento.

Síndrome del choque tóxico (TSS): choque sistémico agudo ocasionado por la respuesta del hospedador a una toxina producida por *Staphylococcus aureus*.

Tosferina: enfermedad causada por infección del tracto respiratorio superior con *Bordetella pertussis*, caracterizada por una tos persistente.

Preguntas de repaso

1. ¿Por qué las bacterias grampositivas causan enfermedades respiratorias con más frecuencia que las gramnegativas (Sección 34.1)?
2. ¿Cuales son los síntomas típicos de una infección respiratoria estreptocócica? ¿Porqué las infecciones respiratorias deben tratarse con prontitud (Sección 34.2)?
3. Describa el agente causal y los síntomas de la difteria. Relacione los síntomas de la enfermedad con la toxicidad y explique su razonamiento. ¿Cómo se evita y se trata la difteria (Sección 34.3)?
4. Describa el agente causal y los síntomas de la tosferina. Describa los cambios tecnológicos que han permitido vacunas más seguras contra la tosferina. ¿Por qué está aumentando la incidencia de esta enfermedad (Sección 34.4)?
5. Describa el proceso de infección por *Mycobacterium tuberculosis*. ¿La infección conduce siempre a tuberculosis activa? ¿Por qué? ¿Cuál es el motivo de que las personas no se vacunen en Estados Unidos con la vacuna BCG (Sección 34.5)?
6. Describa los síntomas de la meningococemia y de la meningitis. ¿Cómo se tratan estas enfermedades?¿Cuál es la prognosis de cada una de ellas (Sección 34.6)?
7. Compare y diferencie entre sarampión, paperas y rubéola. Incluya una descripción de los patógenos, de los principales síntomas y de cualquier consecuencia potencial de estas infeccionas. ¿Por qué es importante vacunar a las mujeres contra la rubéola antes de la pubertad (Sección 34.7)?
8. ¿Por qué son tan comunes los resfriados respiratorios? ¿Por qué no se emplean vacunas para prevenir los resfriados (Sección 34.8)?
9. ¿Por qué la gripe es una enfermedad respiratoria tan frecuente? ¿Cómo se escogen y se producen las vacunas contra la gripe (Sección 34.9)?
10. Distinga entre los estafilococos patógenos y los que forman parte de la flora normal (Sección 34.10).
11. Describa observaciones que relacionan a *Helicobacter pylori* con las úlceras gástricas. ¿Cómo trataría a un enfermo con úlcera (Sección 34.11)?
12. Describa los principales virus patógenos de la hepatitis. ¿Cómo se relacionan entre sí? ¿Cómo se transmiten (Sección 34.12)?
13. ¿Por qué la incidencia de la gonorrea se elevó notablemente en los años 1960 mientras que la de la sífilis disminuyó al mismo tiempo (Sección 34.13)?
14. Describa la incidencia de cada una de las siguientes enfermedades de transmisión sexual: clamidia, herpes, tricomoniasis y virus del papiloma humano. Señale en cada caso si es posible el tratamiento y, en caso afirmativo, si supone una cura eficaz. Razone las respuestas (Sección 34.14)?
15. Describa cómo el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV) destruye la inmunidad humoral y la inmunidad celular. ¿Por qué resulta tan difícil desarrollar vacunas contra el HIV (Sección 34.15)?

Ejercicios prácticos

1. ¿Cómo puede controlarse una epidemia de tosferina? ¿Cómo puede evitarse? Debido a que la incidencia de esta enfermedad ya no disminuye, aplique sus métodos preventivos a una «mini-epidemia» (Sección 34.4). Compare la incidencia de esta enfermedad con la de la difteria. Como la inmunización infantil generalmente

incluye ambas vacunas, ¿Por qué la frecuencia de la tosferina aumenta mientras que la de la difteria está estabilizada? *Pista*: Puede haber varias razones, como disponibilidad de las vacunas y prácticas de vacunación, inmunidad de la población, y aumento de la susceptibilidad en distintas poblaciones.

2. ¿Por qué la tuberculosis activa conduce con frecuencia a una capacidad pulmonar reducida, mientras que otras enfermedades respiratorias causan sólo problemas respiratorios temporales? A nivel mundial, la prevalencia de la infección por tuberculosis es muy elevada, pero la de la enfermedad activa es mucho menor. Explique el motivo.
3. Su compañero de piso se marchó fuera durante el fin de semana y ha vuelto muy enfermo y diagnosticado de meningitis por un hospital local. Como estuvo fuera nadie más se ha enterado de su enfermedad ¿Qué haría usted para protegerse de la meningitis? ¿Lo debería notificar?
4. El sarampión, las paperas y la rubeola fueron enfermedades infantiles muy corrientes. Sin embargo, los brotes de esta enfermedad se consideran ahora como incidentes graves que requieren inmediata atención por parte de la sanidad pública. Explique este cambio de actitud en el contexto de la prevalencia, la disponibilidad de vacunas y las potenciales consecuencias de cada enfermedad para la salud en la población de un colegio.
5. Explique la biología molecular del salto antigénico en el virus de la gripe y comente las consecuencias inmunológicas para su hospedador. ¿Por qué el salto antigénico impide el desarrollo de una vacuna universal eficaz en el control de la gripe? Compare el salto antigénico con la deriva antigénica. ¿Qué mecanismo es más importante para la evolución del virus de la gripe? ¿Cuál causa el mayor cambio antigénico? ¿Cuál crea el mayor problema para el desarrollo de vacunas? ¿Por qué?
6. Seleccione los virus de la hepatitis en orden de gravedad de la enfermedad asociada con ellos, tanto a corto como a largo plazo.
7. Como director del grupo de salud de su colegio mayor debería presentar un informe sobre *Chlamydia*, herpes, tricomoniasis y el virus del papiloma humano, todas ellas infecciones transmitidas sexualmente. Además de en este libro, ¿Dónde puede adquirir información sobre estas enfermedades? Presente información sobre prevención, síntomas y tratamiento para cada una de ellas. ¿Existiría superposición? Discuta aspectos prácticos, sociales, legales y sanitarios que deben considerarse para identificar y notificar a los individuos afectados.

www.medilibros.com

35

Enfermedades transmitidas por vectores y por microorganismos del suelo

I ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ANIMALES 1118

34.1 Rabia 1118

34.2 Síndromes por Hantavirus 1120

II ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ARTRÓPODOS 1122

34.3 Enfermedades producidas por Rickettsias 1122

34.4 Enfermedad de Lyme 1126

34.5 Malaria 1129

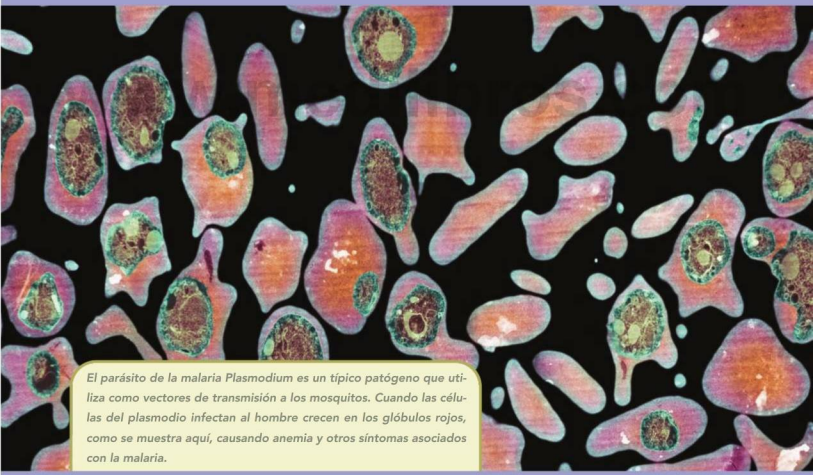
34.6 Virus del Nilo occidental 1132

34.7 Peste 1134

III ENFERMEDADES TRANSMITIDAS A PARTIR DEL SUELO 1136

34.8 Enfermedades fúngicas 1136

34.9 Tétanos 1139



El parásito de la malaria Plasmodium es un típico patógeno que utiliza como vectores de transmisión a los mosquitos. Cuando las células del plasmodio infectan al hombre crecen en los glóbulos rojos, como se muestra aquí, causando anemia y otros síntomas asociados con la malaria.

Los animales son vectores que transmiten enfermedades graves y a veces mortales, como la rabia y como el síndrome pulmonar por hantavirus. Los insectos son unos vectores eficaces en la trasmisión de enfermedades como la peste y la malaria, que han matado a millones de personas y alterado el curso de la historia e incluso de la evolución humana. La enfermedad de Lyme (transmitida por garrapatas) y la fiebre del este del Nilo (transmitida por mosquitos) son enfermedades actualmente importantes en los Estados Unidos. Las enfermedades fúngicas y el tétanos presentan problemas singulares porque los patógenos que viven en el suelo no pueden ser eliminados o controlados de una manera eficaz.

Nuestro tema en este capítulo son las enfermedades transmitidas por estas rutas: los animales, los insectos y el suelo. El hospedador para los patógenos transmitidos por animales es un vertebrado no humano y las poblaciones animales infectadas pueden transmitir las infecciones al hombre. Los patógenos transmitidos por vectores se diseminan en nuevos hospedadores a través de la picadura de un artrópodo vector que se alimenta de un hospedador infectado. El hombre es a menudo un hospedador accidental en el ciclo de vida de estos patógenos, pero puede ser también un reservorio, como en el caso de la malaria. Los patógenos que se transmiten por el suelo incluyen varios hongos y especies de bacterias de los géneros *Clostridium* y *Bacillus*.

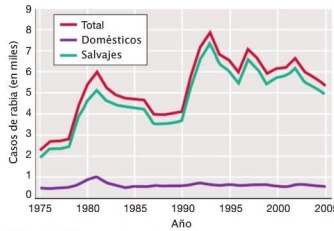


Figura 35.1 Casos de rabia en animales salvajes y domésticos en Estados Unidos. La rabia es una enfermedad enzoótica en poblaciones de animales salvajes, especialmente entre los mapaches del este de los Estados Unidos. Los picos en el número de animales salvajes infectados son sucesos epizoóticos. Estos sucesos epizoóticos matan una gran proporción de la población de hospedadores, y la menor población conduce a una menor transmisión de la rabia. Los casos de enfermedad decrecen y la enfermedad se hace de nuevo enzoótica. Cuando la población se recupera de la fase epizoótica, el número de casos aumenta, la rabia endémica se convierte en una enfermedad epizoótica, mueren muchos hospedadores y se repite el ciclo. De los más de 500 casos de rabia registrados anualmente en animales domésticos, en casi todos la enfermedad se adquirió por contacto con animales salvajes. Datos de los Centros para Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU.

www.medi

I ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ANIMALES

Una **zoonosis** es una enfermedad de animales transmisible al hombre, generalmente por contacto directo, aerosoles o mordeduras. La inmunización y la sanidad veterinaria controlan muchas enfermedades infecciosas en los animales domésticos, impidiendo la transmisión de varias enfermedades zoonóticas al hombre. Sin embargo, los animales salvajes no están inmunizados ni reciben atención veterinaria. En los animales, las enfermedades pueden ser **enzoóticas**, es decir, presentes de modo endémico en algunas poblaciones, o **epizoóticas**, cuya incidencia alcanza proporciones epidémicas. Las enfermedades epizoóticas se presentan frecuentemente de modo periódico y a veces de manera cíclica. Debido a la prevalencia anormal y elevada de animales enfermos en situaciones epizoóticas, aumenta la transferencia potencial de la enfermedad desde los animales infectados a los humanos. Centramos nuestra exposición en dos importantes enfermedades zoonóticas transmitidas al hombre por contacto con vertebrados infectados, la rabia y el síndrome por hantavirus.

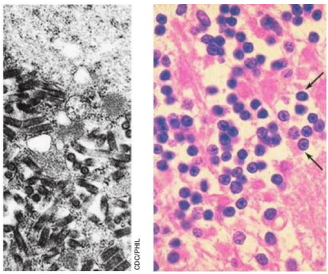
35.1 Rabia

La **rabia** ocurre principalmente como una enfermedad epizoótica en los animales, pero bajo ciertas condiciones se extiende a los humanos como una enfermedad zoonótica. Los mayores reservorios enzoóticos de rabia en los Estados Unidos son animales salvajes, principales los mapaches, mofetas, coyotes, zorros y murciélagos. Un pequeño número de casos de rabia se debe también a animales domésticos (**Figura 35.1**).

Epidemiología y patología

La rabia es una importante enfermedad infecciosa a nivel mundial que es evitable para el hombre. Sin embargo, más de 50.000 personas mueren de rabia cada año, sobre todo en países subdesarrollados donde suele ser endémica en animales domésticos como el perro. Anualmente, casi 1 millón de personas en todo el mundo recibe un tratamiento profiláctico después de haber sufrido mordeduras por animales. Esta cifra de tratamiento posterior a la exposición de la enfermedad es de 20.000 en Estados Unidos.

La rabia está causada por un rabdovirus, un virus con RNA monocatenario y polaridad negativa (*véase* Sección 19.8) que infecta células del sistema nervioso central de la mayoría de animales de sangre caliente, provocando casi invariablemente la muerte en ausencia de tratamiento. El virus (**Figura 35.2*a***) está presente en la saliva de los ani-



(a) (b)

Figura 35.2 Virus de la rabia. *(a)* El virus de la rabia, con forma baliforme, visto por microscopía electrónica de transmisión en una sección de un tejido de un animal infectado, tiene un tamaño de 75 × 180 nm. *(b)* Patología de la rabia. Sección de tejido cerebral de una víctima humana de rabia teñida con hematoxilina y eosina. El virus de la rabia forma las características inclusiones citoplasmáticas llamadas cuerpos de Negri, que contienen antígenos del virus de la rabia. Aquí se observan como masas redondeadas de 2-10 μm de diámetro teñidas de oscuro y fuertemente contrastadas (flechas).

www.medilib.ir

males rabiosos y entra en el cuerpo a través de la herida de una mordedura o por contaminación de las membranas mucosas con saliva infectada. El virus de la rabia se multiplica en el sitio de inoculación y después alcanza el sistema nervioso central. El período de incubación hasta el inicio de los síntomas es muy variable y depende del animal, del tamaño, localización y profundidad de la herida, y del número de partículas víricas transmitidas en la mordedura. El período de incubación medio en los perros es de 10-14 días. En el hombre, pueden pasar 9 meses o más antes de que aparezcan los síntomas.

El virus se multiplica en el cerebro (especialmente en el tálamo y el hipotálamo) provocando fiebre, excitación, dilatación de las pupilas, salivación excesiva y ansiedad. Se desarrolla miedo a tragar (hidrofobia) a consecuencia de espasmos incontrolados que se producen en los músculos de la garganta; finalmente se produce la muerte por parálisis respiratoria. En el hombre, la rabia sin tratar acompañada de síntomas es casi siempre fatal.

Diagnóstico y tratamiento de la rabia

La rabia se diagnostica en el laboratorio examinando muestras de tejidos. Las pruebas con anticuerpos fluorescentes o con anticuerpos monoclonales, que reconocen el virus de la rabia en tejido cerebral o de la córnea, se emplean para establecer un diagnóstico clínico de rabia en un animal potencialmente rabioso o en un examen *postmortem* de un hombre (Figura 35.2*a*). Una confirmación adicional de infección por el virus de la rabia es la presencia de cuerpos de inclusión víricos, llamados *corpúsculos de Negri* (Figura 35.2*b*), que son característicos en el citoplasma de las células nerviosas obtenidas de biopsias o de muestras *postmortem*. Para identificar el virus de la rabia en muestras clínicas también se puede emplear la reacción en cadena de la polimerasa con transcripción inversa (RT-PCR) y la secuenciación.

La prevención de la rabia en el hombre debe comenzar inmediatamente después del contacto con un animal potencialmente rabioso, porque la rabia es una enfermedad letal. Las directrices para tratar un posible caso de exposición a la rabia se muestran en la **Tabla 35.1.** Un animal salvaje o abandonado que sea sospechoso de rabia debería ser capturado, sacrificado y examinado inmediatamente después para evidencias de rabia. Si se trata de un animal doméstico, como perro,

Tabla 35.1 Directrices para el tratamiento humano tras exposiciones al virus de la rabia

Mordedura no provocada por un animal doméstico	
Animal sospechoso de rabia	*Animal no sospechoso de rabia*
1. Sacrificar el animal y realizar pruebas para la rabia.	1. Retener 10 días. Si no hay síntomas, no tratar al hombre.
2. Comenzar inmediatamente el tratamiento en el hombre[a].	2. Si aparecen síntomas, tratar al hombre inmediatamente[a].
Mordedura por un carnívoro salvaje (por ejemplo, mofeta, murciélago, zorro, mapache, coyote)	
Considerar al animal como rabioso	
1. Sacrificar al animal y realizar pruebas para la rabia.	
2. Comenzar inmediatamente el tratamiento en el hombre[a].	
Mordedura por roedor salvaje, ardilla, conejo o ganado	
Consultar a los responsables sanitarios locales o regionales sobre posibles casos de rabia transmitidos por estos animales (que raramente transmiten rabia). Si no ha habido casos, no se sigue tratamiento.	

[a] Todas las mordeduras deben lavarse cuidadosamente con agua y jabón. El tratamiento en individuos no vacunados es generalmente una combinación de inmunoglobulinas contra la rabia y de la vacuna antirrábica. A los individuos previamente vacunados no se les suministra inmunoglobulinas pero reciben otra dosis de vacuna antirrábica.

gato o hurón, especialmente si la mordedura no ha sido provocada, el animal se debe mantener en cuarentena durante 10 días en observación para ver si desarrolla síntomas clínicos de rabia. Si la mordedura es de un animal salvaje con síntomas de rabia, o no puede hacerse la determinación después de 10 días, el paciente debe ser inmunizado pasivamente con inmunoglobulinas contra la rabia (anticuerpos purificados contra el virus de la rabia obtenidos de un individuo hiperinmune) que se inyectan a ambos lados de la mordedura e intramuscularmente. También se suministra al paciente la vacuna contra la rabia. Como la evolución del desarrollo de la rabia en el hombre es tan lenta, esta combinación de inmunización pasiva y activa es casi eficaz al 100% para detener el inicio de la enfermedad. El famoso microbiólogo francés Louis Pasteur desarrolló la primera vacuna contra la rabia hace más de 120 años (*véase* Sección 1.7).

La difusión de la rabia se evita sobre todo por inmunización. En Estados Unidos se usan vacunas inactivadas para inmunizar al hombre y a los animales, y por todo el mundo se utilizan tanto vacunas inactivadas como atenuadas. La inmunización profiláctica contra la rabia se recomienda en individuos de alto riesgo, como veterinarios, personal de control de animales, e investigadores relacionados en el laboratorio con el virus de la rabia o la producción de vacunas.

Prevención de la rabia

Las estrategias de tratamiento de la rabia han sido muy eficaces, y en Estados Unidos se registran anualmente menos de tres casos de rabia en humanos, casi siempre a consecuencia de mordedura por un animal salvaje. Como los animales domésticos entran a veces en relación con los salvajes, se debe vacunar a todos los perros y gatos a partir de los 3 meses de edad y darles cada año o cada 3 años inyecciones de recuerdo. A menudo también se inmuniza con vacunas contra la rabia a otros animales domésticos de mayor tamaño, como los animales de granja.

Sin embargo, la clave para prevenir la rabia y para su posible erradicación está en el control de la enfermedad en los grandes reservorios de virus de la rabia entre los animales salvajes (Figura 35.1). Si todos o la mayoría de los miembros de los reservorios se inmunizaran, la enfermedad podría ser erradicada. Actualmente se dispone de vacunas de subunidades (*véase* Sección 26.5) en las que los genes víricos de las proteínas de la cubierta del virus de la rabia se expresan en el virus de la vacuna de la viruela o en canaripoxvirus. Como estas vacunas son orales se pueden incluir en el alimento o en los cebos para inmunizar a poblaciones locales de animales salvajes que sean susceptibles, reduciendo así la frecuencia y difusión de la rabia en áreas geográficas limitadas. Esta estrategia tiene la capacidad de controlar la rabia en los reservorios de animales salvajes y de erradicar finalmente la enfermedad.

35.1 Minirrevisión

La rabia ocurre principalmente en animales salvajes y es una enfermedad enzoótica y epizoótica importante que puede causar graves infecciones en el hombre, sobre todo en países no desarrollados. En Estados Unidos la rabia se transmite desde un reservorio de animales salvajes a los animales domésticos o, más raramente, al hombre. Para controlar la rabia es importante la vacunación de los animales domésticos y los salvajes.

- ¿Cuál es el procedimiento para tratar a un hombre mordido por un animal si dicho animal no se puede encontrar tras el ataque?
- ¿Qué importante ventaja tiene una vacuna oral de la rabia sobre una parenteral (inyectada) para el control de la rabia entre los animales salvajes?

35.2 Síndromes por Hantavirus

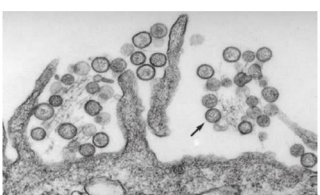
Los hantavirus causan varias enfermedades graves, como el **síndrome pulmonar por hantavirus (HPS**, del inglés *hantavirus pulmonary disease*), que es una enfermedad respiratoria y cardíaca aguda, y la **fiebre hemorrágica con síndrome renal (HFRS**, del inglés *hemorrhagic fever with renal syndrome*), una enfermedad aguda caracterizada por choque y fallo renal. Ambas enfermedades se producen por hantavirus, que son transmitidos por roedores infectados.

Biología de los Hantavirus

Los hantavirus deben su nombre a Hantaan, Corea, la localidad donde se reconoció por primera vez el virus como patógeno humano en un brote de fiebre hemorrágica. En 1993 ocurrió en Estados Unidos un importante brote de hantavirus cerca de la región de los *Four Corners* (Arizona, Colorado, New Mexico y Utah). El brote se debió al rápido crecimiento de una población de ratones (*Peromyscus maniculatus*) en el área durante la primavera de 1993, y causó 32 muertes en 52 adultos infectados, lo que resalta el peligro potencial de brotes de enfermedades que se transmiten directamente desde reservorios animales bajo condiciones nuevas o poco comunes. Desde 1993 a 2006, hubo en Estados Unidos 453 casos de HPS con 160 muertes (35%), la mayoría en estados del oeste.

El género *Hantavirus* es un miembro de la familia *Bunyaviridae,* y presenta envuelta y un RNA segmentado monocatenario con polaridad negativa (*véase* Sección 19.8) (**Figura 35.3**). La familia incluye virus que producen HPS o HFSR. Los hantavirus están relacionados con otros virus que producen fiebres hemorrágicas, como el virus de la fiebre de Lassa y el virus Ébola (*véase* Sección 33.10), todos los cuales son ocasionalmente transmitidos al hombre desde reservorios animales. Debido a las amenazantes propiedades de las infecciones por hantavirus y a la ausencia de curas eficaces o de inmunización, estos

www.medi



(a) *(b)*

Figura 35.3 **Hantavirus**. *(a)* Micrografía electrónica del hantavirus Sin Nombre. La flecha señala uno de los viriones. El virus tiene aproximadamente 0,1 μm de diámetro. *(b)* Tinción inmunológica de antígenos del hantavirus Andes en macrófagos alveolares. Cada área granular teñida de azul oscuro indica la infección celular de un macrófago individual (aproximadamente 15 μm de diámetro).

virus se manejan con precauciones de bioseguridad de nivel 4 (BL4; *véase* Sección 32.4). Los casos de hantavirus y de otros patógenos víricos de tipo BL4 en humanos se investigan en instalaciones especiales (Panel microbiano, «Patógenos especiales y fiebres hemorrágicas víricas).

Los hantavirus infectan de modo persistente a varios tipos de roedores que incluyen ratones, ratas y topos de varias especies, además de otros animales. Las cepas HFRS son más frecuentes en brotes del hemisferio oriental y de Europa. Se reconocen hasta 200.000 casos al año, principalmente en China, Corea y Rusia. Las cepas HPS son más prevalentes en el hemisferio occidental. Es probable que una investigación continuada sobre los hantavirus conduzca a la identificación de nuevas cepas patógenas.

Epidemiología y patología

Los hantavirus se transmiten con mayor frecuencia por la inhalación de los excrementos de roedores contaminados con el virus. El hombre parece ser un hospedador accidental y sólo se infecta cuando establece contacto con los roedores o sus desechos. Por ejemplo, la epidemia de Four Corners comenzó con un invierno suave seguido de una primavera lluviosa que produjo abundante vegetación. La vegetación supuso un alimento abundante que provocó una gran población de roedores en 1993, aumentando así la probabilidad de que el hombre entrara en contacto con ratones o sus restos y que adquiriera por tanto HPS. El virus se suele difundir por aerosoles del polvo generado de las deposiciones o de la orina desecadas. Sin embargo, se han dado casos raros de transmisión de persona a persona, así como algunos incidentes donde se adquirió HPS o HFRS por mordedura de un roedor.

El HSP se caracteriza por una fiebre súbita, mialgia (dolor muscular), trombocitopenia (reducción del número de plaquetas), leucocitosis (aumento del número de leucocitos circulantes) y rotura de los capilares pulmonares. La muerte ocurre a los pocos días en el 35% de los casos, normalmente debida a choque y complicaciones cardíacas precipitadas por edema pulmonar (liberación de líquido a los pulmones que causa asfixia y paro cardíaco). Estos síntomas son típicos del virus denominado Sin Nombre que causó el brote de Four Corners, pero se pueden presentar otros síntomas dependiendo de la cepa del virus que causa la enfermedad. Por ejemplo, la cepa Bayou, que es corriente en los roedores del sudeste de los Estados Unidos, causa además un fallo renal. Las cepas HFRS que son frecuentes en Eurasia difieren considerablemente entre sí respecto a la gravedad de la enfermedad que causan en humanos, con algunas cepas capaces de causar tan sólo un 1% de mortalidad.

Diagnóstico, tratamiento y prevención

Si los hantavirus de una infección determinada se pueden activar en cultivo de tejidos, la cepa se puede identificar por técnicas serológicas que incluyen una prueba de neutralización por el método de reducción en placa. En este ensayo, se prueba el suero del paciente para la presencia de anticuerpos que inhiben la formación de las calvas en el cultivo de tejidos. Más frecuentemente, se realizan ELISA (enzimoinmunoensayos; *véase* Sección 32.10) con sangre del paciente para identificar anticuerpos que revelan la exposición al agente y la existencia de una respuesta inmune. La presencia del genoma viral, indicadora de infección, se puede detectar con RT-PCR (*véanse* Secciones 12.8 y 32.12) con tejidos o muestras de sangre del paciente.

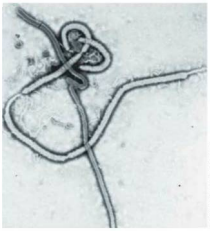
No hay un tratamiento específico o vacunación contra los hantavirus. Sin embargo, la infección puede evitarse eliminado el contacto con los roedores y su hábitat porque el modo de transmisión normal se produce por contacto con sus excrementos. La destrucción del hábitat de los ratones, limitando las fuentes de alimentación (por ejemplo, manteniendo los alimentos en recipientes cerrados) y el uso de métodos agresivos de exterminación, son

Información adicional

Patógenos especiales y fiebres hemorrágicas víricas

La División de Patógenos Especiales de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) en Atlanta, Georgia (EE.UU.) está especializada en el manejo de patógenos peligrosos como los virus causantes de las fiebres hemorrágicas (VHF). Estos agentes incluyen los hantavirus (presentados en este capítulo) y los filovirus, como el virus Ébola (**Figura 1**), que se presenta en la Sección 33.10 en el contexto de las enfermedades infecciosas emergentes. Estos virus merecen un tratamiento especial porque son algunos de los agentes infecciosos más letales conocidos.

Los virus de las fiebres hemorrágicas se manejan con estándares de bioseguridad de nivel BL-4, que es el nivel más alto de contención y que sólo se emplea para trabajar con agentes que constituyen un alto riesgo de amenaza para la vida (*véase* Figura 32.9). Los agentes de VHF son virus con RNA que se transmiten por aerosoles desde animales o artrópodos hospedadores. Normalmente no son patógenos humanos y no dependen del hombre para su transmisión. Los brotes de VHF ocurren esporádicamente y la infección por aerosoles de persona a persona suele ser ineficaz. La mayoría de las transmisiones de hombre a hombre es el resultado de un contacto prolongado con un individuo infectado, con su sangre o con sus desperdicios.



CDC/Dr. Frederick Murphy

Figura 1 **Virus Ébola.** *Micrografía electrónica de transmisión de una preparación de virus Ebola con tinción negativa.*

Las VHF se caracterizan por síntomas graves que afectan a muchos órganos. Los virus dañan el sistema vascular general y funciones tales como el transporte de oxígeno y del agua, así como el control de la temperatura, resultan desreguladas. La formación de hemorragias no es normalmente la causa de la muerte, sino el amplio daño que llevan a cabo en muchos sistemas orgánicos.

procedimientos aceptados de control. La prognosis a largo plazo para la erradicación de la enfermedad es mala, porque un porcentaje considerable de roedores en un área geográfica determinada estan infectados por cepas locales de hantavirus. Por ejemplo, pruebas serológicas retrospectivas realizadas en 1993 en ratones del área Four Corners indicaron que el 30% de la población local de ratones eran portadores del hantavirus Sin Nombre.

35.2 Minirrevisión

Los hantavirus están distribuidos por todo el mundo y causan enfermedades zoonóticas graves en el hombre, como el síndrome pulmonar por hantavirus (HPS) y la fiebre hemorrágica con síndrome renal (HFRS). En Estados Unidos, las infecciones por hantavirus causan una importante mortalidad.

- ¿Por qué los hantavirus representan un problema sanitario importante en Estados Unidos?
- Describa la transmisión de los hantavirus al hombre. ¿Qué medidas resultan eficaces para evitar la infección por hantavirus?

II ENFERMEDADES TRANSMITIDAS POR ARTRÓPODOS

Existen patógenos que pueden transmitirse a los hospedadores a través de un artrópodo infectado con patógenos como vector. En muchos casos, como en las enfermedades producidas por rickettsias, el hombre es un hospedador accidental del patógeno. No obstante, en ocasiones los humanos infectados son hospedadores necesarios en el ciclo de vida de otros patógenos, como ocurre en el caso de la malaria.

35.3 Enfermedades producidas por riquetsias

Las **riquetsias** son bacterias pequeñas que tienen una existencia estrictamente intracelular en vertebrados, normalmente en mamíferos, y que en algún punto de su ciclo vital se asocian también con artrópodos hematófagos como pulgas, piojos o garrapatas. La biología de las ric-

Patógenos especiales y fiebres hemorrágicas víricas *(continuación)*

En Estados Unidos, las únicas VHF endémicas son las producidas por hantavirus y de éstos conocemos los vectores y los hospedadores, y cómo evitar la infección en humanos. Las infestaciones por roedores y el contacto humano con los roedores deben evitarse porque los hantavirus pueden sobrevivir durante largos períodos en las heces, saliva y orina desecadas. Sin embargo, para muchos virus productores de fiebres hemorrágicas, se desconocen los vectores y los mecanismos de transmisión. Por ejemplo, el virus Ébola (Figura 1) es endémico en África central y se propaga a humanos, pero el virus se origina en alguna población animal aún no identificada. Se ha considerado a los murciélagos como posibles hospedadores, pero se carece de pruebas definitivas.

Las enfermedades por hantavirus ocurren en dos formas. El síndrome hemolítico y urémico causa unas 30 muertes al año (15% de mortalidad) en Estados Unidos. De 1993 a 2006 se han descrito en total de 453 casos de síndrome pulmonar por hantavirus y 160 muertes (35%). Como contraste desde 1976, ha habido siete brotes importantes de virus Ébola en África, el último en 2007. En el hombre, la fiebre hemorrágica por el virus Ébola tiene un efecto devastador. En los brotes con más de 15 casos, la mortalidad varió del 29% al 88%. En total, 1.709 personas adquirieron el virus Ébola y 1.146 murieron (67% de mortalidad). Parece claro que si el virus Ébola infectara a personas de un área densamente poblada, los resultados serían desastrosos.

La División de Patógenos Especiales de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades trabaja con los virus de las fiebres hemorrágicas y sobre sus brotes en este país y por todo el mundo. Se encarga del tratamiento de los pacientes infectados, de desarrollar métodos de diagnóstico para identificar los virus y de reunir información científica y clínica sobre estos virus, sus enfermedades y su distribución. Su objetivo es predecir los brotes, identificarlos rápidamente cuando ocurren, determinar el comportamiento vírico durante los brotes e instrumentalizar medidas adecuadas para detenerlos. Esta actividad representa la primera y única línea de defensa para identificar patógenos nuevos de VHF o ya establecidos cuando ocurren epidemias. Para más información sobre esta División de los CDC y sobre los virus y enfermedades que estudian, se puede consultar el sitio web: **http://www.cdc.gov/ncidod/dvrd/spb/index.htm.**

www.m

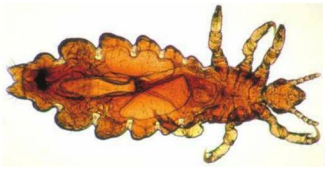
kettsias se expuso en la Sección 15.13, Las rickettsias causan enfermedades en el hombre y en los animales, siendo las más importantes el tifus, la fiebre moteada de las Montañas Rocosas y la erliquiosis. Las riquetsias deben su nombre a Howard Ricketts, un científico de la Universidad de Chicago que las descubrió y que murió por infección con la riquetsia que causa el tifus, *Rickettsia prowazekii*. Las riquetsias no se han logrado cultivar en medios artificiales pero pueden crecer en animales de laboratorio, en piojos, en células de mamífero en cultivo de tejidos y en el saco vitelínico de huevos embrionados de pollo. En los animales, el crecimiento tiene lugar sobre todo en los fagocitos.

La secuenciación del genoma de 1,1 Mbp de *R. prowazekii* indica que estos parásitos intracelulares están muy relacionados con las mitocondrias humanas. Como las mitocondrias, el genoma de las rickettsias contiene solamente un conjunto mínimo de genes necesario para la dependencia intracelular. Por ejemplo, las rickettsias carecen de la mayoría de los genes que se necesitan para un metabolismo energético y una biosíntesis estructural independientes, Por otra parte, el genoma de las rickettsias contiene genes de virulencia muy semejantes a los del operón *virB* del fitopatógeno *Agrobacterium tumefaciens* (*véase* Sección 24.14). Este operón codifica componentes de factores de virulencia que intervienen en la transferencia de DNA y en la exportación de proteínas; en las riquetsias tales factores se necesitan probablemente para que el patógeno pueda usar los sistemas del hospedador para su propio beneficio.

Las rickettsias se dividen en tres grupos atendiendo a las enfermedades que producen. (1) el *grupo del tifus*, ejemplificado por *R. prowazekii*; (2) el *grupo de la fiebre moteada*, tipificado por *Rickettsia rickettsii*; y (3) el *grupo de la erliquiosis*, caracterizado por *Ehrlichia chaffeensis*. Examinaremos estos tres patógenos como ejemplo de cada uno de los tres grupos.

El grupo del tifus: Rickettsia prowazekii

El tifus lo causa *R. prowazekii*. El tifus epidémico se transmite de persona a persona por el piojo común (**Figura 35.4**). El hombre es el único mamífero conocido que sirve de hospedador del tifus. Durante la I Guerra Mundial, se extendió una epidemia de tifus por la Euro-



CDC/PHIL

Figura 35.4 **El piojo humano *Pediculus humanus*.** La hembra, de unos 3 μm de largo, puede contener *Rickettsia prowazekii*, el agente que causa el tifus. Además el piojo del cuerpo puede contener *Borrelia recurrentis*, el agente de la fiebre recurrente, y *Bartonella quintana*, el agente de la fiebre de las trincheras.

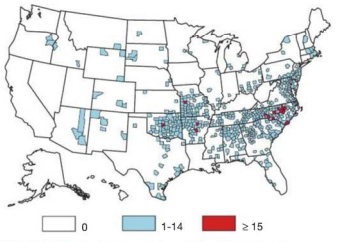


Figura 35.5 **La fiebre maculosa de Las Montañas Rocosas en Estados Unidos.** Se muestra el origen de los 1.936 casos registrados en 2005. Los casos se concentraron en el este y en los estados del sur al oeste de Oklahoma.

pa del este que causó casi tres millones de muertos. Históricamente, el tifus ha sido un gran problema entre las tropas militares en tiempos de guerra. A consecuencia de las deficientes condiciones sanitarias y el hacinamiento característico de las operaciones militares de la infantería, los piojos se extendieron rápidamente entre los soldados y el tifus se difundió en proporciones epidémicas. Hasta la II Guerra Mundial, el tifus causó más muertes militares que las pérdidas en combate.

Las células de *R. prowazekii* se introducen por la piel cuando una discontinuidad causada por la picadura de un piojo se contamina con las heces del piojo, que son una fuente de células de riquetsias. Durante un período de incubación de 1-3 semanas, el organismo se multiplica dentro de las células que forman los pequeños vasos sanguíneos. Los síntomas del tifus (fiebre, dolor de cabeza y debilidad general) empiezan a aparecer después. De 5 a 9 días más tarde se observa una erupción característica en el brazo que se extiende por el cuerpo excepto por la cara, palmas de las manos y planta de los pies. Las complicaciones de un tifus no tratado incluyen daño al sistema nerviosos central, pulmones, riñones y corazón. El tifus epidémico tienen una tasa de mortalidad del 6-30%. Para controlar a *R. prowazekii* se emplea normalmente tetraciclina y cloranfenicol.

Rickettsia typhi, que causa el tifus murino, es otro patógeno importante del grupo del tifus.

El grupo de la fiebre moteada: Rickettsia rickettsii

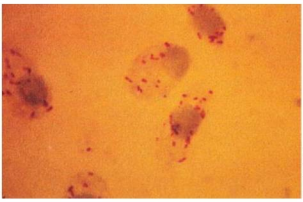
La fiebre moteada de las Montañas Rocosas se reconoció inicialmente en el oeste de los Estados Unidos hacia el año 1900 pero hoy es más frecuente en la región del centro y del sur (**Figura 35.5**). La fiebre maculosa de las Montañas Rocosas está causada por *R. rickettsii* y se transmite al hombre por varias garrapatas, frecuentemente por la garrapata del perro y la del bosque. La incidencia de esta enfermedad es relativamente baja, pero en Estados Unidos la adquieren cada año unas 1.000 personas. El hombre adquiere el patógeno de las heces de la garrapata, que entran en el cuerpo durante una picadura o al rascarse y frotar el material infeccioso con la piel.

A diferencia de otras riquetsias, *R. rickettsii* crece bien en el núcleo de la célula hospedadora así como en el citoplasma (**Figura 35.6*a*** y 35.6*b*). Después de un período de incubación de 3-12 días ocurren los síntomas característicos de fiebre y dolor de cabeza y a los 3-5 días se extiende una erupción por todo el cuerpo (Figura 35.6*c*). También se observan normalmente problemas gastrointestinales como diarrea y vómitos y, si la enfermedad no se trata, los síntomas pueden persistir durante más de 2 semanas. La administración de tetraciclina o cloranfenicol suele favorecer una pronta recuperación si se suministra en las fases tempranas de la infección, y los pacientes así tratados presentan una mortalidad menor del 1%. En casos no tratados, la mortalidad está próxima al 30%.

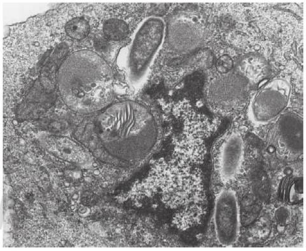
Erliquiosis y anaplasmosis por garrapatas

El género *Ehrlichia* y otros relacionados (*véase* Sección 15.13) son responsables de dos enfermedades emergentes en Estados Unidos transmitidas por garrapatas: *la erliquiosis humana monocítica (HEM*, del inglés *human monocytic ehrlichiosis)* y la *anaplasmosis humana granulocítica (HGA*, del inglés *human granulocytic anaplasmosis*, antes llamada erliquiosis humana granulocítica). Las riquetsias que causan HME son *Ehrlichia chaffeensis* y *Neorickettsia sennetsu*. Las riquetsias que causan HGA son *Ehrlichia ewingii* y *Anaplasma phagocytophilum*.

El inicio de estas enfermedades por riquetsias, clínicamente indistinguibles, presenta síntomas semejantes a los de la gripe que incluyen fiebre, dolor de cabeza, malestar, y a menudo leucopenia (descenso en el número de leucocitos) o trombocitopenia. Los análisis de labo-


Willy Burgdorfer

(a)


Willy Burgdorfer

(b)

Kenneth E. Greer, Univ. of Virginia School of Medicine

(c)

Figura 35.6 ***Rickettsia rickettsii*** **y la fiebre moteada de las Montañas Rocosas**. *(a)* Células de *R. rickettsii* creciendo en el citoplasma y el núcleo de los hemocitos de la garrapata. Las células individuales tienen unos 0,4 μm de diámetro. *(b)* Micrografía electrónica de transmisión de *R. rickettsii* en un hemocito granular de la garrapata de bosque (*Dermacentor anderson*i). *(c)* Erupción de la fiebre maculosa de las Montañas Rocosas en los pies. La erupción por todo el cuerpo es indicativa de esta enfermedad y ayuda a distinguirla del tifus, donde la erupción no afecta a todo el cuerpo. La mayoría de casos de fiebre de las Montañas Rocosas en Estados Unidos no se encuentra en los estados del oeste sino en los del este y del sur (Figura 35.5).

ratorio documentan a menudo cambios en la función hepática caracterizados por un aumento de transaminasa. Además, los leucocitos de la sangre periférica tienen inclusiones de células visibles que sirven de indicador diagnóstico de las enfermedades (**Figura 35.7**). Con la excepción de las inclusiones, los síntomas son similares a los de otras infecciones por riquetsias y las enfermedades pueden variar de subclínicas a mortales. Las complicaciones a largo plazo de casos progresivos sin tratamiento pueden ser una insuficiencia respiratoria y renal y la aparición de trastornos neurológicos graves.

El diagnóstico de laboratorio de estas enfermedades se basa en una prueba de inmunofluorescencia indirecta con el suero del paciente y también en pruebas de PCR con sangre completa o con suero para detectar la presencia de DNA de las riquetsias. En enfermos con erliquiosis se pueden observar las rickettsias en inclusiones dentro de los granulocitos de la sangre.

HGA y HME se transmiten por la picadura de garrapatas infectadas. Entre los mamíferos, los reservorios son los ciervos y posiblemente los roedores, además del hombre. Los análisis serológicos retrospectivos realizados en áreas con alta incidencia de enfermedades transmitidas por garrapatas indican que HGA puede ser una enfermedad más prevalerte que la fiebre moteada de las Montañas Rocosas. Muchas infecciones de HGA no son adecuadamente identificadas por la naturaleza tan variable de los síntomas. Sin embargo, desde 1999 HGA y HME son enfermedades que se registran como tales en Estados Unidos. HGA causa un 60% de los casos de erliquiosis

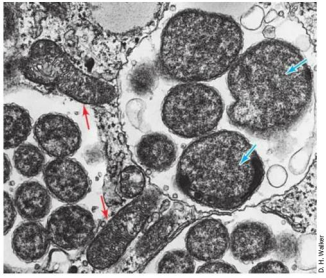

D. H. Walker

Figura 35.7 ***Ehrlichia chaffeensis*****, el agente causante de la erliquiosis monocítica humana (HME).** La micrografía electrónica muestra inclusiones en un monocito humano que contiene muchas células de *E. chaffeensis*. Las flechas azules muestran dos de las muchas células en las inclusiones. Las células de *E. chaffeensis* tienen un diámetro de 300-900 nm. Las mitocondrias se indican con flechas rojas.

UNIDAD 9

total y HME es responsable del 40%. En conjunto suponen más de 1.000 casos descritos al año, pero sin duda este número es más bajo que el número real de casos. Tanto los casos de HGA como los de HME se irán describiendo con más frecuencia a medida que los médicos estén más familiarizados con estas enfermedades emergentes transmitidas por garrapatas.

Como en otras infecciones por garrapatas, el hombre se expone a la erliquiosis en actividades realizadas fuera de casa en áreas infestadas por garrapatas. Los golfistas, excursionistas y otras personas que, por recreo u ocupación, están expuestos a los hábitats de las garrapatas son los más propensos a la infección. La prevención implica reducir estas exposiciones evitando el hábitat de las garrapatas, llevando una ropa adecuada a prueba de garrapatas, y empleando repelentes apropiados, como los que contienen dietil-*m*-toluamida (DEET). A nivel de comunidades, la densidad de la población de las garrapatas puede reducirse en zonas extensas aplicando acaricidas (compuestos tóxicos específicos para las garrapatas y artrópodos relacionados) y eliminando su hábitat, como las hojas y la maleza. La doxiciclina, una tetraciclina semisintética, es el antibiótico de elección para el tratamiento de HGA y HME.

Otras enfermedades producidas por riquetsias

La *fiebre Q* es una infección semejante a una neumonía, que está causada por un parásito intracelular estricto, *Coxiella burnetii*, que es una bacteria relacionada con las rickettsias (*véase* Sección 15.13). Aunque no se transmite directamente al hombre por un insecto, el agente de la fiebre Q se transmite a animales, como ovejas, cabras y vacas, por picadura de insectos. Varias especies de artrópodos actúan como reservorios y como vectores de la enfermedad. Los animales domésticos tienen infecciones que son por lo general inaparentes pero pueden eliminar grandes cantidades de células de *C. burnetii* en la orina, heces, leche y otros líquidos del cuerpo. Los animales infectados, o sus productos como la carne y la leche, son fuentes potenciales de infección para el hombre. La enfermedad que se origina es parecida a la gripe pero puede evolucionar hasta incluir fiebre prolongada, dolor de cabeza, escalofríos, dolor de pecho, neumonía y endocarditis.

El diagnóstico de laboratorio de una infección por *C. burnetii* se hace mediante pruebas inmunológicas orientadas a medir los anticuerpos del hospedador contra el patógeno. Se emplean con mucha frecuencia una prueba de fijación de complemento y una de inmunofluorescencia. Las infecciones por *C. burnetii* responden con tetraciclina y, en casos de sospecha de la enfermedad, la terapia se inicia rápidamente para evitar endocarditis y daños cardíacos relacionados. El agente de la fiebre Q puede emplearse potencialmente en la guerra biológica (*véase* Sección 33.11).

El tifus de los matorrales, o *enfermedad de tsutsugamushi*, está limitada a Asia, el subcontinente de India, y Australia, y está originado por *Orientia tsutsugamushi*. Aunque la enfermedad se parece al tifus, *O. tsutsugamushi* se transmite por ácaros a roedores hospedadores. El hombre es solamente un hospedador ocasional y accidental.

Diagnóstico y control

En el pasado, las infecciones por riquetsias eran difíciles de diagnosticar porque la erupción característica asociada a muchas de estas enfermedades se solía confundir con la del sarampión, la escarlatina o reacciones adversas a fármacos. En la actualidad, la confirmación clínica de una enfermedad por riqutsias es posible por el uso de reactivos inmunológicos específicos y por métodos de biología molecular. Existen pruebas basadas en anticuerpos que detectan el antígeno de superficie de las rickettsias mediante ensayos de aglutinación con bolas de látex, inmunofluorescencia, ELISA, y ensayos con PCR para la detección de ácidos nucleicos.

El control de la mayoría de las enfermedades por riquetsias requiere el control el vector: piojos, pulgas y garrapatas. Para los viajeros de zonas boscosas o con mucha vegetación, el uso de repelentes con DEET evita la adhesión de las garrapatas. Las que están firmemente unidas deben eliminarse con pinzas, teniendo cuidado de extraer todas las partes de la cabeza. Cuando se aplican solventes como el alcohol se favorece la eliminación. Aunque existe una vacuna contra el tifus, la escasez de casos descritos en Estados Unidos no justifica su administración generalizada. Para evitar las enfermedades por riquetsias más prevalentes, es decir, la fiebre moteada de las Montañas Rocosas, HGA o HME, no hay vacunas disponibles en la actualidad.

35.3 Minirrevisión

Las rickettsias son parásitos intracelulares obligatorios transmitidos a los hospedadores por vectores artrópodos. La mayoría de las infecciones por rickettsias son controlables con antibióticos, pero el reconocimiento precoz y la diagnosis de estas enfermedades sigue siendo difícil.

- ¿Cuáles son los vectores y los hospedadores para el tifus, la fiebre moteada de las Montañas Rocosas, la esliquiosis y la anaplasmosis?
- ¿Qué precauciones deben tomarse para evitar las infecciones por riquetsias?

35.4 Enfermedad de Lyme

La **enfermedad de Lyme** es una enfermedad emergente transmitida por garrapatas que afecta al hombre y a otros animales. El nombre de debe a Old Lyme, localidad de Connecticut donde se descubrieron los primeros casos de una enfermedad que, en la actualidad, es la más prevalente de las transmitidas por garrapatas en Estados Unidos.

La enfermedad de Lyme está causada por una espiroqueta, *Borrelia burgdorferi* (**Figura 35.8**; *véase* Sección 16.16), que se extiende fundamentalmente a partir de la garrapata del ciervo, *Ixodes scapularis* (**Figura 35.9**). Las garrapatas que transmiten *B. burgdorferi* se alimentan de la sangre de pájaros, de animales domésticos y salvajes, y del hombre.

Epidemiología

Los ciervos y el ratón campestre de pies blancos son los principales reservorios de *B. burgdorferi* entre los mamíferos del nordeste de Estados Unidos. En otras partes del país, la espiroqueta de la enfermedad de Lyme la transmiten especies diferentes de ratones y de garrapatas. Por ejemplo en el oeste, *Ixodes pacificus* y la rata de bosque son el vector y el hospedador más frecuentes.

La enfermedad de Lyme también se ha identificado en Europa y en Asia. La garrapata vector en Europa es *Ixodes ricinus*, que también puede contener a *Borrelia garinii*, otro organismo que causa una enfermedad similar a la de Lyme. En los países asiáticos *Borrelia afzelii* es transmitida por *Ixodes persulcatus*. En todos los casos, se han identificado roedores locales como reservorios. Por tanto, la enfermedad de Lyme parece tener una amplia distribución geográfica y transmitirse al hombre por patógenos del género *Borrelia* muy relacionados, que tienen como vectores garrapatas, y como hospedadores y reservorios a roedores y mamíferos.

Las especies de *Ixodes* son las garrapatas más pequeñas, de modo que pueden pasar desapercibidas (Figura 35.9). A diferencia de los vectores de otras enfermedades transmitidas por garrapatas, un alto porcentaje de las garrapatas del ciervo (más del 50% en algunas regiones del noreste) llevan *B. burgdorferi*. El contacto dilatado con las garrapatas vectores que están infectadas aumenta la probabilidad de transmisión de la enfermedad.

En Estados Unidos, la mayor parte de los casos de la enfermedad de Lyme se registran en el noreste y en el medio oeste, pero se han observado casos prácticamente en cada estado. El número de casos de la enfermedad de Lyme está en aumento y se describen unos 24.000 cada año (**Figura 35.10**).

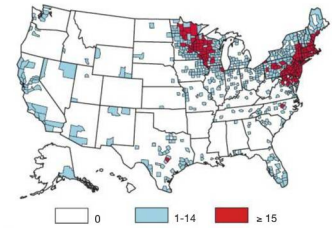
Figura 35.8 Micrografía de microscopio electrónico de barrido de la espiroqueta causante de la enfermedad de Lyme, *Borrelia burgdorferi*. El diámetro de una célula aislada es de aproximadamente 0, 4 μm.

Figura 35.9 Garrapatas de ciervo (*Ixodes scapularis*), los principales vectores de la enfermedad de Lyme. De izquierda a derecha, garrapatas macho y hembra adultas, ninfa y forma larvaria. La longitud de una hembra adulta es de unos 3 μm. Todas las formas se alimentan del hombre y pueden transmitir *Borrelia burgdorferi*.

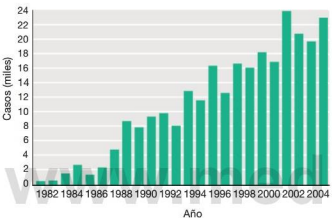
Patología de la enfermedad de Lyme

Las células de *B. burgdorferi* se transmiten al hombre mientras que la garrapata está obteniendo sangre (**Figura 35.11*a***). Se desarrolla una infección sistémica que lleva a la aparición de los síntomas agudos propios de la enfermedad de Lyme, como son dolor de cabeza y de espalda, escalofríos y cansancio. En casi el 75% de los casos se observa en el sitio de la picadura de la garrapata una gran erupción conocida como *eritema migrans* (Figura 35.11*b*). Durante esta fase aguda la enfermedad puede tratarse con tetraciclina o penicilina. Sin tratamiento, la enfermedad de Lyme puede pasar a una fase crónica, semanas o meses después de la picadura inicial. La enfermedad crónica se caracteriza por artritis en el 40-60% de los enfermos. También hay complicaciones neuronales como parálisis, debilidad en los miembros y tics faciales en el 15-20% de los enfermos, y problemas cardíacos en el 8%. En casos sin tratamiento, las células de *B. burgdorferi* que infectan el sistema nervioso central pueden permanecer latentes durante largos períodos antes de causar síntomas adicionales, como perturbaciones visuales, parálisis facial y convulsiones.

En la patogénesis de la enfermedad de Lyme no se han identificado toxinas o factores de virulencia. En muchos aspectos, los síntomas latentes de la enfermedad, especialmente los de índole neurológica, se parecen a los de la sífilis crónica, causada por una espiroqueta diferente,



(a)



(b)

Figura 35.10 **La enfermedad de Lyme en Estados Unidos.** *(a)* Enfermedad de Lyme en Estados Unidos en 2005, con 23.305 casos concentrados en el nordeste y el medio-este superior. *(b)* Número de casos descritos por año en Estados Unidos. La enfermedad de Lyme se registra a través del Sistema Nacional de Seguimiento de Enfermedades de Declaración Obligatoria de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades.

(a)

(b)

Figura 35.11 **Infección de la enfermedad de Lyme.** *(a)* Garrapata de ciervo obteniendo sangre de un hombre. *(b)* Típica erupción circular conocida como *eritema migrans*, asociada con la enfermedad de Lyme, que empieza en el sitio de la picadura y crece circularmente durante varios días. Este ejemplo típico presenta unos 5 cm de diámetro.

www.mundolibros.com

Treponema pallidum (*véase* Sección 34.13). Sin embargo, a diferencia de la sífilis, la enfermedad de Lyme no se transmite por contacto personal. No obstante, los individuos infectados liberan un pequeño número de células de *B. burgdorferi* por la orina y es posible que la enfermedad se pueda extender ocasionalmente a los animales domésticos, sobre todo al ganado, a través de la orina contaminada.

Diagnóstico

En respuesta a *B. burgdorferi* aparecen anticuerpos 4-6 semanas después de la infección, que pueden detectarse por una prueba de enzimoinmunoensayo indirecto (ELISA) o por inmunofluorescencia. La prueba serológica más definitiva para la enfermedad de Lyme consiste en realizar un Lyme Western-blot (*véase* Sección 32.11). Como los anticuerpos contra los antígenos de la espiroqueta persisten durante años, su presencia no indica necesariamente una infección reciente y puede que no confieran resistencia frente a infecciones posteriores.

Para la detección de *B. burgdorferi* en tejidos o muestras del hospedador se ha desarrollado también una prueba de PCR. Aunque esta prueba es rápida y sensible, no permite distinguir entre el agente vivo en una enfermedad activa y el agente muerto en una enfermedad tratada o inactiva. *B. burgdorferi* también se puede cultivar a partir del 80% de las lesiones originales del eritema migrans (Figura 35.11*b*), pero normalmente no se realiza el cultivo por el lento crecimiento de *B. burgdorferi* incluso en medios muy especializados.

En último término, la enfermedad de Lyme se suele diagnosticar clínicamente. Si un paciente presenta síntomas de esta enfermedad junto a otras manifestaciones como tics faciales o artritis, ha estado recientemente expuesto a garrapatas, y tiene eritema migrans, se inicia un

tratamiento con antibióticos por constituir un diagnóstico presuntivo.

Prevención y tratamiento

La prevención contra la enfermedad de Lyme requiere precauciones adecuadas para evitar las garrapatas. En áreas infestadas por garrapatas, como bosques y zonas de maleza, se recomienda llevar ropa protectora, con zapatos, pantalón largo y camisa de manga larga con cuello y puños ajustados. El meter los extremos de los pantalones en calcetines ajustados dentro las botas actúa como una barrera adecuada contra las garrapatas. Después de pasar algún tiempo en un medio con garrapatas, las personas deben autoexaminarse cuidadosamente y eliminar cualquier posible garrapata (incluyendo la cabeza). Los repelentes que contienen DEET son muy eficaces. En 2002 se retiró del mercado por falta de ventas una vacuna eficaz en humanos contra la enfermedad de Lyme. Se dispone en cambio de vacunas comercializadas para la inmunización de animales domésticos.

El tratamiento de la enfermedad aguda se puede hacer con deoxiciclina, amoxicilina (un antibiótico β-lactámico) o cefuroxime, normalmente durante 14 días. Para pacientes con síntomas neurológicos o cardíacos por infección con *B. burgdorferi* se suele usar ceftriaxon parenteralmente. Este antibiótico β-lactámico cruza la barrera hematoencefálica afectando a las espiroquetas en el sistema nervioso central. No hay indicaciones de que el tratamiento con antibióticos más allá de las dosis y de los tiempos recomendados mejore algunas secuelas, como la artritis.

35.4 Minirrevisión

En la actualidad, la enfermedad de Lyme es la enfermedad transmitida por artrópodos más prevalente en Estados Unidos. Se transmite al hombre desde varios mamíferos hospedadores por vectores como las garrapatas. La prevención y el tratamiento de la enfermedad de Lyme es sencilla, pero el diagnóstico precoz y definido de la infección resulta esencial.

- ¿Cuáles son los síntomas iniciales de la enfermedad de Lyme?
- Señale métodos para evitar la infección por *Borrelia burgdorferi*
- ¿Qué antibióticos se usan para tratar la enfermedad de Lyme?

35.5 Malaria

La **malaria** es una enfermedad causada por especies de *Plasmodium*, un grupo de protozoos que son miembros del grupo alveolado (*véase* Sección 19.8). *Plasmodium* causa enfermedades como la malaria en hospedadores de sangre caliente; el complejo ciclo de vida del protozoo incluye un mosquito como vector (Figura 35.12). Los protozoos de la malaria son patógenos humanos muy importantes y la enfermedad ha jugado un papel destacado en el desarrollo y extensión de la cultura humana, afectando incluso a la evolución humana. Aunque se dispone de varios tratamientos eficaces, la malaria es todavía una enfermedad relevante para el hombre, con una incidencia de hasta 350 millones de casos en todo el mundo. Cada año muere 1 millón de enfermos de malaria, convirtiendo a esta enfermedad en una de las causas de muerte más comunes por enfermedades infecciosas (*véase* Tabla 33.1).

Hay cuatro especies que infectan al hombre y causan malaria, *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale* y *P. malariae*. La enfermedad más extendida es la causada por *P. vivax* y la más grave es la causada por *P. falciparum*. El hombre es el único reservorio para estas cuatro especies. Los protozoos desarrollan parte de su ciclo de vida en el reservorio humano y parte en la hembra del mosquito *Anopheles*, el único vector que transmite la malaria y que extiende el vector de una persona a otra.

Epidemiología

Los mosquitos *Anopheles* y las especies de *Plasmodium* viven predominantemente en los trópicos y regiones subtropicales. En general, la malaria no es una enfermedad de regiones templadas o frías. Por ejemplo, no existía en el norte de América antes de la llegada de los europeos pero era un problema importante en los estados del sur, donde existen hábitats apropiados para el mosquito. La enfermedad se asocia con áreas de humedales donde se crían los mosquitos. El término *malaria* deriva del italiano que significa «mal aire».

El ciclo de vida del agente de la malaria es complejo (**Figura 35.12**). Primero, el hombre es infectado por los *esporozoitos* plasmodiales, que son pequeñas células alargadas producidas en el mosquito y localizadas en las glándulas salivares del insecto. El mosquito inyecta la saliva (que contiene un anticoagulante) junto con los esporozoitos cuando se alimenta de sangre del hospedador. Los esporozoitos se desplazan por el torrente sanguíneo hasta el hígado, donde permanecen quiescentes o se replican y pasan a la fase llamada *esquizonte*. Los esquizontes se dividen luego en un número de pequeñas células llamadas *merozoitos*, que abandonan el hígado y vuelven al torrente circulatorio. Algunos de estos merozoitos infectan a los glóbulos rojos (eritrocitos).

El ciclo de vida de los merozoitos en los glóbulos rojos comprende la división, el crecimiento y la liberación de los merozoitos originando la destrucción de los glóbulos rojos del hospedador. El crecimiento de *P. vivax* en los eritrocitos se repite a intervalos sincronizados de 48 horas y durante este período el hospedador experimenta los síntomas clínicos más definidos de la malaria, caracterizados por escalofríos seguidos de fiebre de hasta 40 °C. El modelo de frío-calor coincide con la liberación de los merozoi-

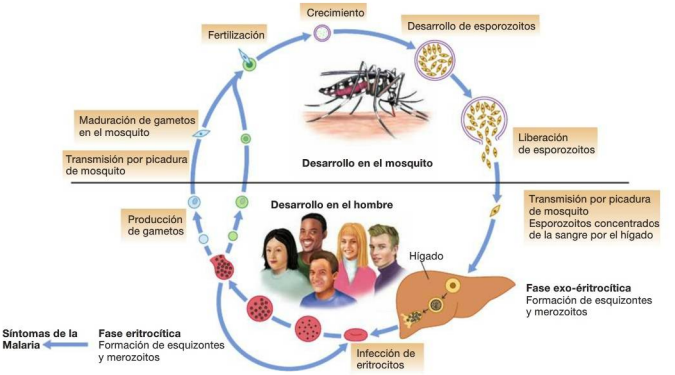


Figura 35.12 **Ciclo de vida de *Plasmodium vivax*.** El género de protozoos *Plasmodium* comprende los patógenos de la malaria, todos los cuales tienen un ciclo de vida dependiente del crecimiento en un hospedador de sangre caliente y en un mosquito vector. La transmisión del protozoo al hospedador de sangre caliente, o desde él, se realiza por la picadura del mosquito.

www.medilibros.com

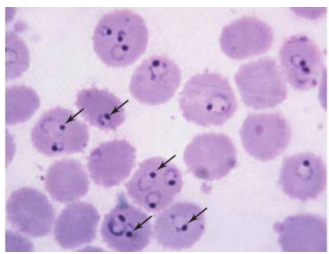
tos de *P. vivax* de los eritrocitos durante el ciclo sincronizado de reproducción asexual. Estos ciclos también pueden ir acompañados de vómitos y fuertes dolores de cabeza y, a largo plazo, los síntomas característicos de la malaria alternan generalmente con períodos asintomáticos. Debido a la destrucción de los eritrocitos, la malaria suele causar anemia e inflamación del bazo (esplenomegalia).

No todos los meorozoitos liberados de los glóbulos rojos son capaces de infectar a otros eritrocitos. Las células que no infectan a eritrocitos se llaman *gametocitos* y solamente infectan a los mosquitos. Los gametocitos penetran en otro mosquito *Anopheles* cuando toma sangre de una persona infectada, y maduran dentro del mosquito en *gametos*. Dos gametos se fusionan y forman un zigoto, que se desplaza con movimiento ameboideo al exterior del intestino del insecto, donde forma esporozoitos que se liberan y alcanzan la glándula salivar del mosquito, de donde pueden inocularse a otro hombre, comenzando de nuevo el ciclo.

Diagnóstico y tratamiento

El diagnóstico definitivo de la malaria en el hombre requiere la identificación de eritrocitos infectados por *Plasmodium* en muestras de sangre (**Figura 35.13**). Para comprobar las infecciones por *Plasmodium*, o para diferenciar infecciones entre las diversas especies del género, se pueden usar tinciones fluorescentes de ácidos nucleicos, sondas de ácidos nucleicos, pruebas con ácidos nucleicos, ensayos con PCR y métodos de detección de antígenos (pruebas diagnósticas rápidas, RDT).

La profilaxis para viajeros a zonas endémicas y el tratamiento de la malaria se realiza normalmente con cloroquina, que es un fármaco de elección para tratar los



CDC/Steven Glenn

Figura 35.13 ***Plasmodium falciparum*.** Este protozoo parásito es uno de los incluidos en el género *Plasmodium* que causa malaria. Los organismos (flechas) crecen dentro de los góbulos rojos humanos. Los eritrocitos normales tienen un diámetro de cerca de 6 mm y los infectados son ligeramente de mayor tamaño.

merozoitos dentro de los glóbulos rojos, pero que no mata a los esporozoitos, merozoitos o gametos fuera de las células. El tratamiento simultáneo con cloroquina y con primaquina produce curación. Incluso en individuos sometidos a tratamiento, sin embargo, la malaria puede aparecer de modo recurrente años después de la infección primaria. Aparentemente, un pequeño número de esporozoitos sobrevive en el hígado y puede reiniciar la malaria meses o años después de la liberación de merozoitos.

En muchas partes del mundo las cepas de *Plasmodium* han desarrollado resistencias a la cloroquina, a la primaquina, o a ambas, así como también a otros fármacos. En tales áreas se emplea como profilaxis mefloquina o doxiciclina; como tratamiento y como profilaxis se recomienda malarona, que es una combinación de dos fármacos, atovaquona y proguanil o proguanilo. Una nueva categoría de compuestos anti-malaria es la de los derivados sintéticos de artemisina, un compuesto natural que contiene grupos peroxido y forma radicales libres. Estos compuestos son activos *in vivo* y se están sometiendo a ensayos clínicos.

Prevención

El tratamiento con compuestos anti-malaria es una solución cara y sólo válida a corto plazo para evitar y controlar la malaria, y el desarrollo de resistencias por las especies de *Plasmodium* complica adicionalmente la situación. El método de control más eficaz es interrumpir el ciclo de vida del protozoo eliminando uno de los hospedadores obligados, el mosquito *Anopheles*.

Son posibles dos abordajes para controlar el mosquito: (1) la *eliminación del hábitat* por drenaje de los humedales y áreas similares de reproducción o (2) la *eliminación del mosquito* con insecticidas y tratamiento de los enfermos con drogas anti-malaria para romper el ciclo de vida del *Plasmodium*. Durante los años 1930 se construyeron 33.000 millas de acequias en 16 estados del sur de Estados Unidos para eliminar áreas extensas de reproducción para el mosquito. Se derramaron también millones de litros de aceite en zonas pantanosas para reducir el suministro de oxígeno a las larvas de mosquito. El descubrimiento del insecticida diclorodifenil-tricloroetano (DDT) hizo posible el control químico de las larvas y del mosquito. Durante la II Guerra Mundial, el Servicio de Sanidad Pública organizó una Oficina para el Control de Mosquitos en Áreas de Guerra, y como muchas bases militares de Estados Unidos se encontraban en el sur, esta organización llevó a cabo un dilatado programa de erradicación dentro y fuera del país. En 1946, hubo 48.610 casos de malaria en Estados Unidos y el Congreso estableció un programa de erradicación de 5 años usando profilaxis para los individuos y tratamientos con fármacos y DDT para las infestaciones por mosquitos. El 1953 hubo solamente 1.310 casos de malaria. En 1935 se dieron unas 4.000 muertes por malaria mientras que en 1952 sólo se produjeron 25 muertes.

Aunque la amenaza pública global de la malaria es actualmente mínima en Estados Unidos, se han presentado de nuevo algunos casos de malaria endémica tan al norte como el estado de Nueva York. La incidencia de la malaria también ha aumentado por casos importados de inmigrantes o de soldados en áreas con malaria endémica. Como media, hay unos 1.500 casos de malaria y cinco muertes al año en Estados Unidos. La mayoría son casos importados.

En otras partes del mundo la erradicación ha sido mucho más lenta, pero se emplean las mismas medidas de control. La reducción de los hábitats de los mosquitos, el control de los mosquitos con insecticidas, y el tratamiento de los individuos infectados con fármacos para la cura y la profilaxis continúan siendo las principales estrategias de control de la malaria. Se están desarrollando algunas vacunas contra la malaria, incluyendo vacunas con péptidos sintéticos, vacunas recombinantes y vacunas con DNA (*véase* Sección 26.5)

La malaria y la evolución humana

La malaria ha sido endémica en África durante millones de años. Entre los africanos del oeste del continente, la resistencia a la malaria causada por *P. falciparum* se asocia con una proteína alterada en los glóbulos rojos, la hemoglobina S, cuya secuencia de aminoácidos difiere en sólo un aminoácido de la hemoglobina A normal. En la cadena beta de la hemoglobina S, el aminoácido neutro valina sustituye al ácido glutámico de la hemoglobina A. Como resultado, la hemoglobina S une oxígeno con menos eficacia que la hemoglobina A. En condiciones de baja concentración de oxígeno, la hemoglobina S forma largos y finos agregados que hacen que el eritrocito cambie de forma, de aspecto redondeado bicóncavo a una célula alargada con forma de C llamada *célula falciforme* (con forma de hoz). Los individuos que son homocigóticos para este carácter son muy susceptibles a los cambios de concentración de oxígeno y sufren de una grave enfermedad debilitante llamada **anemia falciforme**.

Los individuos que son heterocigóticos para la hemoglobina S poseen lo que se llama el *rasgo falciforme* y también la resistencia a la malaria en comparación con los individuos normales. En los heterocigóticos la hemoglobina S puede aún producir células falciformes pero no con tanta facilidad como en los homocigóticos. Sin embargo, el crecimiento de *P. falciparum* dentro del eritrocito en los heterocigóticos causa que las células se deformen más fácilmente que en células heterocigóticas no infectadas. La hemoglobina S agregada en células falciformes parece alterar la membrana citoplásmica del eritrocito, permitiendo el escape del potasio de la célula. *P. falciparum* no puede crecer en el medio con baja concentración de potasio de la célula modificada, de modo que las personas con este carácter pueden vivir una existencia más o menos normal y ser resistentes a la malaria.

En algunas regiones mediterráneas donde la malaria es endémica, la resistencia a *P. falciparum* se asocia con una deficiencia en los eritrocitos de la enzima glucosa-6-

fosfato deshidrogenasa (G6PD), que actúa como un antioxidante intracelular (reductor). La falta de G6PD acarrea altos niveles de oxidantes intracelulares, como el H_2O_2 producido dentro del eritrocito por el crecimiento de *P. falciparum*. Los elevados niveles de los oxidantes, que normalmente se eliminan por la actividad de la G6PD, limitan el crecimiento de *P. falciparum* dañando la membrana citoplásmica.

Otro grupo de anormalidades genéticas en muchas poblaciones mediterráneas afecta a la producción y eficacia de la hemoglobina. Se conocen colectivamente como talasemias y están también estadística y geográficamente asociadas con la resistencia a la malaria. Como la deficiencia en G6PD, las talasemias provocan un aumento de oxidantes en los eritrocitos.

La hemoglobina S, la deficiencia en G6PD y las talasemias son el resultado de mutaciones genéticas que originan deficiencias en las células de los glóbulos rojos y en el procesamiento del oxígeno que son perjudiciales para las poblaciones humanas normales. Sin embargo, en las poblaciones e individuos expuestos a infecciones por *Plasmodium* y a malaria, estas mutaciones son seleccionadas positivamente: aunque las mutaciones causan anormalidades y deficiencias, proporcionan resistencia a la malaria y favorecen la supervivencia de los individuos que llevan la mutación.

Otro caso en que *Plasmodium* influencia la evolución implica al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y al sistema inmune. Como se expuso en el Capítulo 29, las proteínas de la clase I y II del MHC presentan antígenos a las células T para iniciar una respuesta inmune. En individuos resistentes a la malaria del África ecuatorial del oeste es muy frecuente poseer un gen particular de proteína MHC de la clase I y un particular conjunto de genes de la clase II. Estos genes MHC específicos que son tan comunes en dichas poblaciones están prácticamente ausentes en otras poblaciones humanas. Los individuos que expresan estos genes tienen tanta resistencia a la malaria como los que expresan la hemoglobina S. Las proteínas MHC codificadas por estos genes son moléculas excepcionalmente buenas para la presentación de algunos antígenos de la malaria e inician una fuerte respuesta inmune protectora contra las infecciones de *Plasmodium*. Como en el caso de las variantes de hemoglobina, *Plasmodium* es un agente selectivo para genes MHC que facilitan la supervivencia del hospedador. Los individuos que tienen genes MHC seleccionados y que proporcionan resistencia a la malaria tienen una ventaja de supervivencia y es más probable que vivan y pasen los genes de la resistencia a sus descendientes.

Por tanto, las infecciones de *Plasmodium* que causan malaria han sido un agente selectivo en la evolución humana. Otros patógenos, como *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculosis, *véase* Sección 34.5) o *Yersinia pestis* (peste, Sección 35.7) también pueden haber provocado cambios selectivos en el hombre, pero en ningún caso la evidencia es tan clara como en la malaria.

35.5 Minirrevisión

Las infecciones por especies de *Plasmodium* causan malaria, una enfermedad extendida y común, que es transmitida por mosquitos en regiones tropicales y subtropicales del mundo. La malaria es una importante causa de morbilidad y mortalidad en países subdesarrollados y un factor selectivo para genes de resistencia en el hombre. La enfermedad se puede evitar combinando medidas de salud pública y quimioterapia.

- ¿Cuáles son los reservorios naturales y los vectores para las especies de *Plasmodium*? ¿Cómo puede prevenirse o erradicarse la malaria?.
- Repase los mecanismos genéticos responsables de la resistencia a la malaria. ¿Por qué no se encuentran genes anti-malaria en todos los humanos?

35.6 Virus del Nilo occidental

El virus del Nilo occidental (WNV, del inglés *West Nile virus*) causa la **fiebre del Nilo occidental**, una enfermedad vírica del hombre que está emergiendo con rapidez y que es transmitida por la picadura de un mosquito (**Figura 35.14**). El virus puede invadir el sistema nervioso de los hospedadores de sangre caliente. El WNV pertenece al grupo de los flavivirus y tiene una cápsida icosaédrica con envuelta (Figura 35.14*b*) que contiene un RNA monocatenario con polaridad positiva de aproximadamente 11.000 nucleótidos (*véase* Sección 19.8).

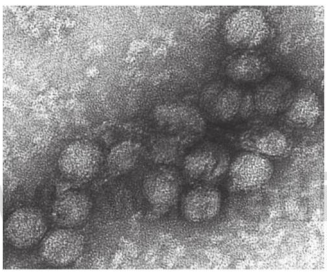
Epidemiología

La primera identificación de infección humana por WNV ocurrió en 1937 en Uganda (África). En los años 1950 el virus ya se había extendido por Egipto e Israel. En la década de los 1990 aparecieron brotes de WNV en caballos, en pájaros y en el hombre en varios países africanos y europeos. En 1999 se describió el primer caso en Estados Unidos, cerca de Nueva York. Desde 1999 hasta 2001 se han confirmado 149 casos en humanos con 18 muertes. En 2002 esta enfermedad emergente se extendió desde la costa este hasta el medio oeste, coincidiendo con la aparición y desaparición estacional de los mosquitos vectores, alcanzando un pico máximo de 884 casos en Illinois y 4.156 casos en toda la nación. La enfermedad continúa barriendo América del Norte. En 2006 se dieron al menos 9.186 casos, centrados en los estados del medio oeste y del oeste. La mayor incidencia actual de enfermedad por NWV ocurre en los estados montañosos del oeste, presentando Idaho 996 casos (**Figura 35.15*a***).

Transmisión y patología del WNV

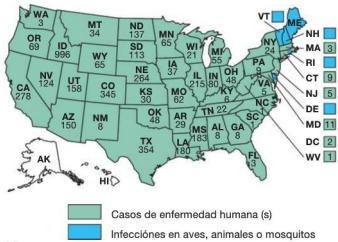
Normalmente el WNV causa una enfermedad activa en las aves y se transmite a hospedadores susceptibles por la picadura de un mosquito infectado. Se conocen varias

(a)

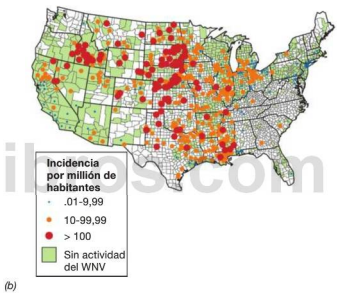


(b)

Figura 35.14 **Virus del Nilo occidental.** *(a)* El mosquito *Culex quinquefasciatus*, que aparece aquí hinchándose de sangre humana, es un vector del virus del Nilo occidental. *(b)* Micrografía electrónica del virus del Nilo occidental. El virus icosaédrico tiene un diámetro de 40-60 nm.



(a)



(b)

Figura 35.15 **Virus del Nilo occidental en Estados Unidos en 2006.** *(a)* El virus causó 4.269 casos de enfermedad en el hombre, con 177 muertes. De 1999 a 2006, la enfermedad se desplazó en Estados Unidos, desde la costa oeste hacia el medio oeste y el norte del oeste. *(b)* En 2006 se presentaron 1.459 casos de enfermedad neuroinvasiva por el WNV. La incidencia de la forma neuroinvasiva, por millón de habitantes, fue mayor en el norte del medio oeste y en Idaho. Datos obtenidos de los Centros para Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU.

especies de mosquitos vectores y más de 130 especies de pájaros que pueden actuar como reservorios. Las aves infectadas desarrollan una viremia que dura 1-4 días y las que sobreviven presentan una inmunidad duradera. Los mosquitos que se alimentan sobre aves con viremia resultan infectados y pueden infectar después a otros pájaros, renovando el ciclo. La incidencia de la infección en la población de aves de un área determinada disminuye a medida que las aves susceptibles mueren o se recuperan desarrollando inmunidad. Sin embargo, los mosquitos vectores transmiten el WNV a nuevas áreas, produciendo epidemias ondulantes a través del continente. La mayor frecuencia de enfermedad neuroinvasiva en el hombre se presenta en el oeste de los Estados Unidos (Figura 35.15*b*). A efectos prácticos, la infección por WNV se puede considerar endémica en las poblaciones de aves de América del Norte.

El hombre y otros animales son hospedadores terminales porque no desarrollan la viremia suficiente para infectar a mosquitos. En el hombre, la tasa de mortalidad en las infecciones diagnosticadas es significativa, de un 4% (en 2007, se dieron 4.269 casos, con 177 muertes), y en los caballos alcanza hasta el 40%. La mayoría de las infecciones en el hombre son asintomáticas, o muy leves. Después de un período de incubación de 3-14 días, cerca del 20% de los infectados desarrollan fiebre del Nilo occidental como una enfermedad leve que dura 3-6

días. La fiebre puede acompañarse de dolor de cabeza, náuseas, mialgia, erupción, linfoadenopatía (inflamación de los nódulos linfáticos) y malestar general. Menos del 1% de los infectados desarrolla enfermedades neurológicas graves, como encefalitis del Nilo occidental o meningitis. Sin embargo, los casos diagnosticados pueden tener muchas otras complicaciones neurológicas, y en 2006, de un total de 4.296 casos descritos, 1.459 casos presentaron enfermedad neuroinvasiva (Figura 35.15*b*). Las personas mayores de 50 años parecen ser más susceptibles a las complicaciones neurológicas. El diagnóstico de la enfermedad producida por el WNV incluye la determinación de síntomas clínicos y la confirmación con una prueba ELISA positiva para determinar anticuerpos en el suero contra el virus.

Prevención y control del WNV

Como el caso del virus de la encefalitis de St. Louis y de otros virus transmitidos por mosquitos que causan encefalitis, la transmisión del WNV es estacional y depende de la exposición de la población al mosquito. El método básico del control de la difusión del WNV es limitar la exposición al vector de la enfermedad. Las personas deben evitar los hábitats de los mosquitos, permanecer en casa entre el atardecer y el amanecer (las principales horas de actividad del mosquito), llevar una ropa apropiada que sea resistente a la picadura del mosquito y emplear insecticidas repelentes que contengan DEET, como en el caso de la enfermedad de Lyme. A nivel poblacional, la difusión del WNV se puede controlar destruyendo el hábitat del mosquito y aplicando los insecticidas apropiados. No existe una vacuna eficaz para el hombre, aunque están en desarrollo varias candidatas. Se dispone de vacunas veterinarias que son muy empleadas en caballos, pero su eficacia es dudosa. Como para la mayoría de las enfermedades víricas, el tratamiento incluye descanso, ingestión de líquidos, y medidas paliativas de la fiebre y el dolor. No se conocen fármacos antivirales que sean eficaces contra el WNV.

35.6 Minirrevisión

La fiebre del Nilo occidental es una enfermedad vírica transmitida por mosquitos. En el ciclo natural de la enfermedad, las aves se infectan con el virus por picaduras de mosquitos infectados. Los hombres y otros vertebrados son hospedadores terminales ocasionales. La mayoría de las infecciones en el hombre son asintomáticas y no diagnosticadas, pero las complicaciones pueden causar un 3,5% de mortalidad por encefalitis y meningitis.

- Identifique el vector y el reservorio del virus del Nilo occidental.
- Describa la evolución del virus del Nilo occidental en Estados Unidos desde 1999.

35.7 Peste

La **peste** pandémica ha causado más muertes humanas que ninguna otra enfermedad infecciosa exceptuando la malaria y la tuberculosis. La peste llegó a matar hasta un tercio de la población europea en pandemias individuales durante la Edad Media.

La peste está causada por *Yersinia pestis*, un bacilo gramnegativo y aerobio facultativo (**Figura 35.16**) que pertenece al grupo de las bacterias entéricas (*véase* Sección 15.11). La peste es una enfermedad de roedores domésticos y salvajes; las ratas son el reservorio principal de la enfermedad. El hombre es un hospedador accidental y no resulta clave para el mantenimiento de la enfermedad. Las pulgas son vectores y hospedadores intermediarios en la difusión de la enfermedad entre los mamíferos (**Figura 35.17**). La mayoría de las ratas infectadas mueren poco después de la aparición de los síntomas, pero la pequeña proporción de supervivientes desarrolla una infección crónica y constituye el reservorio persistente de *Y. pestis* en forma virulenta.

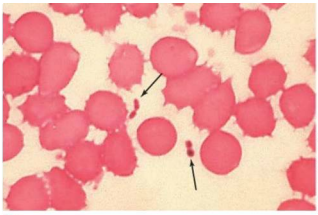
Epidemiología

En los estados del sudoeste de Estados Unidos se registra la mayor parte de los casos, donde la enfermedad, que es endémica entre los roedores salvajes, se llama *peste silvática*. La peste se transmite por *Xenopsylla cheopis*, la pulga de la rata, que ingiere células de *Y. pestis* al chupar sangre de un animal infectado. Las células se multiplican en el intestino de la pulga y se transmiten a un animal sano en la siguiente picadura.

A medida que la enfermedad se extiende, la mortalidad entre las ratas es tan alta que las pulgas infectadas buscan nuevos hospedadores, incluido el hombre. En el hombre, las células de *Y. pestis* se desplazan típicamente a los nódulos linfáticos causando inflamación. Los nódulos linfáticos regionales, abultados por la inflamación, se denominan *bubones* y, por esta razón, la enfermedad se llama a menudo *peste bubónica* (Figura 35.16*b*). Los bubones están llenos de *Y. pestis*, que se encapsula para evitar la fagocitosis y la destrucción por el sistema inmune. Se forman bubones secundarios en los nódulos linfáticos periféricos y las células alcanzan finalmente el torrente circulatorio causando septicemia. Las hemorragias locales múltiples producen manchas oscuras en la piel, dando a la peste su nombre histórico de «la Muerte Negra» (Figura 35.16*c*). Si no se trata antes de la fase de septicemia, los síntomas de la peste (hinchamiento de los nódulos linfáticos y dolor, postración, choque y delirio) van en aumento y normalmente causan la muerte en 3-5 días.

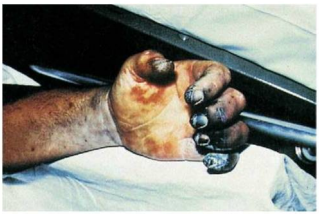
Patología de la peste

La patogénesis de la peste no se conoce por completo, pero las células de *Y. pestis* producen factores de virulencia que contribuyen al proceso de la enfermedad. Los antígenos V y W de la pared celular de *Y. pestis* son comple-



(a)

(b)



(c)

Figura 35.16 **La peste en el hombre.** *(a) Yersinia pestis*, el agente causal de la peste es un bacilo gramnegativo de 2 μm de largo y 1 μm de ancho. El microorganismo en este frotis de sangre (flechas) muestra su característica tinción bipolar. *(b)* Un bubón formado en la ingle. *(c)* Gangrena y cambio de piel en la mano de una víctima de peste.

jos de proteína-lipoproteína que inhiben la fagocitosis. Las cepas virulentas de *Y. pestis* producen una exotoxina llamada *toxina murina* a causa de su elevada toxicidad en los ratones. La toxina murina es un inhibidor respiratorio que bloquea en las mitocondrias el transporte de electrones a la coenzima Q. Origina un choque sistémico, daño al hígado y una afección respiratoria en los ratones. Aunque la toxina murina solamente es muy activa en algunas especies animales, puede también tener un papel en la peste humana porque estos mismos síntomas se advierten en los pacientes infectados. *Y. pestis* también produce una endotoxina muy inmunogénica que puede tener alguna función en el proceso de la enfermedad.

La *peste neumónica* se presenta cuando las células de *Y. pestis* se inhalan directamente o se adquieren a través de la circulación sanguínea o linfática. No presenta nor-

www.medilibros.com

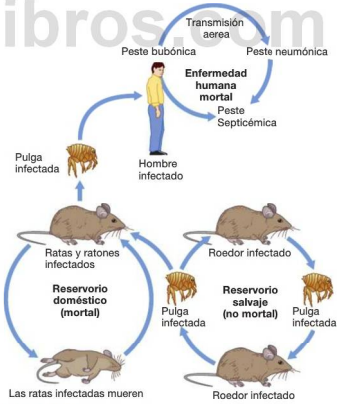


Figura 35.17 **Epidemiología de la peste de *Yersinia pestis*.** En la mayoría de los roedores salvajes la peste es una infección leve y limitada. En las ratas y en el hombre, es con frecuencia una enfermedad mortal. Las pulgas infectadas abandonan los hospedadores muertos y buscan otros, como el hombre, que es un hospedador accidental.

malmente síntomas hasta el último o los dos últimos días de la enfermedad, cuando se producen esputos con grandes cantidades de sangre. Los enfermos no tratados raramente sobreviven más de dos días. La peste neumónica es muy contagiosa y puede pasar rápidamente de una persona a otra por vía respiratoria si la persona infectada no es inmediatamente aislada en cuarentena. La *peste septicémica* es la rápida difusión de *Y. pestis* por todo el cuerpo a través del sistema circulatorio sin la formación de bubones y, con frecuencia, causa la muerte antes de que se pueda realizar un diagnóstico.

Tratamiento y control

La peste bubónica se puede tratar con éxito si se diagnostica con rapidez. La infección por *Y. pestis* se trata con estreptomicina o gentamicina de modo parenteral. De modo alternativo, se puede suministrar intravenosamente deoxiciclina, ciprofloxacino o cloranfenicol. Si el tratamiento se inicia pronto, la mortalidad de la peste bubónica puede reducirse al 1-5% en los infectados. La peste neumónica y la septicémica también se pueden tratar, pero estas formas evolucionan con un curso tan rápido que la terapia antibiótica, incluso comenzada al principio de los síntomas, suele ser demasiado tardía: hasta el 90% de los enfermos con peste neumónica sin tratar mueren. Desde el año 2000 sólo ha habido 22 casos de peste en Estados Unidos con una mortalidad del 10%. En todo el mundo no se suelen sobrepasar los 1.500 casos y unas 300 muertes cada año. *Y. pestis* es un organismo que podría emplearse como arma de bioterrorismo (*véase* Sección 23.11) y en tal escenario se recomiendan deoxiclina y ciprofloxacina como antibióticos orales profilácticos.

El control de la peste se realiza por seguimiento y control de los reservorios animales (ratas), de los vectores (pulga de la rata) y de los contactos humanos. Las poblaciones de animales infectados con peste deben de destruirse una vez identificadas ya que las pulgas pueden obtener sangre aún de ratas muertas. Sin duda, la mejora en las prácticas de higiene pública y el control de las poblaciones de roedores ha contribuido a limitar la exposición del hombre a la peste.

35.7 Minirrevisión

La peste está reducida a individuos que están en contacto con poblaciones de roedores y con sus pulgas parásitas, que son los reservorios endémicos de *Yersinia pestis*. Una infección sistémica o neumónica lleva a una muerte rápida, pero la forma bubónica se puede tratar con antibióticos si se diagnostica con prontitud.

- Diferencie entre la peste silvática, la bubónica, la septicémica y la neumónica.
- ¿Cuál es el insecto vector, el reservorio natural y el tratamiento para la peste?

III ENFERMEDADES TRANSMITIDAS A PARTIR DEL SUELO

En el suelo viven varios microorganismos patógenos, Los hongos son microorganismos muy abundantes en el suelo y unos cuantos son patógenos. También se encuentran en el suelo algunas bacterias patógenas importantes. En contraste con muchos patógenos transmitidos de persona a persona o por vectores, los patógenos del suelo son agentes accidentales de infección, sin que su ciclo de vida dependa del hospedador accidental. El suelo es un reservorio ilimitado de estos patógenos y por tanto son de difícil eliminación.

35.8 Enfermedades fúngicas

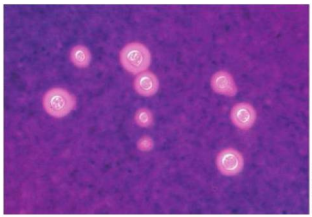
Los hongos crecen de un modo u otro en prácticamente todos los nichos ecológicos, pero en la naturaleza son más frecuentes como formas saprofitas libres. Algunos hongos causan infecciones y enfermedades accidentales, a menudo oportunistas y en ocasiones graves. Los individuos con inmunidad rebajada debido a tratamientos con fármacos o a enfermedades como el SIDA son los más susceptibles a hongos patógenos oportunistas. El aumento en las enfermedades fúngicas se debe principalmente a estos factores.

Los hongos incluyen los organismos eucarióticos llamados levaduras, que crecen normalmente en forma unicelular (**Figura 35.18*a***), y los mohos (formas miceliares) que crecen como filamentos (hifas) con o sin septos (paredes transversales) (Figura 35.18*b*). En las Secciones 18.13-18.19 se expusieron la taxonomía y diversidad biológica de estos organismos. Afortunadamente la mayoría de los hongos son inocuos para el hombre. Sólo unas 50 especies causan enfermedad en el hombre y la incidencia global de infecciones graves en individuos sanos es más bien baja, aunque algunas infecciones fúngicas superficiales son muy corrientes.

Epidemiología

Los hongos producen enfermedades por tres mecanismos principales. En primer lugar, algunos inducen una respuesta inmune que incluye reacciones alérgicas (hipersensibilidad) tras la exposición a antígenos fúngicos específicos. La re-infección con el mismo hongo, creciendo en el hospedador o en el ambiente, puede causar síntomas alérgicos. Por ejemplo, *Aspergillus* spp. (*véase* Figura 18.27), un saprófito muy frecuente en la naturaleza, produce alérgenos potentes que a menudo causan asma y otras reacciones de hipersensibilidad. *Aspergillus* también tiene otros mecanismos para producir enfermedad.

Un segundo mecanismo para producir enfermedad implica la producción y la actividad de *micotoxinas*, un amplio y diverso grupo de exotoxinas fúngicas. Las mi-



(a) (b)

Figura 35.18 Formas típicas de hongos patógenos. *(a)* Forma levaduriforme de *Cryptococcus neoformans* teñida con tinta china para resaltar la cápsula. Las células tienen de 4 a 20 mm de diámetro. *(b) Sporothrix schenckii*, mostrando hifas ramificadas, características de la forma filamentosa de los hongos. Los conidios redondeados tienen 2 μm de diámetro.

cotoxinas mejor conocidas son las *aflatotoxinas* (**Figura 35.19**), producidas por *Aspergillus flavus*, que suele crecer en alimentos almacenados inadecuadamente, como en los cereales. Las aflatoxinas son muy tóxicas y carcinogénicas y con mucha frecuencia inducen tumores en animales, especialmente en pájaros que se alimentan de granos contaminados. El papel directo de las aflatoxinas en las enfermedades humanas no está bien definido.

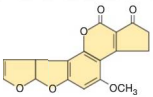


Figura 35.19 Estructura de la aflatoxina B1. Esta toxina ejemplifica un grupo de compuestos relacionados producidos por *Aspergillus flavus.*

Micosis

El tercer mecanismo por el que los hongos producen enfermedades es a través de infecciones llamadas **micosis**. El crecimiento de un hongo sobre el cuerpo o dentro de él constituye una micosis. Las micosis son infecciones fúngicas que varían en importancia desde lesiones superficiales relativamente inocuas a enfermedades graves que amenazan la vida del hospedador. Hay tres categorías de micosis. En las *micosis superficiales* los hongos colonizan el pelo, la piel o las uñas, infectando sólo las capas superficiales (**Figura 35.20***a*). La **Tabla 35.2** recoge algunos hongos que causan micosis superficiales. En general, estas enfermedades son benignas y autolimitadas. Algunas de estas infecciones son muy comunes, como las de *Trichophyton* en los pies (pie de atleta). La adquisición es por contacto con personas infectadas, con superficies infectadas (como baños, duchas o suelos) o por contacto con artículos compartidos (como toallas o

(a) (b)

Figura 35.20 Infecciones fúngicas. *(a)* Micosis superficial del pie (pie de atleta) debido a infección por *Trichophyton rubrum*. *(b)* Esporotricosis, infección subcutánea debida a *Sporothrix schenckii.*

www.medilib.ir

Tabla 35.2 Algunos hongos patógenos y enfermedades producidas

Enfermedad	*Agente causal*	*Lugar*
Micosis superficiales (dermatomicosis)		
Tiña	*Microsporum*	Cuero cabelludo de niños
Favus	*Trichophyton*	Cuero cabelludo
Pie de atleta	*Epidermophyton, Trichophyton*	Dedos del pie, piel
Prurito de atleta	*Trichophyton, Epidermophyton*	Región genital
Micosis subcutáneas		
Esporotricosis	*Sporothrix schenckii*	Brazos, manos
Cromoblastomicosis	*Varios géneros*	Piernas, pies
Micosis sistémicas		
Aspergilosis	*Aspergillus* spp.[a]	Pulmones
Blastomicosis	*Blastomyces dermatitidis*	Pulmones, pies
Candidiasis	*Candida albicans*[b]	Cavidad oral, intestino
Cocidioidomicosis	*Coccidioides immitis*[b]	Pulmones
Criptococosis	*Cryptococcus neoformans*[b]	Pulmones, meninges
Histoplasmosis	*Histoplasma capsulatum*[b]	Pulmones
Neumonía	*Pneumocystis carinii*[b]	Pulmones

[a] Aspergillus también puede ocasionar alergias, toxemias e infecciones limitadas.
[b] Patógeno oportunista frecuentemente implicado en la patogénesis del SIDA.

ropa de cama). El tratamiento de los casos graves se realiza mediante aplicación tópica de nitrato de miconazol o griseofulvina. La griseofulvina también se puede administrar oralmente; después de entrar en el sistema circulatorio, pasa a la piel donde puede inhibir el crecimiento del hongo.

Una segunda categoría de las infecciones fúngicas son las *micosis subcutáneas*, que afectan a capas más profundas de la piel (Figura 35.20*b*) y que implica la acción de un grupo diferente de organismos (Tabla 35.2). Una enfermedad de esta categoría es la esporotricosis, un riesgo ocupacional de agricultores, mineros y trabajadores que están en contacto con el suelo. El agente productor, *Sporothrix schenckii*, es un saprófito muy ubicuo en el suelo. Las lesiones se suelen iniciar por infección de una pequeña herida o abrasión, y *S. schenckii* puede aislarse fácilmente de la lesión y cultivarse *in vitro*. El tratamiento es oral con yoduro potásico o ketoconazol.

Las *micosis sistémicas* constituyen la tercera categoría, y son las más graves de las infecciones fúngicas. Se trata del crecimiento del hongo en órganos internos del cuerpo, y se subclasifican en infecciones primarias y secundarias. Una *infección primaria* es la resultante de la acción directa de un patógeno fúngico en un individuo que, de otro modo, sería normal y sano. Una *infección secundaria* es la que ocurre en un hospedador que tiene una condición de predisposición, como por ejemplo terapia con antibióticos o inmunosupresión.

En Estados Unidos, las infecciones fúngicas primarias más extendidas son la histoplasmosis, causada por *Histoplasma capsulatum*, y la cocidioidomicosis (fiebre del valle de San Joaquin), causada por *Coccidioides immitis*. Ambos organismos viven normalmente en el suelo y causan enfermedades respiratorias. El hospedador se infecta al inhalar las esporas, que germinan y crecen en los pulmones. La histoplasmosis es fundamentalmente una enfermedad rural del medio oeste en Estados Unidos, sobre todo en los valles de Ohio y del río Mississippi. La mayoría de los casos son leves y a menudo se confunden con infecciones respiratorias más comunes. La fiebre del valle de San Joaquin está restringida a regiones desérticas del sudoeste de Estados Unidos. El hongo vive en suelos desérticos y las esporas son diseminadas por partículas secas que lleva el viento y que resultan inhaladas. En algunas áreas de dicha zona, hasta el 80% de los habitantes pueden estar infectados, aunque la mayoría no sufre efectos aparentes de enfermedad.

Varias infecciones fúngicas sistémicas, como la histoplasmosis y la cocidioidomicosis, son particularmente graves y frecuentes en personas cuyo sistema inmune es defectuoso, por ejemplo, en casos de SIDA o ante tratamientos con fármacos inmunosupresores. Estos hongos son patógenos oportunistas; causan infecciones graves sólo en individuos que tienen dañados los mecanismos de defensa. Son enfermedades fúngicas secundarias porque los individuos normales no adquieren la enfermedad o la tiene con una forma mucho menos severa. En la Tabla 35.2 se presentan ejemplos de otros hongos patógenos oportunistas.

Tratamiento y control

Una quimioterapia eficaz contra los hongos resulta difícil porque la mayoría de los antibióticos que inhiben a los hongos (que son eucariotas) también afectan a sus hospe-

dadores (*véase* Sección 27.11). Por ejemplo, uno de los antifúngicos más eficaces y ampliamente usados para tratar infecciones sistémicas, la anfotericina B, puede causar efectos laterales graves por su toxicidad renal.

El control de las infecciones por eliminación de los patógenos del medio no resulta práctico. El control del crecimiento de los hongos es muy difícil porque el reservorio es ilimitado. La exposición a los hongos no se puede evitar, pero se pueden reducir riesgos por descontaminación y por filtración del aire en ambientes locales restringidos.

35.8 Minirrevisión

Algunos hongos del suelo producen enfermedades en el hombre. Las micosis superficiales, subcutáneas y sistémicas son difíciles de controlar debido a la falta de fármacos antifúngicos específicos y a la naturaleza ubicua de estos patógenos. Las infecciones por hongos pueden causar enfermedades sistémicas graves, frecuentemente en individuos con la inmunidad dañada, como en enfermos de SIDA.

- Describas las micosis superficiales, subcutáneas y sistémicas.
- Diferencie entre una enfermedad fúngica primaria y secundaria.

www.medil

35.9 Tétanos

El **tétanos** es una enfermedad grave y a veces mortal. Aunque puede evitarse por inmunización, unas 500 personas adquirieron tétanos en Estados Unidos en la última década y 75 de ellos murieron. En todo el mundo, pese a ser una enfermedad infecciosa evitable, el tétanos causa más de 200.000 muertes al año.

Biología y epidemiología

El tétanos se debe a una exotoxina producida por *Clostridium tetani*, un bacilo formador de endosporas y anaerobio estricto (*véase* Sección 16.2). El reservorio natural de *C. tetani* es el suelo, donde reside en abundancia, aunque a veces se encuentre en el intestino de mamíferos, como ocurre con otras especies de *Clostridium*.

Normalmente, las células de *C. tetani* entran en el cuerpo por medio de una herida profunda contaminada con suelo. Las condiciones anóxicas en la herida favorecen la germinación de las endosporas, el crecimiento del organismo y la producción de una potente toxina, la *toxina tetánica*. El organismo no es invasivo y su modo de causar enfermedad en las células del hospedador es a través de la toxina. El tiempo de incubación es variable y puede durar de 4 días a varias semanas, dependiendo del número de endosporas inoculadas en la herida. El tétanos no se transmite de persona a persona.

Patogénesis

Ya hemos examinado la actividad de la toxina tetánica a nivel celular y molecular (*véase* Sección 28.10). La toxina afecta directamente a la liberación de moléculas de señalización que son inhibidoras del sistema nervioso. Estas señales inhibidoras controlan la fase de relajación de la contracción muscular. El resultado final es una parálisis rígida de los músculos voluntarios, que se observa inicialmente en los músculos de las mandíbulas y la cara (**Figura 35.21**). La muerte suele deberse a fallo respiratorio, y la mortalidad es relativamente alta (15% en Estados Unidos en la última década).

Diagnóstico, control, prevención y tratamiento

El diagnóstico del tétanos se basa en la exposición, en los síntomas clínicos y, raramente, en la identificación de la toxina en sangre o tejidos del paciente. También puede cultivarse el organismos de la herida, pero el éxito es muy variable.

El reservorio natural de *C. tetani* es el suelo. Como es un patógeno accidental del hombre, y no depende del hombre ni de otros animales para su propagación, no es posible su erradicación. Por tanto, las medidas de control deben basarse en la prevención.

El tétanos es una enfermedad que se puede evitar. La vacuna existente con toxoide es completamente eficaz, y todos los casos de tétanos ocurren en individuos que no fueron inmunizados de modo adecuado. El grupo de edad de los 25-59 años es el más propicio a contraer tétanos, probablemente porque los programas de inmunización se centran en niños, escolares y mayores de 60 años.

Un tratamiento apropiado de los cortes graves, ulceraciones y pinchazos, debe incluir la administración de toxoide del tétanos para inmunización. Si la herida es grave y está contaminada con suelo, el tratamiento debe incluir también la administración de una antitoxina, especialmente si no se conoce el estado de vacunación del paciente o su período de inmunización está fuera de fe-

Figura 35.21 Soldado muriendo de tétanos. Adviértase la parálisis rígida. Esta pintura de Charles Bell está en el Royal College of Surgeons en Edimburgo, Escocia.

cha. La antitoxina tetánica consiste normalmente en inmunoglobulina antitetánica humana (autorizada en todo el mundo) o en una preparación de anticuerpos antitoxina obtenida de caballo (autorizada para uso en muchos países en vías de desarrollo). Ambas preparaciones funcionan por su unión a la toxina tetánica y su neutralización. La antitoxina se suele suministrar intramuscularmente, pero es mejor una inyección en las membranas que rodean a la médula espinal porque la antitoxina puede alcanzar con mayor eficacia la raíz nerviosa infectada (*véase* Sección 28.10). Estas medidas impiden el desarrollo del tétanos.

El tétanos sintomático agudo se combate con antibióticos, generalmente penicilina, para detener el crecimiento y la producción de exotoxina y con antitoxina para evitar la unión a las células de la toxina liberada. Para controlar los efectos de la parálisis puede requerirse terapia de apoyo, como descanso, relajantes musculares y respiración asistida. El tratamiento no puede revertir los síntomas, porque la toxina que ya está unida no puede ser neutralizada. Incluso con antitoxina, antibióticos y terapia de apoyo, el tétanos presenta una morbilidad y una mortalidad elevadas.

Otros patógenos del suelo formadores de endosporas

Varias especies de *Clostridium* y de *Bacillus*, todas ellas formadoras de endosporas, son patógenas que normalmente se encuentran en el suelo y por tanto su erradicación es imposible. Todas causan enfermedad por la producción de potentes exotoxinas. *C. tetani* se encuentra casi exclusivamente en el suelo pero *C. botulinum*, *C. difficile* y *C. perfringens* se encuentran a veces en el intestino del hombre y de los animales como parte de la flora microbiana normal. *C. perfringens* y *C. botulinum* son patógenos muy importantes, pero a diferencia de *C. tetani* causan enfermedades que se transmiten por los alimentos más bien que por el suelo (*véase* Sección 37.6). *C. difficile* es un comensal del colon humano y ocasionalmente origina diarrea. *Bacillus anthracis* es un patógeno importante en veterinaria y también un arma en la guerra biológica; produce el carbunco y se encuentra normalmente en el suelo (*véase* Sección 33.12).

35.9 Minirrevisión

Clostridium tetani es un microorganismo del suelo muy ubicuo que produce el tétanos, una enfermedad caracterizada por una exotoxina que causa una parálisis rígida. El tétanos presenta una morbilidad y mortalidad elevadas. Esta enfermedad puede evitarse con una inmunización adecuada. El tratamiento del tétanos agudo incluye antibióticos, inmunización activa y pasiva, y terapia de apoyo.

- Describa la infección por *C. tetani* y la formación de la toxina tetánica.
- Comente los pasos necesarios para evitar el tétanos en un individuo que ha sufrido una herida profunda.

libros.com

Glosario de términos

Anemia falciforme: carácter genético que proporciona resistencia a la malaria pero que causa una reducción en la eficacia de los glóbulos rojos al reducir la afinidad de la hemoglobina para unir oxígeno.

Enfermedad de Lyme: enfermedad transmitida por garrapatas y causada por la espiroqueta *Borrelia burgdorferi*.

Enzoótica: enfermedad endémica que está presente en una población animal.

Epizoótica: enfermedad epidémica que está presente en una población animal.

Fiebre del Nilo occidental: enfermedad neurológica causada por el virus del Nilo occidental, que se transmite por medio de mosquitos desde las aves al hombre.

Fiebre hemorrágica con síndrome renal (HFRS): enfermedad vírica aguda caracterizada por shock y fallo renal, que se transmite por hantavirus a partir de roedores.

Fiebre moteada de las Montañas Rocosas: enfermedad transmitida por garrapatas, causada por *Rickettsia rickettsii*, que se caracteriza por fiebre, dolor de cabeza, erupción y síntomas gastrointestinales.

Malaria: enfermedad transmitida por insectos, con episodios recurrentes de fiebre y anemia, causada por el protozoo *Plasmodium* spp. que se transmite normalmente entre mamíferos por el mosquito *Anopheles*.

Micosis: infección causada por un hongo.

Peste: enfermedad endémica en roedores debida a *Yersinia pestis* que puede transferirse al hombre por la picadura de una pulga.

Rabia: enfermedad neurológica normalmente letal causada por el virus de la rabia y transmitida por la saliva o la mordedura de un animal rabioso.

Rickettsias: bacterias intracelulares obligadas del género *Rickettsia*, responsables de enfermedades como el tifus, la fiebre de las Montañas Rocosas y la erliquiosis.

Síndrome pulmonar por hantavirus (HPS): enfermedad vírica aguda caracterizada por neumonía respiratoria, transmitida por hantavirus de roedores.

Talasemia: carácter genético que proporciona resistencia a la malaria pero

que causa una reducción en la eficacia de los glóbulos rojos alterando una enzima del eritrocito.

Tétanos: enfermedad que produce una parálisis rígida de la musculatura voluntaria causada por una exotoxina producida por *Clostridium tetani*.

Tifus: enfermedad transmitida por un piojo y causada por *Rickettsia prowazekii*, caracterizada por fiebre, dolor de cabeza, debilidad, erupción y daño al sistema nervioso central y órganos internos.

Zoonosis: enfermedad animal que se puede transmitir al hombre.

Preguntas de repaso

1. Señales los animales que transmiten con más frecuencia la rabia en Estados Unidos. ¿Qué programas de inmunización están en marcha para el tratamiento de la rabia? ¿Qué programas de inmunización están en marcha para su prevención (Sección 35.1)?
2. Describa las condiciones que pueden determinar la aparición del síndrome pulmonar por hantavirus (HPS). ¿Cómo se puede evitar (Sección 35.2)?
3. Identifique las tres principales categorías de organismos que causan las enfermedades por riquetsias. Identifique el reservorio y el vector más común en el caso del tifus, de la fiebre de las Montañas Rocosas y de la erliquiosis (Sección 35.3).
4. ¿Cuál es el reservorio y el vector más frecuente para la enfermedad de Lyme en Estados Unidos? ¿Cómo puede controlarse esta enfermedad? ¿Cómo puede tratarse (Sección 35.4)?
5. Los síntomas de la malaria incluyen fiebre seguida de escalofríos que se deben a la actividad del patógeno. Describa las fases de crecimiento de *Plasmodium* spp. en el hombre como hospedador y relaciónelas con el síntoma fiebre-escalofríos. ¿Por qué un europeo occidental puede ser más susceptible a la malaria que una persona de origen mediterráneo o africano (Sección 35.5)?
6. Explique el ciclo vital y el papel del mosquito en la difusión del virus del Nilo occidental. ¿Qué animales son los hospedadores primarios? ¿Es el hombre un hospedador productivo alternativo? Razone la respuesta (Sección 35.6).
7. En el caso de una enfermedad potencialmente grave como la peste bubónica ¿por qué no se vacuna de un modo generalizado a toda la población? Identifique medidas sanitarias para controlar la enfermedad (Sección 35.7).
8. Señale la fuente natural de la mayoría de los patógenos fúngicos.¿Cómo puede controlarse la exposición a los hongos?. En términos terapéuticos, ¿qué problemas plantean los hongos para el clínico (Sección 35.8)?
9. Describa la capacidad de invasión y la toxicidad de *Clostridium tetani*. Explique los principales mecanismos de patogénesis del tétanos y señale medidas de prevención y tratamiento (Sección 35.9).

www.medilibros.com

Ejercicios prácticos

1. Describa cómo procedería si un niño recibiera una mordedura de un perro del que no se sabe si está vacunado contra la rabia. Considere el supuesto de que se ha podido detener al perro y el supuesto de que no ha sido posible su captura. ¿En qué se diferenciarían estas situaciones de otra en la que el niño fuera mordido por un perro con inmunización contra la rabia documentada y actualizada?
2. Existen historias orales de nativos americanos que indican la presencia del síndrome pulmonar por hantavirus antes del «descubrimiento» y definición del HPS en 1993. Explique este hecho en términos de enfermedades zoonóticas emergentes y del uso de la tierra por el hombre.
3. Señale al menos tres propiedades comunes de los agentes que producen la fiebre de las Montañas Rocosas, el tifus y la erliquiosis, y describa los procesos de estas enfermedades. ¿Por qué la erliquiosis representa una importante enfermedad riquetsial emergente? Compare su aparición con la de la enfermedad de Lyme.
4. La erradicación de la malaria ha sido un objetivo de los programas sanitarios de los últimos 100 años. ¿Qué factores impiden la erradicación de la malaria?. Si se desarrollara una vacuna eficaz ¿podría erradicarse la malaria?. Compare esta posibilidad con la posibilidad de erradicar la peste.
5. Diseñe un plan para evitar en su comunidad la transmisión al hombre del virus del Nilo occidental. Identifique los costes del plan a nivel individual y comunitario. Considere la posible existencia de un programa activo anti-mosquito en su comunidad. En su caso, ¿qué metodos se usan en su área para reducir la población de mosquitos?

36

Tratamiento de aguas residuales, potabilización de aguas y enfermedades microbianas transmitidas por el agua

I MICROBIOLOGÍA DE LAS AGUAS RESIDUALES Y POTABILIZACIÓN DEL AGUA 1143

36.1 Salud pública y calidad del agua 1143

36.2 Tratamiento de aguas residuales y contaminadas 1145

36.3 Potabilización de agua para consumo humano 1149

II ENFERMEDADES MICROBIANAS TRANSMITIDAS POR EL AGUA 1151

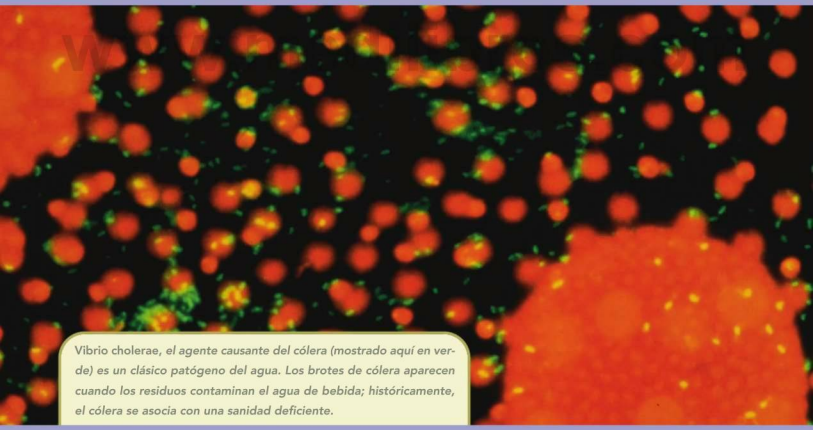
36.4 Fuentes de infección por el agua 1151

36.5 Cólera 1152

36.6 Giardiasis y criptosporidiosis 1154

36.7 Legionelosis (enfermedad de los legionarios) 1156

36.8 Fiebres tifoideas y otras enfermedades transmitidas por el agua 1157



Vibrio cholerae, *el agente causante del cólera (mostrado aquí en verde) es un clásico patógeno del agua. Los brotes de cólera aparecen cuando los residuos contaminan el agua de bebida; históricamente, el cólera se asocia con una sanidad deficiente.*

El agua libre de contaminantes biológicos y químicos es esencial para la salud pública y, por tanto, resultan necesarios procedimientos para controlar y comprobar la calidad del agua. El tratamiento del agua, que incluye la desinfección de la destinada a la bebida y la remediación de las aguas residuales, permite disponer de agua de alta calidad. Sin embargo, la calidad del agua está a veces en peligro incluso en los sistemas públicos de aguas residuales y de agua potable a gran escala. Los fallos en la calidad del agua pueden provocar la difusión de importantes enfermedades infecciosas que pueden amenazar nuestras vidas. En este capítulo examinamos métodos estandarizados para el control, tratamiento y remediación del agua así como algunas enfermedades frecuentes que son transmitidas por el agua.

I MICROBIOLOGÍA DE LAS AGUAS RESIDUALES Y POTABILIZACIÓN DEL AGUA

El agua es con frecuencia una fuente potencial de enfermedades infecciosas y también de intoxicaciones químicas. Esto se debe a que a menudo una única fuente de agua sirve para un gran número de personas, como ocurre por ejemplo en las grandes ciudades. En tales circunstancias cada uno tiene que usar el agua disponible y, si está contaminada, el agua tiene entonces la capacidad de difundir enfermedades a todos los individuos expuestos. La pureza del agua es, por consiguiente, el factor individual más importante para asegurar la salud pública. Los métodos que normalmente se emplean para determinar la calidad del agua dependen de técnicas microbiológicas y químicas estandarizadas. Además de procedimientos físicos y químicos de purificación, el tratamiento del agua y las estrategias de purificación hacen uso de microorganismos para identificar, extraer y degradar las sustancias contaminantes.

36.1 Salud pública y calidad del agua

Incluso cuando el agua parece totalmente limpia y transparente puede estar contaminada con microorganismos patógenos y constituir un serio problema para la salud. No resulta práctico analizar el agua para cada organismo patógeno que pueda estar presente en un determinado abastecimiento de agua, y la presencia de unos cuantos microorganismos no patógenos es, en general, tolerable e incluso inevitable. Sin embargo, los suministros de agua deben ser analizados en cuanto a la presencia de *microorganismos indicadores* específicos, cuya existencia señala una posible contaminación con patógenos.

Coliformes y calidad del agua

Un indicador muy empleado para la contaminación microbiana del agua es el grupo de los microorganismos **coliformes**. Los coliformes son indicadores útiles de contaminación microbiana porque muchos de ellos habitan en grandes cantidades el tracto intestinal del hombre y de otros animales. Por tanto, su presencia en el agua indica contaminación fecal. Los coliformes son bacilos anaerobios facultativos, gramnegativos, no formadores de endosporas, que fermentan la lactosa con producción de gas a las 48 horas en una incubación a 36 °C. Esta definición operativa del grupo coliforme agrupa microorganismos que no están relacionados taxonómicamente. Muchos coliformes, sin embargo, son miembros del grupo de bacterias entéricas (*véase* Sección 15.11). Por ejemplo, el grupo coliforme incluye a *Enterobacter* que es normalmente inocuo, al frecuente organismo intestinal *Escherichia coli* que sólo ocasionalmente es patógeno, y a *Klebsiella pneumoniae*, que es un patógeno menos frecuente que habita el intestino.

En general, la presencia en una muestra de agua de coliformes totales, o especialmente de *E. coli*, indica una contaminación fecal que hace el agua no apta para el consumo humano. Cuando los coliformes se liberan al agua finalmente mueren, pero no tan rápidamente como algunos otros patógenos. El comportamiento de los coliformes y de los patógenos durante la purificación del agua es muy similar.

Pruebas para coliformes y para *Escherichia coli*

Se utilizan varias pruebas para determinar coliformes y *E. coli* en muestras de aguas. Todas se basan en el crecimiento de los organismos presentes en las muestras. Los métodos más comunes de recuento son el procedimiento del *número más probable (MPN,* del inglés *most probable number)* y el de la *filtración por membrana (MF,* del inglés *membrane filter)*. El procedimiento del MPN usa medio de cultivo líquido en tubos a los que se añaden muestras de agua. El crecimiento en los tubos de cultivo indica que el agua está contaminada. En el procedimiento de la MF, se pasan al menos 100 ml del agua analizada a través de un filtro de membrana estéril, que atrapa las bacterias sobre la superficie de la membrana. El filtro se coloca luego sobre una placa con medio de cultivo con eosina-azul de metileno (EMB), que es un medio selectivo para organismos coliformes (**Figura 36.1**; *véase* Figura 32.4). Después de incubar, se cuentan las colonias y a partir de este valor se calcula el número de coliformes presentes en la muestra de agua original.

Los métodos actuales con medios selectivos pueden detectar no sólo los coliformes totales, sino a la vez identificar específicamente a *E. coli*. Hay pruebas diseñadas con sustratos específicos que son en general más rápidas y exactas que las pruebas clásicas con agar EMB. Estas pruebas se basan en la capacidad de los coliformes y de *E. coli* para metabolizar determinadas sustancias. Por ejemplo, todos los coliformes, incluyendo a *E. coli*, metaboli-

www.libros.com

Figura 36.1 Colonias de coliformes creciendo en una membrana filtrante. Una muestra de agua se pasó a través del filtro, y éste se colocó a continuación en un medio con eosina-azul de metileno (EMB) que es selectivo y diferencial para bacterias fermentadoras de lactosa (coliformes). La coloración oscura y brillante de las colonias es característica de los coliformes. Cada colonia se desarrolla a partir de una célula de coliforme viable presente en la muestra original.

zan el 4-metilumbeliferil-β-D-galactopiranósido (MUGal) mediante la enzima β-galactosidasa. Si en una muestra hay coliformes el MUGal se metaboliza originando un producto fluorescente que es visible con luz ultravioleta (UV) (**Figura 36.2**). Para distinguir entre coliformes totales y *E. coli*, se emplea a la vez otra reacción enzimática con un sustrato específico. Las cepas de *E. coli*, pero no otros coliformes, producen la enzima β-glucuronidasa que metaboliza el indoxil-β-D-glucurónido (IBDG) produciendo un compuesto azul. El compuesto azulado sólo colorea las colonias de *E. coli*, de modo que éstas son fluorescentes y además de color azul oscuro, lo que las diferencia de las colonias de otros coliformes (Figura 36.2). Esta prueba emplea un método de filtración por membrana y un medio llamado *medio MI*, que contiene tanto MUGal como IBDG. El filtro se deposita sobre el medio sólido MI, se incuba y se observa a las 24 horas la aparición de colonias azules (*E.coli*) y fluorescentes (coliformes totales).

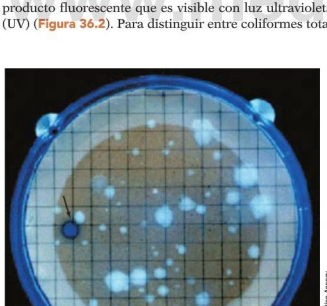


Figura 36.2 Coliformes totales y *Escherichia coli*. El filtro con la retención resultante de una muestra de agua se incubó durante 24 horas a 35 °C en medio MI y se examinó con luz UV. La única colonia de *E. coli* aparece de color azul oscuro (flecha). Las otras colonias son coliformes que fluorescen con color blanco-azulado.

En sistemas de abastecimiento de agua potable adecuadamente controlados, las pruebas deben resultar negativas para coliformes y para *E.coli*. Un resultado positivo indica una rotura en el sistema de purificación o de distribución. En Estados Unidos los estándares para el agua potable se especifican en Ley de Calidad del Agua Potable, que proporciona unas normas para el desarrollo de estándares de agua potable. En el caso de la técnica MF se filtran 100 ml de muestra. Para que un agua potable se considere segura, el número de bacterias coliformes en la muestra no debe superar ninguno de los siguientes niveles: (1) 1 por 100 ml como media aritmética de todas las muestras tomadas en un mes; (2) 4 por 100 ml en más de una muestra cuando se examinan menos de 20 muestras al mes; o (3) 4 por 100 ml en más del 5% de las muestras cuando se examinan 20 o más muestras por mes. En Estados Unidos, las empresas de servicio público de distribución de agua informan a la Agencia de Protección Ambiental sobre los resultados de coliformes y, si no cumplen los estándares establecidos, los servicios deben notificarlo públicamente al usuario y tomar las medidas oportunas para corregir el problema. Algunas comunidades pequeñas, e incluso grandes ciudades, no cumplen en ocasiones con dichos estándares.

Salud pública y potabilización del agua

En la actualidad, la incidencia de enfermedades transmitidas por el agua en los países desarrollados es tan baja que resulta difícil medir la eficacia de las prácticas de tratamiento. La mayoría de las enfermedades intestinales en los países desarrollados no se transmiten por agua sino por los alimentos, que es otra fuente común de infección. Sin embargo, las prácticas efectivas de tratamiento del agua no se establecieron hasta el siglo XX.

Los métodos de cultivo para el recuento de coliformes se desarrollaron hacia el año 1905. En aquel tiempo, la purificación del agua se limitaba a realizar una filtración para reducir la turbidez. Aunque la filtración disminuía notablemente la carga microbiana del agua, muchos microorganismos pasaban los filtros. Hacia 1910, se empleó el **cloro** como desinfectante en grandes instalaciones de suministros de aguas. El gas cloro era un desinfectante general eficaz y barato para el agua potable, y su uso redujo la incidencia de enfermedades transmitidas por el

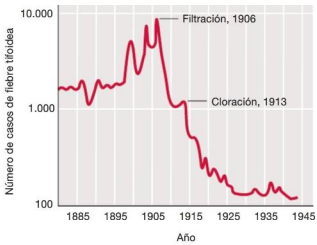


Figura 36.3 Efecto de la purificación del agua sobre la incidencia de enfermedades transmitidas por el agua. El gráfico muestra la frecuencia de fiebre tifoidea en Philadelphia (Pennsylvania, EE.UU.). Adviértase la reducción tan notable en la frecuencia de fiebre tifoidea tras la introducción de la filtración y de la cloración.

agua. La **Figura 36.3** ilustra el notable descenso en la incidencia de la fiebre tifoidea (causada por *Salmonella typhi*) en una importante ciudad americana después de la introducción de procedimientos de purificación con filtración y cloración. En otras ciudades se obtuvieron resultados similares.

Las mejoras más notables en Estados Unidos en cuanto a sanidad pública comenzaron a principios del siglo XX y se debieron al establecimiento de nuevos procedimientos en el tratamiento del agua a gran escala, tanto de aguas residuales como de agua potable, en instalaciones y plantas explotadas públicamente. La eficacia de la filtración y la cloración se determinó por las pruebas de coliformes. La ingeniería pública y la microbiología fueron los artífices más destacados de los notables avances sanitarios llevados a cabo en los países desarrollados durante el siglo XX.

36.1 Minirrevisión

La calidad del agua potable se determina por recuento de bacterias coliformes usando técnicas estandarizadas. Este método es un indicador fiable de contaminación fecal en el agua. La filtración y la cloración disminuye notablemente el número de microorganismos, La aplicación de controles y métodos de purificación para el agua potable es la medida sanitaria más importante de entre las consideradas hasta la fecha.

- ¿Por qué las colonias bacterianas de una muestra de agua que crecen en medio EMB indican que el agua tiene una contaminación fecal?
- ¿Qué procedimientos generales se emplean para reducir el número de microorganismos en el agua de suministro?

36.2 Tratamiento de aguas residuales y contaminadas

El **agua residual** es el agua de desecho procedente de uso doméstico o industrial que no puede verterse sin tratamiento a ríos o lagos debido a consideraciones sanitarias, económicas, ambientales y estéticas. El tratamiento de aguas residuales se basa en el uso a escala industrial de los microorganismos para realizar una bioconversión. El agua residual entra en una planta de tratamiento y, después del tratamiento, el **agua efluente** —agua residual tratada que se libera de la instalación— es adecuada para vertidos en aguas superficiales como ríos y lagos o para su conducción a instalaciones de purificación de agua potable.

Aguas residuales y aguas negras

Las aguas residuales con deshechos domésticos o industriales no pueden verterse sin tratamiento. Las **aguas negras** son el líquido contaminado con material fecal de origen humano o animal. Las aguas residuales suelen contener compuestos orgánicos e inorgánicos potencialmente dañinos así como microorganismos patógenos. Los tratamientos de estas aguas pueden usar procesos físicos, químicos y biológicos (microbiológicos) para eliminar o neutralizar los contaminantes.

En Estados Unidos, cada persona usa diariamente, como media, de 400-800 litros de agua para lavar, cocinar, beber y para su higiene personal. Las aguas residuales derivadas de estas actividades deben someterse a tratamiento para eliminar los contaminantes antes de su vertido en aguas superficiales, En Estados Unidos funcionan unas 16.000 plantas de tratamiento de propiedad pública (POTW, del inglés *publicly owned tratment works*), la mayoría de ellas pequeñas y que tratan alrededor de 3,8 millones de litros de aguas residuales por día. En conjunto, sin embargo, estas plantas tratan diariamente dentenares de miles de millones de litros de aguas residuales. Normalmente estas plantas se construyen para tratar aguas residuales tanto domésticas como industriales. Las aguas residuales domésticas comprenden las aguas negras, las «aguas grises» (resultantes de lavados, baños y cocina) y las derivadas del procesamiento de alimentos.

Las aguas residuales industriales incluyen los líquidos liberados por la industria petroquímica, en la producción de pesticidas, de alimentos y derivados lácteos, de plásticos, en la industria farmacéutica y en actividades metalúrgicas. Estas aguas pueden contener sustancias tóxicas y la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos puede exigir el pretratamiento de componentes tóxicos o muy contaminados antes de entrar en las POTW. El pretratamiento puede implicar procesos mecánicos en los que se extraen residuos de gran tamaño. Sin embargo, algunas aguas residuales se tratan biológicamente o con métodos químicos para extraer sustancias muy tóxicas, como cianuro, metales pesados como arsénico, plomo y mercurio, o materiales orgánicos como la acrilamida, el

www.medilib.ir

herbicida atrazina, y el benceno. Estas sustancias se convierten a otras menos tóxicas tratándolas con reactivos o con microorganismos capaces de llevar a cabo su neutralización, oxidación, precipitación o volatilización. El agua residual pretratada puede luego liberarse a una POTW.

Tratamiento de aguas residuales y demanda biológica de oxígeno

El objetivo de una instalación de tratamiento de aguas residuales es reducir los materiales orgánicos e inorgánicos del agua a niveles que no puedan sustentar el crecimiento microbiano y eliminar otros materiales potencialmente tóxicos. La eficacia del tratamiento se expresa en forma de reducción de la **demanda biológica de oxígeno (BOD)**, que es la cantidad relativa de oxígeno disuelto consumido por los microorganismos para oxidar por completo toda la materia orgánica e inorgánica en una muestra de agua (*véase* Sección 23.6). Altos niveles de material orgánico e inorgánico en un agua residual determinan una alta BOD.

Los valores típicos para las aguas residuales domésticas, incluyendo las aguas negras, están alrededor de 200 unidades de BOD. Para aguas residuales industriales, como por ejemplo las derivadas de industrias lácteas, los valores pueden ser tan elevados como 1.500 unidades de BOD. Una planta eficaz de tratamiento reduce estos valores a menos de 5 unidades de BOD en el agua con un tratamiento final. Las instalaciones de aguas residuales están diseñadas para el tratamiento tanto de aguas de bajo BOD como de aguas industriales de alto BOD.

El tratamiento es una operación de varios pasos que emplea distintos procesos físicos y biológicos de modo independiente (**Figura 36.4**). Para reducir la contaminación biológica y química de las aguas residuales se emplean *tratamientos primarios*, *secundarios*, y a veces *terciarios*, y cada nivel de tratamiento utiliza tecnologías cada vez más complejas.

Tratamiento primario de las aguas residuales

El **tratamiento primario** utiliza sólo métodos de separación física para separar los materiales sólidos y particulados del agua, tanto orgánicos como inorgánicos. El agua residual que entra en la planta de tratamiento pasa a través de una serie de rejillas y cribas que eliminan los objetos de gran tamaño. El efluente se deja reposar durante horas para permitir la sedimentación de los sólidos en la parte inferior de los depósitos de separación (**Figura 36.5**).

Los servicios que proporcionan solamente tratamiento primario vierten agua muy contaminada con un alto BOD, porque en el agua resultante de este tratamiento primario permanecen niveles elevados de materia orgánica soluble o suspendida junto a otros nutrientes. Estos nutrientes pueden inducir un crecimiento microbiano indeseable (*véase* Figura 23.9), reduciendo aún más la calidad del agua. Por consiguiente, la mayoría de las plantas emplean tratamientos secundarios e incluso terciarios para reducir el contenido orgánico de las aguas antes de su vertido a cauces naturales. Los procesos del tratamiento secundario usan digestión microbiana tanto aeróbica como anaeróbica para reducir aún más el contenido en nutrientes orgánicos del agua residual.

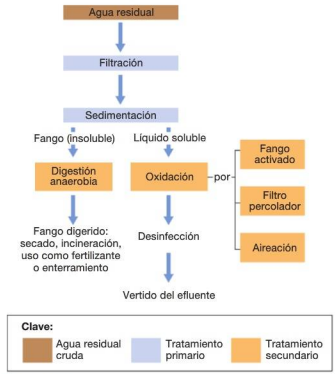


Figura 36.4 Tratamiento de aguas residuales. Las plantas con tratamiento eficaz usan los métodos de tratamiento primario y secundario que se indican. El tratamiento terciario, para lograr en el agua efluente menos de 5 unidades BOD, se lleva a cabo con escasa frecuencia.

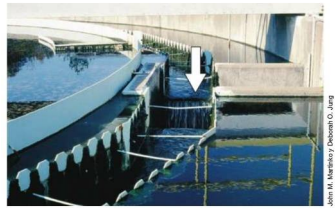


Figura 36.5 Tratamiento primario de aguas residuales. Las aguas residuales se bombean al embalse (izquierda) donde los sólidos se sedimentan. Según sube el nivel del agua, ésta se vierte a través de las compuertas a niveles inferiores. El agua del nivel inferior, libre casi por completo de sólidos, entra en el canal (flecha) y se bombea a una instalación de tratamiento secundario.

Tratamientos secundario anaeróbico

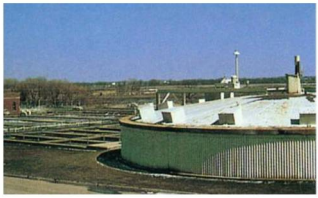
El **tratamiento secundario anaeróbico** de las aguas residuales implica una serie de reacciones digestivas y fermentativas realizadas por varios procariotas en condiciones anaerobias. El tratamiento anaeróbico se emplea típicamente para tratar aguas con grandes cantidades de materia orgánica insoluble (y por tanto con una BOD muy alta), como fibras y residuos de celulosa de la industria alimenticia o láctea. El proceso mismo de degradación anaerobia se lleva a cabo en grandes tanques cerrados llamados *digestores de fangos* o *biorreactores* (**Figura 36.6**). El proceso requiere la actividad conjunta de muchos tipos diferentes de procariotas. Las principales reacciones se resumen en la Figura 36.6*c*.

Primero, los anaerobios usan hidrolasas, proteasas y lipasas para digerir los desechos macromoleculares suspendidos y convertirlos así en componentes solubles. Estos componentes solubles son después fermentados para generar una mezcla de ácidos grasos, H_2 y CO_2; a continuación, los ácidos grasos son fermentados de nuevo por bacterias sintróficas (*véanse* Secciones 21.5 y 24.2) produciendo acetato, CO_2 y H_2. Estos productos son después utilizados por las arqueas metanogénicas (*véase* Sección 17.4) que fermentan acetato con producción de metano y dióxido de carbono, que son los productos mayoritarios del tratamiento anaeróbico de las aguas residuales (Figura 36.6*c*). El metano se quema o se emplea para suministrar calor y energía a la planta de tratamiento de aguas residuales.

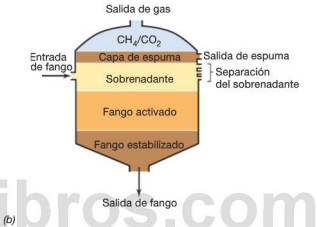
Tratamiento secundario aeróbico

El **tratamiento secundario aeróbico** de las aguas residuales emplea reacciones digestivas realizadas por los microorganismos en condiciones aeróbicas para tratar aguas con bajos niveles de materiales orgánicos. En general, las aguas procedentes de áreas residenciales se pueden tratar eficazmente usando tan sólo tratamiento aeróbico. Para este tratamiento se emplean varios procesos de descomposición aeróbica, pero los más comunes son el método del *filtro percolador o de goteo* y el del *fango activado*. Un filtro de goteo (**Figura 36.7a**) es un lecho de unos 2 m de anchura con piedras aplastadas, en cuya parte superior se añade lentamente el agua residual. El material orgánico se adsorbe sobre las piedras y los microorganismos crecen en la superficie expuesta. En el extenso film microbiano que se desarrolla en las piedras ocurre una mineralización completa de la materia orgánica hasta dióxido de carbono, amoníaco, nitrato, sulfato y fosfato.

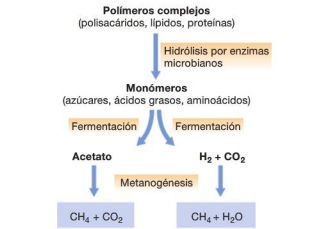
El sistema de tratamiento aeróbico más frecuente es el del fango activado. Aquí, el agua a tratar se mezcla y se airea en grandes tanques (Figura 36.7*b*). Las bacterias formadoras de limo, entre las que se incluye *Zoogloea ramigera*, crecen y forman flóculos (masas de agregados) (**Figura 36.8**). La biología de *Zoogloea* se presenta en la Sección 15.7. Los protozoos, los pequeños animales, las bacterias filamentosas y los hongos se unen a los flóculos.



(a)



(b)



(c)

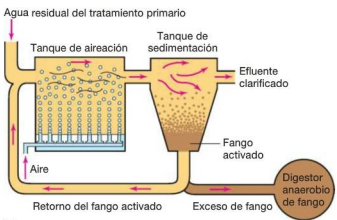
Figura 36.6 **Tratamiento secundario anaerobio.** *(a)* Digestor anaerobio de fangos. Sólo se muestra la parte superior del tanque; el resto está bajo tierra. *(b)* Procesos internos en un digestor de fangos. *(c)* Procesos microbianos más importantes en un digestor anaerobio de fangos. Los productos principales de la biodegradación anaerobia son metano (CH_4) y dióxido de carbono (CO_2).

La oxidación ocurre como en el filtro de goteo. El efluente aireado que contiene los flóculos se bombea después a un tanque de mantenimiento o clarificador donde los agregados sedimentan. Parte de este material (denomi-

www.miculibros.com

(a)

(b)



(c)

Figura 36.7 Tratamiento secundario aerobio. Instalaciones de tratamiento en una ciudad pequeña, Carbondale, Illinois (EE.UU.). *(a)* Filtro percolador. Los brazos distribuidores del agua giran distribuyendo el agua residual lenta y uniformemente sobre el lecho de rocas. Las rocas tienen 10-15 cm de diámetro y el lecho tiene 2 metros de profundidad. *(b–c)* El proceso con el fango activado. *(b)* Tanque de aireación del fango activado en una planta urbana de tratamiento de aguas residuales. La recirculación del fango activado por el tanque de aireación introduce los microorganismos responsables de la digestión aeróbica de los componentes orgánicos de las aguas residuales. El digestor del fango anaerobio se detalla en la Figura 36.6.

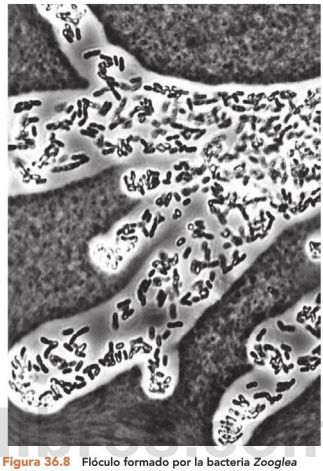


Figura 36.8 Flóculo formado por la bacteria *Zooglea ramigera* en aguas residuales. El flóculo formado en el proceso del fango activado está formado por un gran número de pequeñas células bacilares de *Z. ramigera* rodeadas por una capa mucosa de polisacárido con una disposición típica en forma de proyecciones digitales. Tinción negativa con tinta china.

nado fango activado) se devuelve al aireador como inóculo para una nueva agua residual, y el resto se bombea al digestor de fangos anaeróbico (Figura 36.6) o se extrae, se seca y se quema, o bien se emplea como fertilizante.

Normalmente, el agua residual permanece en un tanque de fango activado durante 5-10 horas, que es un tiempo demasiado corto para la oxidación completa de toda la materia orgánica. Sin embargo, durante este tiempo la mayoría de la materia orgánica soluble se adsorbe a los flóculos y se incorpora en las células microbianas. La BOD del líquido efluente está considerablemente reducida (hasta el 95%) en comparación con el agua entrante original; la mayoría del material con elevada BOD está ahora en los flóculos, que después pueden transferirse a un digestor anaeróbico de fangos para su conversión a CO_2 y CH_4.

Muchas de las plantas de tratamiento someten el efluente a cloración después del tratamiento secundario para reducir aún más la posibilidad de contaminación biológica. El efluente así tratado puede verterse en ríos o

lagos. En el este de Estados Unidos muchas instalaciones de tratamiento de aguas residuales emplean radiación UV para desinfectar el efluente. También, en más de 40 plantas se utiliza el ozono (O_3) para desinfección, por ser un agente oxidante fuerte y un eficaz bactericida y virucida.

Tratamiento terciario

El **tratamiento terciario** de las aguas residuales es cualquier procedimiento físico-químico o biológico que emplee biorreactores, precipitación, filtración o cloración de modo similar a los procedimientos que se utilizan para la purificación del agua potable (Figura 36.5). El tratamiento terciario reduce claramente los niveles de nutrientes inorgánicos, especialmente los fosfatos, nitritos y nitratos, en el efluente final.

Las aguas que reciben un tratamiento terciario no contienen esencialmente nutrientes y por tanto no pueden sustentar un crecimiento microbiano significativo. El tratamiento terciario es el método más completo para el tratamiento de aguas residuales pero no se ha adoptado de modo generalizado debido a los costes asociados a una eliminación de nutrientes tan completa.

36.2 Minirrevisión

El tratamiento de las aguas residuales domésticas e industriales reduce la demanda biológica de oxígeno a niveles aceptables. En el tratamiento primario, secundario y terciario se emplean procesos físicos, biológicos y físico-químicos. Después del tratamiento secundario o terciario, el agua efluente puede ser adecuada para vertidos directos o para su tratamiento posterior en una planta de purificación de agua.

- ¿Qué es la demanda bioquímica de oxigeno (BOD)? ¿Por qué es necesario reducir la BOD en el tratamiento de aguas residuales?
- Identifique los métodos primarios, secundarios (anaeróbico y aeróbico) y terciarios en el tratamiento de aguas residuales.
- Además del agua tratada, ¿cuáles son los productos finales del tratamiento de las aguas residuales?. ¿Cómo podrían utilizarse estos productos finales?

36.3 Potabilización de agua

El agua residual que ha sido sometida a un tratamiento secundario se puede verter normalmente a otros cauces de agua, como ríos. Sin embargo, esa agua no es **potable** (no es segura para consumo humano). La producción de agua potable requiere más tratamientos para eliminar a los patógenos potenciales, evitar el sabor y el olor, reducir las sustancias molestas, como el hierro y el manganeso, y disminuir la **turbidez**, que es una medida de los sólidos suspendidos. Los **sólidos suspendidos** son pequeñas partículas de contaminantes sólidos que resisten la separación por medios físicos ordinarios.

Potabilización física y química

En la **Figura 36.9a** se muestra una instalación típica de tratamientos de aguas potables de una ciudad. La Figura 36*b* indica el proceso que purifica el **agua sin tratar** que pasa a través de la planta purificadora. El agua sin tratar se bombea primero desde la fuente de origen, en este

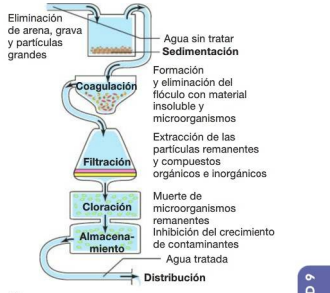


Figura 36.9 Planta de purificación de agua. *(a)* Vista aérea de una planta de tratamiento de agua en Louisville, Kentucky (EE.UU.). Las flechas indican la dirección de la circulación del agua por la planta. *(b)* Esquema de un sistema típico de purificación de agua comunitaria.

caso un río, hasta un estanque de sedimentación al que se añaden **polímeros** aniónicos, alúmina (sulfato de aluminio) y cloro. Se deposita entonces el **sedimento**, que incluye suelo, arena, partículas minerales y otras partículas grandes. El agua libre de sedimento se bombea después a un **clarificador** o **estanque de coagulación**, que es un tanque extenso donde ocurre la **coagulación**. La alúmina y los polímeros aniónicos forman partículas mayores a partir de los sólidos más pequeños en suspensión. Después de mezcladas, las partículas continúan interaccionando formando grandes masas de agregados en un proceso denominado **floculación**. Las grandes partículas agregadas descienden por gravedad, atrapando a los microorganismos y absorbiendo la materia orgánica en suspensión, y finalmente sedimentan.

Después de la coagulación y la sedimentación, el agua clarificada se somete a *filtración* por una serie de filtros diseñados para eliminar solutos orgánicos e inorgánicos, así como partículas suspendidas y microorganismos. Normalmente los filtros consisten en gruesas capas de arena, carbón activado y medios de filtración por intercambio iónico. En combinación con los pasos previos de purificación, el agua filtrada carece de toda materia particulada, de la mayoría de la materia orgánica e inorgánica y de casi todos los microorganismos.

Desinfección

El agua clarificada y filtrada debe ser desinfectada a continuación antes de liberarse para abastecimiento como un **agua terminada**, es decir, que sea pura y potable. La cloración es el método más corriente de desinfección. En dosis suficientes, el cloro mata a la mayoría de los microorganismos en 30 minutos. Sin embargo, unos cuantos protozoos patógenos, como *Cryptosporidium*, son difíciles de eliminar por tratamiento con cloro (Sección 36.6). Además de matar a los microorganismos, el cloro oxida y neutraliza eficazmente muchos compuestos orgánicos, mejorando el olor y el sabor, pues la mayoría de los compuestos que producen olor y sabor son compuestos orgánicos. El cloro se añade al agua en forma de solución concentrada de hipoclorito sódico o cálcico, o bien como gas a partir de tanques presurizados. La forma de gas es la utilizada normalmente en plantas de tratamiento de gran tamaño por su facilidad de ser suministrado con control automático.

El cloro se consume cuando reacciona con materiales orgánicos. Por tanto, el cloro debe añadirse al agua que tenga materia orgánica en cantidad suficiente para que permanezca una pequeña cantidad llamada *cloro residual*. El cloro residual sirve para matar cualquier microorganismo presente. En las plantas operativas se realizan análisis de cloro en el agua tratada para determinar el nivel que debe añadirse. En la mayoría de los casos, un nivel residual de 0,2-0,6 μg de cloro/ml resulta adecuado. Después del tratamiento con cloro, el agua potabilizada se bombea a depósitos de almacenamiento de donde fluye por gravedad o por bombeo a través de un **sistema de distribución** hasta llegar al consumidor. Los niveles de cloro residual aseguran que el agua potable alcanzará al usuario sin contaminación (suponiendo que no haya fallos en el sistema de distribución, como la rotura de alguna tubería). El cloro gaseoso, incluso cuando está disuelto en el agua, es muy volátil y se evapora del agua tratada en cuestión de horas. Para mantener los niveles de cloro residual en el sistema de distribución, muchas plantas municipales de tratamiento introducen también amoníaco gaseoso junto con el cloro para formar un compuesto estable clorado y no volátil, la **cloramina**:

$$HOCl + NH_3 \longrightarrow NH_2Cl + H_2O.$$

También se emplean radiaciones UV como un medio eficaz de desinfección. Como expusimos en la Sección 27.2, la radiación UV se usa para tratar el efluente que se ha sometido a tratamiento secundario. En Europa este tratamiento se aplica frecuentemente para el agua de bebida y su empleo se está considerando en Estados Unidos. Con fines de desinfección, la luz UV se genera en lámparas de vapor de mercurio. Su mayor energía se logra a una longitud de onda de 253,7 nm que es bactericida y virucida. Sin embargo, la aplicación rutinaria de radiación UV no mata quistes y oocistos de algunos protozoos, como *Giardia* y *Cryptosporidium*, que son patógenos eucariotas importantes que pueden encontrarse en el agua (Sección 36.6).

El empleo de la radiación UV tiene varias ventajas respecto a la desinfección por métodos químicos como la cloración. En primer lugar, la irradiación con luz UV es un proceso físico que no introduce compuestos químicos en el agua. En segundo lugar, los cortos tiempos de contacto que se necesitan favorece su empleo en las redes de distribución existentes, manteniendo los costes económicos muy bajos. Finalmente, muchos estudios indican que no se forman productos laterales indeseables. Para sistemas pequeños, en particular cuando el agua potable no se bombea a grandes distancias ni se mantiene por largos períodos (reduciendo así la necesidad de cloro residual), la desinfección por luz UV parece preferible a la cloración.

36.3 Minirrevisión

Las plantas potabilizadoras de agua emplean sistemas físicos y químicos a escala industrial que eliminan o neutralizan los contaminantes orgánicos e inorgánicos de origen natural, comunitario e industrial. Las plantas de purificación de agua emplean procesos de clarificación, filtración y desinfección para producir agua potable. El agua potable final está libre de contaminación química o biológica.

- Describa el tratamiento del agua en una planta potabilizadora de agua desde la entrada hasta el punto final de distribución (un grifo).
- Durante los procesos de tratamiento para obtener agua potable, ¿qué finalidad específica tiene la sedimentación, la coagulación, la filtración y la desinfección?

II ENFERMEDADES MICROBIANAS TRANSMITIDAS POR EL AGUA

Con frecuencia, las enfermedades infecciosas se deben a la contaminación microbiana de materiales compartidos por muchos individuos. La vía más importante de enfermedades infecciosas con un origen común es el agua contaminada. Un fallo en cualquiera de los pasos del proceso de purificación del agua de bebida puede suponer la exposición de miles, o incluso de millones de individuos a un agente infeccioso.

Las enfermedades transmitidas por el agua son una fuente importante de morbilidad y mortalidad, sobre todo en países no desarrollados. Incluso en los países desarrollados, la rotura de las plantas de tratamiento o la imposibilidad de acceder a agua limpia en épocas de emergencia pueden contribuir a la difusión de enfermedades transmitidas por el agua.

Las bacterias, los virus y los protozoos causan enfermedades infecciosas que se transmiten por el agua. Estas enfermedades comienzan con una infección que puede iniciarse incluso por un número muy pequeño de microorganismos. El número exacto de patógenos necesarios para causar enfermedad depende de la virulencia del patógeno y de la capacidad del hospedador para resistir la infección.

36.4 Fuentes de infección por el agua

Algunos patógenos del hombre se pueden transmitir por el uso de aguas que han sido incorrectamente tratadas para su empleo como bebida o para cocinar. Otra fuente común de transmisión de enfermedad es el agua contaminada con patógenos en zonas de baños y piscinas.

Agua potable

Como todo el mundo consume agua para beber y cocinar, el agua sirve como medio de diseminación de patógenos y tienen un elevado potencial para difundir de modo temporal enfermedades epidémicas. Como hemos comentado, el suministro de agua en los países desarrollados cumple normalmente unos rígidos estándares de calidad que limitan la difusión de enfermedades transmisibles por el agua. Ocasionalmente, sin embargo, se producen brotes de enfermedades por fallos en la calidad del agua. También ocurren brotes aislados que afectan a pocas personas cuando se consume agua contaminada de origen no regulado (como por ejemplo pozos privados) o de agua sin tratar de los ríos o lagos. Estas fuentes pueden estar contaminadas por material fecal de origen humano o animal.

Los microorganismos que se transmiten por el agua de bebida crecen generalmente en el intestino y abandonan el cuerpo con las heces; el agua puede estar por lo tanto contaminada por heces y si un nuevo hospedador consume el agua, el patógeno puede colonizar el intestino y ocasionar enfermedad. En Estados Unidos, en el período de 1971 a 2002, ocurrieron 764 casos de brotes de enfermedad asociados con consumo de agua, lo que representa una media de 24 casos por año (**Figura 36.10*a***). Varias bacterias y protozoos patógenos se transmiten a veces por el agua de bebida (**Tabla 36.1**). En la Sección 36.6 exponemos la giardiasis y la criptosporidiosis, y en la Sección 36.7 tratamos sobre *Legionella*. Las infecciones por la cepa O157:H7 de *Escherichia coli* y por virus gastrointestinales se considerarán en el Capítulo 37, donde presentamos estos patógenos como agentes infecciosos transmitidos por alimentos.

Agua de recreo

Las aguas recreativas incluyen áreas de agua dulce como estanques, corrientes y lagos, así como piscinas públicas infantiles y de natación. Estas aguas también pueden ser el origen de enfermedades, e históricamente han causado

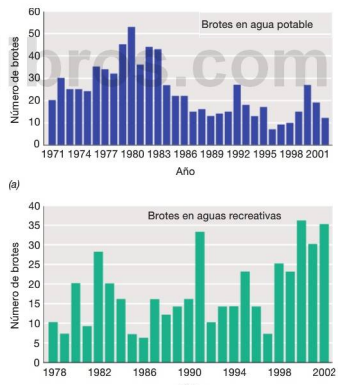


Figura 36.10 Brotes de enfermedades transmitidas por el agua. *(a)* Agua de bebida. Datos de 1971 a 2002 según CDC. De los 764 brotes, un 12% se debió a contaminación química en los sistemas de abastecimiento. El resto se debió a agentes biológicos como bacterias, virus y protozoos. (*b*) Agua de recreo. Datos de 1978 a 2002 según CDC. De los 446 brotes, prácticamente la totalidad se debió a agentes biológicos como bacterias, virus y protozoos.

www.medilibros.com

Tabla 36.1 Brotes de enfermedades infecciosas relacionadas con el agua de bebida en Estados Unidos[a]

Enfermedad	*Agente*	*Brotes*	*Casos*
Meningoencefalitis	*Naegleria fowleri*	1	2
Giardiasis	*Giardia*	3	18
Criptosporidiosis	*Cryptosporidium*	1	10
Legionelosis	*Legionella*	6	80
Enfermedad aguda gastrointestinal	*Escherichia coli* O157:H7	1	2
	Campylobacter jejuni	1	13
	Yersinia enterocolítica y *C. jejuni*	1	12
	Norovirus	5	727
	Desconocido	7	119

*Datos de 2001-2002 suministrados por los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC). Se registraron 26 brotes y 981 casos de enfermedades infecciosas por contaminación de agua potable. En 10 brotes, incluyendo los 6 de Legionella, estuvieron implicados servicios municipales. 7 brotes se debieron a sistemas no comunitarios, como escuelas, iglesias o alojamientos privados. El resto se debió a sistemas de suministro individual como pozos.

Tabla 36.2 Brotes de enfermedades infecciosas relacionadas con el agua de actividades recreativas en Estados Unidos[a]

Enfermedad	*Brotes*	*Casos*
Gastroenteritis[b]	30	1.137
Dermatitis[c]	21	436
Meningoencefalitis[d]	8	8
Otras[e]	2	72

[a] Datos de 2001-2002 suministrados por los Centros de Control y Prevención de Enfermedades (CDC).
[b] La mayoría de los casos se debieron a *Cryptosporidium*, Escherichia coli O157:H7 o a un norovirus.
[c] La mayoría causadas por *Pseudomonaa aeruginosa*.
[d] Causadas por la ameba *Naegleria fowleri*. Todos los casos fueron mortales.
[e] Otras enfermedades incluyeron Fiebre de Pontiac debida a infección por *Legionella* (1 brote, 68 casos) e infecciones agudas respiratorias de causa desconocida (1 brote, 4 casos).

brotes de enfermedad a niveles casi comparables a los causados por el agua de bebida (Figura 36.10*b*).

El funcionamiento de las piscinas públicas infantiles y de natación está regulado por los departamentos estatales y locales de salud. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos establece límites para las bacterias en zonas recreativas de agua dulce (media mensual de todas las muestras < 33/100 ml para enterococos, y < 126/100 ml para *Escherichia coli*) y de agua marina (< 35/100 ml para enterococos). Las autoridades estatales y locales pueden variar los estándares por debajo o por encima de estas pautas, y en muchos casos se emplean máximos por medida o medias de muestras para establecer el estándar y para definir los niveles de contaminación que representan una violación de las normas. Por ejemplo, en el estado de Indiana (EE.UU.) el estándar es una media de 125 *E.coli*/100 ml, con un máximo por medida de 235 *E.coli*. Por tanto, las aguas que superen en un muestreo 225 *E. coli*, incluso si la media no supera l25, suponen una violación de la normativa de Indiana. Las piscinas privadas, balnearios y jacuzzis carecen de regulación y son a veces fuente de brotes de enfermedades transmitidas por el agua.

En un período de 24 años (1978-2002) se registraron 446 brotes de enfermedades transmitidas por aguas de recreo en Estados Unidos, es decir, una media de casi 19 brotes al año (Figura 36.10*b*). La **Tabla 36.2** ordena los brotes producidos durante los últimos años en este tipo de aguas según las enfermedades.

Infecciones transmitidas por agua en países no desarrollados

En el mundo, las infecciones adquiridas a través del agua representan un problema mucho mayor que en Estados Unidos o en los países desarrollados. Con frecuencia, los países no desarrollados tienen instalaciones de tratamiento de aguas residuales que son inadecuadas, y el acceso al agua limpia y potable es limitado. En consecuencia, enfermedades como el cólera (Sección 36.5), la fiebre tifoidea y la amebiasis (Sección 36.8) son problemas sanitarios muy importantes a nivel mundial.

36.4 Minirrevisión

El agua contaminada para bebida y para actividades recreativas puede ser fuente de patógenos. En Estados Unidos, el número de brotes debido a estas fuentes es relativamente pequeño en relación con el gran número de exposiciones al agua. En todo el mundo, la falta de instalaciones adecuadas de tratamiento de aguas y de acceso a agua limpia contribuye notablemente a la difusión de las enfermedades infecciosas.

- Identifique bacterias, protozoos y virus que son normalmente responsables de los brotes de enfermedades debidas a contaminación del agua de bebida.
- Identifique bacterias, protozoos y virus que son normalmente responsables de los brotes de enfermedades debidas a contaminación del agua de recreo.

36.5 Cólera

El cólera es una enfermedad diarreica grave que en la actualidad está fundamentalmente restringida al mundo subdesarrollado. El cólera es un ejemplo de enfermedad importante que puede controlarse aplicando medidas apropiadas de tratamiento del agua.

Biología y epidemiología

El cólera está causado por *Vibrio cholerae*, una proteobacteria curvada gramnegativa (*véase* Sección 15.12), que

se transmite típicamente por la ingestión de agua contaminada. Como ocurre con muchas otras enfermedades transmitidas por el agua, el cólera también se asocia con el consumo de alimentos. Por ejemplo, el consumo en América de marisco crudo o de vegetales sin cocinar se ha relacionado con casos de cólera. Supuestamente, los vegetales lavados con agua contaminada y el marisco cultivado en lechos contaminados por aguas residuales transmitieron la enfermedad.

Desde 1817 se han registrado en el mundo siete importantes pandemias de cólera. Se conocen dos cepas diferentes de *V. cholerae*, el biotipo *clásico* y el biotipo *El Tor*. En 1961 el biotipo O1 El Tor de *V. cholerae* inició la séptima pandemia en Indonesia y su extensión continúa en la actualidad. Esta pandemia ha causado más de 5 millones de casos de cólera y más de 250.000 muertes. Como ocurre con las enfermedades infecciosas, la mayor prevalencia de cólera se presenta en los países subdesarrollados, especialmente en África. En 1992 surgió en Bangladesh una variante genética conocida como *V. cholerae* O139 Bengal que originó una extensa epidemia. Desde entonces *V. cholerae* O139 ha continuado su difusión causando varis epidemias importantes, y tal vez puede ser el agente causal de una octava pandemia.

El cólera es una enfermedad endémica en África, sudeste asiático, India, y América central y del sur. Las epidemias de cólera suelen ocurrir donde el tratamiento de las aguas residuales es inadecuado o está ausente. En 2005 se registraron en todo el mundo más de 132.000 casos y 2.272 muertes, con más de 125.000 de esos casos en África. Según la Organización Mundial de la Salud se registra sólo el 5-10% de los casos totales, de modo que la incidencia del cólera supera probablemente el millón de casos por año. Incluso en los países desarrollados esta enfermedad supone una amenaza. Cada año se describen varios casos en Estados Unidos, que raramente están causados por agua de bebida. Muchos casos recientes (los 5 de 2004, y 8 de los 12 de 2005) fueron casos importados, debidos generalmente a la comida. En los escasos casos posiblemente endémicos, el vehículo más común parece ser el marisco crudo, porque *V. cholerae* aparece como un microorganismo libre en aguas costeras de áreas endémicas formando parte de la microflora marina (**Figura 36.11**).

Patogénesis

Después de la ingestión de un número considerable de células de *V. cholerae*, las células establecen su residencia en el intestino delgado. Los estudios realizados con voluntarios muestran que la acidez del estómago es la causa de que se necesite un inóculo grande para que el cólera se inicie. En general, se requiere la ingestión de 10^8-10^9 vibrios del cólera para que aparezca la enfermedad, pero cuando a los voluntarios se les suministra bicarbonato para neutralizar la acidez gástrica pueden desarrollar cólera con tan solo 10^4 células. Incluso un

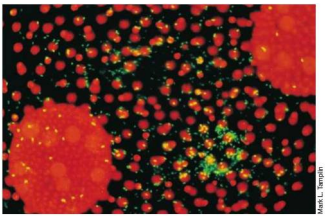


Figura 36.11 Células de *Vibrio cholerae* unidas a la superficie del alga de agua dulce *Volvox*. La muestra se tomó de un área endémica de cólera en Bangladesh. Las células de *V. cholerae* aparecen verdes por un anticuerpo monoclonal contra proteínas superficiales de la bacteria. El color rojo se debe a la fluorescencia de la clorofila a del alga.

número de células menor puede iniciar la infección si *V. cholerae* se ingiere con alimentos, porque éstos protegen a los vibrios de la acidez del estómago.

V. cholerae se une a las células epiteliales del intestino delgado y crece liberando una enterotoxina (*véase* Figura 28.23). La enterotoxina colérica causa una diarrea grave que puede conducir a la deshidratación y la muerte a menos que el paciente reciba líquidos y terapia electrolítica. La enterotoxina origina una pérdida de líquido de hasta 20 litros (20 kilos) por día. La tasa de mortalidad del cólera *no tratado* es del 25-50% y puede ser más elevada en condiciones de hacinamiento y malnutrición.

Diagnóstico y prevención del cólera

El cólera se diagnostica por la presencia de los bacilos gramnegativos de *V. cholerae*, con morfología de coma, en las deposiciones acuosas de los pacientes con diarrea aguda («agua de arroz», heces prácticamente líquidas) (**Figura 36.12**).

Normalmente no se recomienda la inmunización como prevención contra el cólera. La infección natural y las vacunas actuales proporcionan una inmunidad variable y de corta duración. No hay vacunas protectoras contra el serotipo O139 de *Vibrio cholerae*. Las medidas más importantes para evitar el cólera son medidas sanitarias, como un tratamiento adecuado de las aguas residuales, y una fuente segura y limpia de agua de bebida. *V. cholerae* se elimina durante el tratamiento de aguas residuales y durante los procedimientos de purificación del agua potable. Para los individuos que viajan a zonas endémicas de cólera es importante prestar atención a la higiene personal y evitar el contacto con agua o hielo sin tratar, con los alimentos crudos, y con el pescado y el marisco, como protección contra el cólera.

Figura 36.12 Muestra fecal de un enfermo de cólera. La deposición en forma de «agua de arroz» es casi líquida. El material sólido depositado en la capa inferior es mucus. Las heces de un paciente con cólera son prácticamente isotónicas con la sangre y contienen grandes cantidades de iones Na^+, K^+, y HCO_3^- (bicarbonato) junto a muchas células de *V. cholerae*.

Tratamiento del cólera

El tratamiento del cólera es simple, eficaz y barato. El método más efectivo es la administración por vía intravenosa u oral de una terapia de reemplazo de líquidos y electrolitos (20 g de glucosa, 4.2 g de NaCl, 4 g de $NaHCO_3$ y 1.8 g de KCl disueltos en 1 litro de agua). Es preferible el tratamiento oral porque no necesita equipamiento especial ni precauciones estériles. Este reemplazo eficaz de líquidos y electrolitos reduce la mortalidad al 1%. La estreptomicina y la tetraciclina pueden acortar el curso de la infección y la liberación de células viables, pero los antibióticos son poco eficaces sin el suministro simultáneo de líquidos y electrolitos.

36.5 Minirrevisión

Vibrio cholerae causa el cólera, una enfermedad diarreica que origina una deshidratación grave. El cólera produce pandemias. El foco actual de cólera está en África, con más de 1 millón de casos anuales. En áreas endémicas la medida preventiva más eficaz es evitar el agua y los alimentos contaminados. El tratamiento más efectivo es la rehidratación oral con electrolitos, que reduce la mortalidad al 1%.

- Defina los modos más comunes de adquirir cólera.
- Identifique métodos específicos y eficaces para evitar y para tratar el cólera.

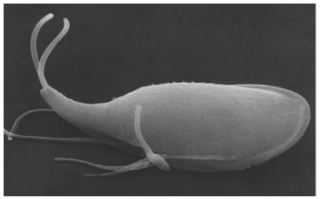
36.6 Giardiasis y criptosporidiosis

La giardiasis y la criptosporidiosis son enfermedades causadas por los protozoos *Giardia intestinalis* y *Cryptosporidium parvum*. Estos organismos continúan siendo problemáticos incluso en suministros de agua bien regulados, porque se encuentran en casi todas las aguas superficiales y son muy resistentes al cloro.

Giardiasis

Giardia intestinalis es un protozoo flagelado (*véase* Sección 18.7) que se transmite normalmente al hombre por agua con contaminación fecal, aunque también se ha documentado su transmisión por alimentos y por vía sexual. La giardiasis es una gastroenteritis aguda causada por este organismo. Las células del protozoo, llamadas *trofozoítos* (**Figura 36.13***a*), producen una fase de reposo llamada **quiste** (Figura 36.13*b*). El quiste tiene una ancha pared protectora que permite al patógeno resistir la deshidratación y los agentes desinfectantes. Después de que una persona ingiera los quistes de un agua contaminada, éstos germinan, se unen a la pared intestinal y causan los síntomas de la giardiasis: una diarrea acuosa y explosiva de olor nauseabundo, dolores intestinales, flatulencia, náuseas, pérdida de peso y malestar general. Los síntomas pueden ser agudos o crónicos. El olor nauseabundo de la diarrea y la ausencia de sangre en las deposiciones distingue la giardiasis de las diarreas bacterianas o víricas. Muchos individuos infectados no muestran síntomas, pero actúan como transportadores, lo que indica que *G. intestinalis* también puede establecer una relación estable y asintomática con el hospedador.

En tan sólo uno de los 26 casos recientes de enfermedades infecciosas en Estados Unidos que fueron adquiridas por el agua de bebida, el agente infeccioso resultó ser *G. intestinalis* (Tabla 36.1). Los quistes de gruesas paredes son resistentes al cloro y a la radiación UV, y la mayoría de los casos descritos se han asociados con sistemas de distribución de agua que usaban sólo cloración en la purificación. El agua sometida a una clarificación y filtración adecuadas y después a cloración u otros desinfectantes (Sección 36.3) está generalmente libre de quistes de *Giardia*. La giardiasis también se puede contraer por beber directamente agua de piscinas o de lagos infectado. Los quistes de *Giardia* se han encontrado en el 97% de las aguas superficiales de Estados Unidos (lagos, estanques y ríos). Algunos casos aislados de giardiasis se han relacionado con agua natural no tratada en áreas sal-



(a) (b)

Figura 36.13 El parásito *Giardia*. Micrografía electrónica de barrido de *(a)* un trofozoito móvil de cerca de 15 μm de longitud y de *(b)* un quiste de unos 11 μm de longitud.

vajes. Los castores y las ratas almizcleras son transportadores frecuentes de *Giardia* y pueden transmitir quistes o células al agua, convirtiéndola en una posible fuente de infección para el hombre. Como medida de precaución, el agua consumida de los ríos y torrentes, durante acampadas o en excursiones, debe ser filtrada y tratada con yodo o con cloro, o bien filtrada y hervida. La ebullición es el mejor método para asegurarse que el agua está libre de patógenos.

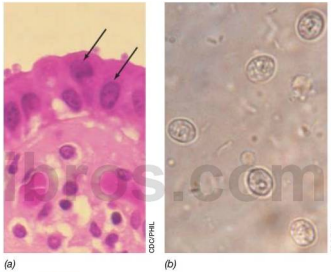
En el laboratorio, los métodos de diagnóstico se basan en la demostración de quistes de *Giardia* en las heces o de antígenos de *Giardia* en las deposiciones mediante un ELISA directo. Los fármacos quinacrina, furazolidona, y metronidazol resultan útiles en el tratamiento de la giardiasis aguda.

www.elibros.com

Criptosporidiosis

El protozoo *Cryptosporidium parvum* vive como un parásito en animales de sangre caliente. Los parásitos son pequeñas células redondeadas de 2-5 μm que invaden las células de la mucosa epitelial del estómago y del intestino y crecen intracelularmente (**Figura 36.14a**). El protozoo produce células infectivas, con anchas paredes y resistentes al cloro, llamadas *oocistos*, que se liberan al agua en grandes cantidades con las heces de animales infectados (Figura 36.14*b*). La infección continúa cuando otros animales consumen el agua con contaminación fecal. Los quistes de *Criptosporidium* son muy resistentes al cloro (14 veces más resistentes que *Giardia*) y a la radiación UV. Por ello debe usarse sedimentación y filtración para eliminar a *Cryptosporidium*. De 2001 a 2003, *Cryptosporidium* fue responsable de 11 de los 30 brotes de enfermedad ocurridos en aguas de recreo.

C. parvum fue la causa del brote de mayores dimensiones registrado para una enfermedad transmitida por el agua y debida a un origen común en Estados Unidos. En la primavera de 1993 en Milwaukee, Wisconsin, más de 403.000 personas de una población de 1,6 millones desarrollaron una enfermedad diarreica que fue debida al suministro de aguas municipales. Las lluvias de primavera y las escorrentías de las granjas periféricas desaguaron en el lago Michigan y sobrecargaron el sistema de purificación de agua provocando la contaminación con *C. parvum*. El protozoo es un parásito intestinal común en el ganado vacuno, que fue probablemente la fuente inicial del brote.



(a) (b)

Figura 36.14 *Cryptosporidium*. *(a)* Las flechas indican dos de los muchos trofozoitos incluidos en el epitelio gastrointestinal de un hombre. Los trofozoitos presentan un diámetro de 2-5 μm. *(b)* En esta muestra fecal, los oocistos con gruesas paredes presentan un diámetro de 3-5 μm.

La criptosporidiosis consiste normalmente en una diarrea suave y limitada que en individuos normales remite a las dos semanas o incluso antes. Sin embargo, en personas con la inmunidad dañada, como en el caso del SIDA, o en niños muy pequeños o en ancianos, puede tener complicaciones graves. En el brote de Milwaukee 4.400 personas necesitaron cuidados hospitalarios y varios murieron por complicaciones de la enfermedad, incluyendo una deshidratación aguda.

La incidente de Milwaukee ilustra la vulnerabilidad de los sistemas de purificación de agua, la necesidad de un

control y seguimiento constante, y las consecuencias de un fallo en una gran instalación de distribución. Además de la cuota de morbilidad y mortalidad, el coste fue de 92 millones de pérdidas en cuidados médicos y pérdidas de productividad.

Los métodos de laboratorio para el diagnóstico de la criptosporidiosis incluyen la observación de los oocistos de *Cryptosporidium* en las heces (Figura 36.14*b*). El tratamiento es innecesario para las personas con una inmunidad normal. Para aquellas con terapia inmunosupresora (por ejemplo, prednisona) se recomienda suprimir los fármacos inmunosupresores. A estos pacientes se les suelen suministrar líquidos y electrolitos como terapia de apoyo.

36.6 Minirrevisión

La giardiasis y la criptosporidiosis están extendidas a consecuencia de la presencia de quistes de *Giardia* y de *Cryptosporidium* en aguas potables y recreativas que están contaminadas por las heces de hombres o de animales infectados. La infección por cada uno de estos protozoos puede originar daños gastrointestinales y provocar enfermedades más graves en individuos inmunocomprometidos.

- Explique la importancia de los quistes en la supervivencia, infectividad y resistencia al cloro de *Giardia* y de *Cryptosporidium* en el agua de bebida.
- ¿Por qué los protozoos se asocian tan a menudo con enfermedades transmitidas por el agua incluso en los países desarrollados? Indique algunas acciones para reducir su impacto.

36.7 Legionelosis (enfermedad de los legionarios)

Legionella pneumophila se identificó como el patógeno causante de un brote de neumonía durante una reunión de la Legión Americana en Philadelphia (EE.UU.) en el verano de 1976. *L. pneumophila* es un bacilo fino gramnegativo y aerobio estricto (**Figura 36.15**) con exigencias nutritivas complejas, como un requerimiento llamativamente alto de hierro. *L. pneumophila* puede detectarse por inmunofluorescencia. El organismo se puede aislar de ambientes terrestres y acuáticos, así como de pacientes con legionelosis.

L. pneumophila está presente a baja concentración en lagos, corrientes y suelos. Es relativamente resistente al calor y a la cloración, de modo que se difunde por los sistemas de distribución de agua. Se encuentra en grandes cantidades en las torres de refrigeración y en los condensadores de evaporación de grandes instalaciones de aire acondicionado. El patógeno crece en el agua y se disemina por aerosoles humidificados. La infección

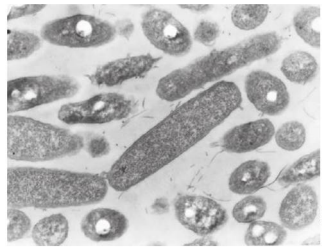


Figura 36.15 ***Legionella pneumophila***. Micrografía electrónica de transmisión de un corte fino de células de *L. pneumophila*. Las células tienen 0,3-0,6 μm de diámetro y hasta 2 μm de longitud. Las áreas claras dentro de las células son polímeros de β-hidroxibutirato, un polímero de reserva hidrocarbonada.

llega al hombre por pequeñas gotas a través del aire, pero no se transmite de persona a persona. La mayoría de los episodios de legionelosis ocurre en los meses de verano, cuando el aire acondicionado se utiliza con más frecuencia.

L. pneumophila también se ha encontrado en tanques de agua caliente y en piscinas recreativas, donde puede alcanzar grandes concentraciones en aguas templadas (36-45 °C) y estancadas. Los estudios epidemiológicos indican que las infecciones por *L. pneumophila* ocurren a lo largo del año como resultado de los aerosoles generados por sistemas de frío y calor en prácticas como la ducha y el baño. En conjunto, la frecuencia de casos de legionelosis descritos en Estados Unidos ha sido de 4-6 casos por millón, pero en los últimos años ha subido a 8 por millón. Esto puede deberse a un aumento de las infecciones o a un aumento en el reconocimiento y la descripción de los casos. Al principio, probablemente hasta el 90% de los casos reales no se diagnosticaban ni se consideraban como tales (**Figura 36.16**). Se puede lograr prevenir la legionelosis mejorando el mantenimiento y diseño de los sistemas de enfriamiento y de calentamiento por agua y de los sistemas de distribución. El patógeno se puede eliminar del agua por hipercloración o calentando a más de 63 °C.

Patogénesis

Dentro del cuerpo *L. pneumophila* invade los macrófagos alveolares y los monocitos creciendo como un parásito intracelular. A menudo las infecciones son asintomáticas o producen una tos suave, dolor de garganta, leve dolor de cabeza y fiebre. Estos casos leves y limitados, llamados *fiebre de Pontiac*, no suelen tratarse y se resuelven en 2-5 días. Sin embargo, los ancianos con defensas reduci-

www.medilibros.com

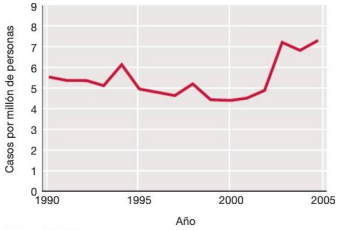


Figura 36.16 **Incidencia de la enfermedad del legionario en Estados Unidos.** En 2005 se describieron 2.301 casos, la cifra mayor en un solo año. Los datos se obtuvieron de los Centros de Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU.

das adquieren con frecuencia infecciones más graves que provocan neumonía. Algunos serotipos de *L. pneumophila* (se conocen más de 10) se relacionan con la forma neumónica de la infección. Antes del inicio de la neumonía, se suelen presentar desarreglos intestinales seguidos de fiebre alta, escalofríos y dolores musculares. Estos síntomas preceden a la tos seca y a dolores en el pecho y región abdominal que son síntomas típicos de legionelosis. En el 10% de los casos ocurre la muerte por fallo respiratorio.

Diagnóstico y tratamiento

La detección clínica de *L. pneumophila* se hace normalmente por cultivo de lavados bronquiales, líquido pleural u otros líquidos corporales. Las pruebas serológicas se emplean como evidencia retrospectiva de infección por *Legionella*. A veces, como ayuda en el diagnóstico, se pueden detectar los antígeno de *L. pneumophila* en la orina del enfermo. *L. pneumophila* se puede tratar con antibióticos como rifampina y eritromicina, y la administración intravenosa de eritromicina es el tratamiento de elección.

36.7 Minirrevisión

Legionella pneumophila es un paciente respiratorio que causa la legionelosis y la fiebre de Pontiac. *L. pneumophila* crece en agua caliente y se transmite por aerosoles. La incidencia de la legionelosis está en aumento y muchas infecciones no se describen como tales.

- Indique el origen de *Legionella pneumophila*.
- Señale métodos específicos para el control de *Legionella pneumophila*.

36.8 Fiebre tifoidea y otras infecciones transmitidas por el agua

Diversas bacterias, virus y protozoos pueden causar enfermedades transmitidas por el agua a partir de un origen común. Estas enfermedades tienen una morbilidad significativa, especialmente en países subdesarrollados.

Fiebre tifoidea

Probablemente, a una escala global, las bacterias patógenas más importantes transmitidas por el agua son *Salmonella typhi*, que produce la fiebre tifoidea, y *Vibrio cholerae*, que ya hemos considerado como causa del cólera (Sección 36.7).

Aunque *S. typhi* también se puede transmitir por alimentos contaminados (*véase* Sección 37.7), y por contacto directo con individuos afectados, el modo de transmisión más común y peligroso en todo el mundo es a través del agua. Afortunadamente, la fiebre tifoidea ha sido prácticamente eliminada de los países desarrollados debido sobre todo a las prácticas eficaces del tratamiento de las aguas. En Estados Unidos se dan menos de 400 casos al año pero, como se describió en la Sección 36.1, la fiebre tifoidea fue una amenaza importante para la salud pública antes de que el agua potable se filtrase y clorase de modo rutinario (Figura 36.2). Sin embargo, un fallo en los métodos de tratamiento, o la contaminación del agua durante inundaciones, terremotos y otros desastres, así como la contaminación de tuberías de aguas potables con otras tuberías del alcantarillado, puede ocasionar epidemias de fiebre tifoidea de gran importancia sanitaria incluso en los países desarrollados.

Virus

Los virus también pueden transmitirse por el agua y causar enfermedades en el hombre. Con mucha frecuencia se liberan enterovirus con el material fecal, como los poliovirus, norovirus y el virus de la hepatitis A. Los más graves son los poliovirus, aunque los poliovirus salvajes se han eliminado del hemisferio occidental y sólo son endémicos en Nigeria, Afganistán, Pakistán e India. Aunque los virus pueden resistir en el agua por períodos relativamente largos, se inactivan con agentes desinfectantes como el cloro. El mantenimiento en el agua de 0,6 partes por millón (ppm) de cloro (Sección 36.3) asegura la neutralización de los virus en los suministros de agua.

Amebiasis

Algunas amebas viven en tejidos humanos y de otros vertebrados, por lo general en la cavidad oral o en el tracto gastrointestinal, y varias son patógenas. Expusimos las propiedades generales de los protozoos ameboideos en la Sección 18.12.

Entamoeba histolytica es un patógeno muy común en todo el mundo que se transmite al hombre fundamentalmente por el agua y ocasionalmente por alimentos contaminados (**Figura 36.17**). *E. histolytica* es una ameba anaerobia cuyos trofozoitos carecen de mitocondrias. Como *Giardia*, los trofozoitos de *E. histolytica* producen quistes. Cuando el hombre ingiere los quistes, éstos germinan en el intestino, donde las amebas crecen en las células de la mucosa intestinal. Muchas infecciones son asintomáticas pero el crecimiento continuado puede provocar la invasión y ulceración de la mucosa intestinal causando diarrea y fuertes dolores intestinales. Las amebas también pueden invadir la pared intestinal, originando *disentería*, que es una condición caracterizada por inflamación intestinal, fiebre y la liberación de exudados intestinales con sangre y mucus.

En ausencia de tratamiento, la invasión por trofozoitos de *E. histolytica* puede alcanzar el hígado y a veces el pulmón y el cerebro. El crecimiento en estos tejidos genera abcesos graves y la muerte. En todo el mundo mueren cada año 100.000 personas por disentería amebiana invasiva. La enfermedad es muy frecuente en países tropicales y subtropicales, con al menos 50 millones de personas al año con síntomas de diarrea y hasta 10 veces más con enfermedad asintomática. En Estados Unidos hay varios centenares de casos al año, la mayoría en las fronteras internacionales del sudoeste.

La amebiasis por *E. histolytica* se puede tratar con dehidroemetina en los casos invasivos y con furoato de diloxanida en los casos asintomáticos, pero estos fármacos no son universalmente eficaces. Ocurren curaciones espontáneas, lo que sugiere que el sistema inmune del hospedador desempeña un papel importante en la terminación de la enfermedad. Sin embargo, el resultado final de una infección primaria no suele ser una inmunidad protectora ya que la reinfección es frecuente. La enfermedad mantiene niveles muy bajos de incidencia en regiones con prácticas adecuadas de tratamientos de aguas. Las causas normales de la amebiasis son la exposición a aguas residuales no tratadas y el uso de aguas superficiales sin tratar para bebida.

Los métodos de diagnóstico para la amebiasis son la aparición en las heces de quistes de *E. histolytica* o de trofozoitos en tejidos, y los resultados positivos en enzimoinmunoensayos (ELISA) para detectar en la sangre anticuerpos contra *E. histolytica*.

Naegleria fowleri también puede causar amebiasis, pero de una forma diferente. *N. fowleri* es una ameba de vida libre en el suelo y en las aguas. Las infecciones por *N. fowleri* se adquieren normalmente al nadar o bañarse en agua caliente contaminada con suelos, como las fuentes termales o los lagos y arroyos durante el verano. Esta ameba libre penetra en el cuerpo por la nariz y se dirige directamente al cerebro, donde se propaga causando una extensa hemorragia y daño cerebral (**Figura 36.18**). Dicha situación se denomina **meningoencefalitis**. La muerte suele ocurrir en una semana. En los últimos 18 años se han presentado 30 brotes de meningoencefalitis en aguas recreativas de Estados Unidos. De 1999 a 2003 hubo 12 casos por infección al nadar o bañarse en un lago, estanque o arroyo en el verano. Todos los casos acabaron en muerte.

Esta enfermedad se puede prevenir evitando actividades como el nadar en época estival en aguas de estanques de granjas, y de lagos y ríos poco profundos. Se aconseja a los nadadores que no agiten los sedimentos del fondo, que son el hábitat natural del patógeno.

El diagnóstico de infección por *N. fowleri* se basa en la observación de las amebas en el líquido cefalorraquídeo. Si se realiza un diagnóstico rápido definitivo, se puede usar anfotericina B para tratar la infección.

www.medicosn

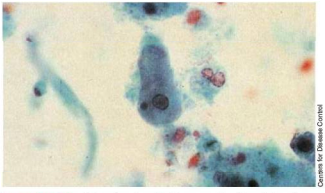


Figura 36.17 **El trofozoito de *Entamoeba histolytica*, la ameba causante de la amebiasis.** Nótese el núcleo definido teñido de oscuro. Las pequeñas estructuras rojas son hematíes. Los trofozoitos tienen una longitud de 12-60 μm.

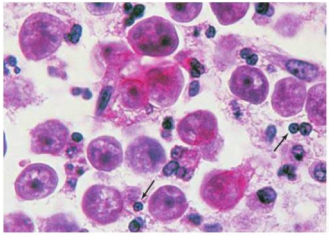


Figura 36.18 **Trofozoitos de *Naegleria fowleri* en tejido cerebral.** Esta ameba causa meningoencefalitis. Los trofozoitos ovales, redondeados o con forma ameboidea irregular (flechas) se presentan como estructuras teñidas de oscuro con núcleos muy densamente teñidos. Existe una destrucción generalizada del tejido cerebral circundante. Los trofozoitos individuales tienen 10-35 μm de longitud.

36.8 Minirrevisión

La fiebre tifoidea, las infecciones víricas y la amebiasis son enfermedades importantes que se transmiten por el agua. La fiebre tifoidea y las enfermedades víricas son corrientes en países no desarrollados y se pueden controlar con tratamientos eficaces del agua. La disentería amebiana causada por *Entamoeba histolytica* afecta a millones de personas en todo el mundo. La meningoencefalitis es una amebiasis rara, pero fatal, causada por *Naegleria fowleri*.

- Explique el efecto de una higiene eficaz del agua en la difusión de enfermedades humanas como la fiebre tifoidea y la polio que se transmiten por contaminación fecal.
- Describa qué medidas sanitarias podrían emplearse para eliminar o reducir el número de casos de amebiasis por *Entamoeba histolytica* y de meningoencefalitis por *Naegleria fowleri*.

Glosario de términos

Agua efluente: agua residual tratada que se descarga o libera de una planta de tratamiento.

Agua cruda: agua superficial o profunda que no ha sido tratada de ningún modo (también llamada agua no tratada).

Aguas negras: efluentes líquidos contaminados con material fecal de origen humano o animal.

Aguas residuales: líquido derivado de fuentes domésticas o industriales que no puede descargarse sin tratamiento en lagos o ríos.

Agua sin tratar: agua superficial o profunda que no ha sido tratada de ningún modo (también llamada agua cruda).

Agua terminada: agua que se libera al sistema de distribución tras un tratamiento.

Clarificador (tanque de coagulación): depósito donde los sólidos suspendidos de un agua cruda sufren coagulación y son eliminados.

Cloramina: desinfectante químico producido *in situ* por combinación de cloro y amoníaco en proporciones adecuadas.

Cloro: elemento usado en su estado gaseoso para desinfectar agua; se mantiene un nivel residual a lo largo de los sistemas de distribución.

Coagulación: formación de grandes partículas insolubles a partir de partículas coloidales más pequeñas mediante la adición de sulfato de aluminio y polímeros aniónicos.

Coliformes: bacterias anaerobias facultativas gramnegativas, no formadoras de endosporas y fermentadoras de lactosa..

Demanda bioquímica de oxígeno (BOD): cantidad relativa de oxígeno disuelto que consumen los microorganismos para la oxidación completa del material orgánico e inorgánico de una muestra de agua.

Filtración: eliminación de partículas suspendidas en el agua mediante pases por una o más membranas permeables o por otros medios (como arena, antracita o tierra de diatomeas).

Floculación: tratamiento del agua posterior a la coagulación que emplea agitación suave para inducir que las partículas suspendidas formen agregados de mayor masa (flóculos).

Meningoencefalitis: invasión, inflamación y destrucción del tejido cerebral por la ameba *Naegleria fowleri* o por otro patógeno.

Polímero: en la purificación del agua es una sustancia en forma líquida que se emplea como coagulante en el proceso de clarificación para provocar la floculación de una suspensión.

Potable: que puede beberse, segura para el consume humano.

Quiste: forma infecciosa de un protozoo encerrado en una envoltura gruesa que posee una notable resistencia física y química.

Sedimento: suelo, tierra, minerales y otras partículas grandes que se encuentran en el agua cruda.

Sistema de distribución: tuberías de agua, depósitos de almacenamiento, tanques y otras instalaciones usadas para suministrar agua potable a los consumidores o para mantenerla antes del suministro.

Sólidos suspendidos: pequeñas partículas de material sólido contaminante que no puede ser separado por métodos físicos ordinarios.

Tratamiento primario de aguas residuales: separación física de los contaminantes de las aguas residuales, normalmente por decantación y sedimentación.

Tratamiento secundario aeróbico de aguas residuales: reacciones digestivas llevadas a cabo por microorganismos en condiciones aeróbicas para tratar las aguas residuales que contienen bajos niveles de materia orgánica.

Tratamiento secundario anaeróbico de aguas residuales: reacciones digestivas y fermentativas llevadas a cabo por microorganismos en condiciones anaeróbicas para tratar las aguas residuales que contienen altos niveles de materia orgánica insoluble.

Tratamiento terciario de aguas residuales: procesos físico-químicos a los que se someten las aguas residuales para reducir los niveles de nutrientes inorgánicos.

Turbidez: medida de los sólidos suspendidos en un agua.

www.medicos.com

Preguntas de repaso

1. Defina el término *coliforme* y explique la prueba de los coliformes ¿Por qué se usa la prueba de los coliformes para determinar la pureza del agua potable (Sección 36.1)?
2. Describa el procesamiento de las aguas residuales en una planta de tratamiento típica. ¿Cuál es la reducción global en la BOD para las aguas residuales domésticas? ¿Y para las de origen industrial (Sección 36.2)?
3. Identifique los pasos del proceso de purificación de agua potable. ¿Qué contaminantes importantes son eliminados en cada paso del proceso (Sección 36.3)?
4. ¿Por qué los puntos comunes de infección, como una fuente de agua contaminada, son una amenaza importante para la salud pública (Sección 36.4)?
5. ¿Por qué los antibióticos no son eficaces en el tratamiento del cólera? ¿Qué se emplea en el tratamiento de enfermos de cólera (Sección 36.5)?
6. La giardiasis y la criptosporidiosis continúan siendo un problema para la salud pública incluso en áreas donde existen rigurosos estándares para la calidad del agua. Explique la razón (Sección 36.6)
7. Describa las características principales de la legionelosis ¿Qué distingue a esta enfermedad de otras transmitidas por el agua (Sección 36.7)?
8. Indique métodos para controlar la salmonelosis, la infección por norovirus y la amebiasis en los sistemas de agua de los países desarrollados (Sección 36.8).

Ejercicios prácticos

1. ¿Por qué un objetivo importante del tratamiento de aguas residuales es la reducción de la BOD?¿Cuales son las consecuencias de liberar aguas residuales con elevada BOD a zonas locales como lagos o arroyos?
2. En Estados Unidos, el gobierno federal ha regulado legalmente un conjunto estricto de estándares para el agua potable. Los estándares para aguas recreativas son, sin embargo, recomendaciones y las autoridades locales pueden variar sus exigencias. Explique por qué las aguas para actividades recreativas tienen unas exigencias más flexibles y diseñe regulaciones para ese tipo de aguas en el área en que vive.
3. Estamos a nivel mundial en el medio de la séptima pandemia de cólera, y la octava puede comenzar en breve. Usando fuentes como la Organización Mundial de la Salud y los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades, defina la situación de la pandemia actual respecto a su distribución geográfica, áreas endémicas y brotes más recientes. Comente métodos que se podrían utilizar para disminuir la extensión del cólera y controlar las epidemias anuales de brotes que ocurren en áreas endémicas ¿Puede erradicarse el cólera?
4. Como visitante de un país en donde el cólera es una enfermedad endémica ¿qué medidas específicas tomaría para reducir el riesgo de exposición al cólera? ¿tales precauciones evitarían también otras enfermedades transmitidas por el agua? ¿cuáles?. Identifique enfermedades que se transmiten por el agua en las que sus precauciones puede que no eviten la infección.
6. ¿Por qué las aguas superficiales se contaminan con quistos de diversos protozoos? ¿Qué medidas podrían tomar las autoridades sanitarias para remediar este problema?
7. Exponga los esquemas de tratamiento para aguas residuales y para agua potable que deben seguirse a fin de controlar enfermedades como la fiebre tifoidea. ¿Es posible eliminar *Salmonella typhi* como se hizo con los poliovirus? ¿Sería posible eliminar *Naegleria fowleri* o *Entamoeba histolytica*? Explique la respuesta.
8. Los norovirus son causa frecuente de brotes de gastroenteritis aguda. ¿Cómo se pueden controlar estos virus?

Visit TestBankDirect.com

37

Conservación de los alimentos y enfermedades microbianas transmitidas por los alimentos

I CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS Y CRECIMIENTO MICROBIANO 1162

37.1 Crecimiento microbiano y alteraciones de los alimentos 1162

37.2 Conservación de los alimentos 1163

37.3 Alimentos fermentados 1166

II DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS E INTOXICACIÓN ALIMENTARIA 1168

37.4 Enfermedades transmitidas por alimentos y detección de microorganismos 1168

37.5 Intoxicación alimentaria por estafilococos 1170

37.6 Intoxicación alimenticia por clostridios 1171

III INFECCIONES ALIMENTARIAS 1173

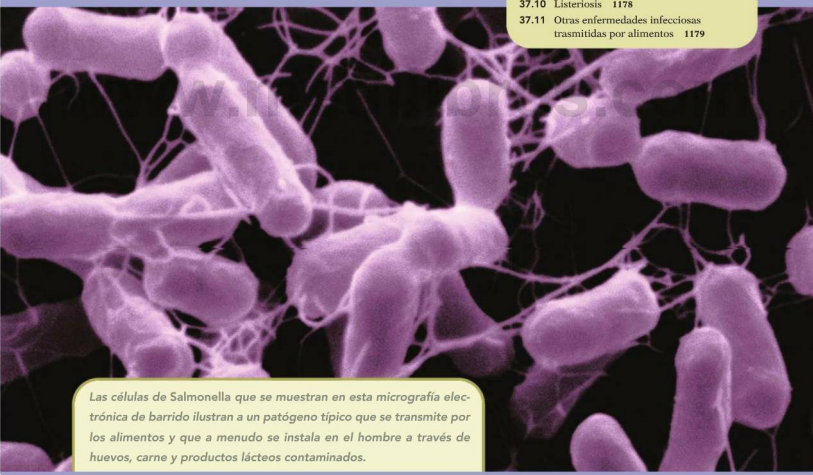
37.7 Salmonelosis 1173

37.8 Cepas patógenas de *Escherichia coli* 1175

37.9 *Campylobacter* 1177

37.10 Listeriosis 1178

37.11 Otras enfermedades infecciosas trasmitidas por alimentos 1179



Las células de Salmonella *que se muestran en esta micrografía electrónica de barrido ilustran a un patógeno típico que se transmite por los alimentos y que a menudo se instala en el hombre a través de huevos, carne y productos lácteos contaminados.*

El hombre está constantemente expuesto a los microorganismos que hay en el aire, en el agua y en los alimentos. Los alimentos frescos, los preparados, e incluso los mantenidos con conservantes, se contaminan a menudo con microorganismos que los alteran y con unos cuantos patógenos. Por otra arte, la actividad microbiana es importante en la producción de varios alimentos. Por ejemplo, los derivados lácteos como el queso, la mantequilla, la crema agria y el yogurt se producen en todos los casos por fermentación microbiana. El chucrut es un alimento vegetal fermentado. Algunas salchichas, patés y cremas de hígado requieren una fermentación microbiana. El vinagre de sidra se produce por las actividades de las bacterias acéticas, y las bebidas alcohólicas se producen por fermentación. En el Capítulo 25 expusimos la utilización de los microorganismos en la producción de varios alimentos fermentados a escala industrial.

Aquí examinaremos métodos de conservación de los alimentos que usan procesos microbianos para limitar el crecimiento microbiano indeseado o su alteración. A continuación, presentaremos productos microbianos o microorganismos que originan intoxicaciones alimenticias o infecciones.

I CONSERVACIÓN DE LOS ALIMENTOS Y CRECIMIENTO MICROBIANO

Los microorganismos son agentes muy importantes del deterioro de los alimentos, que pueden causar escasez de alimentos y pérdidas económicas. Para controlar la alteración por microorganismos se emplean varios métodos, algunos de los cuales implica un crecimiento microbiano dirigido.

37.1 Crecimiento microbiano y alteraciones de los alimentos

Los microorganismos, incluyendo unos cuantos que son patógenos para el hombre, colonizan y viven en los alimentos más corrientes. La mayoría de los alimentos proporciona un medio adecuado para el crecimiento de varios microorganismos, y el crecimiento microbiano generalmente reduce la calidad y la disponibilidad del alimento.

Alteración de los alimentos

La **alteración de los alimentos** es cualquier cambio en la apariencia, olor o sabor de un producto alimentario que lo hace inaceptable para el consumidor. El alimento alterado puede ser todavía seguro para comer, pero se considera en general desagradable y de difícil compra o consumición. Esta alteración causa pérdidas a los productores, distribuidores y consumidores porque reduce la calidad y la cantidad de los alimentos y eleva los precios.

Tabla 37.1 Clasificación de los alimentos por su potencial conservación

Clasificación	*Ejemplos*
Perecederos	Carnes de porcino y vacuno, pescados, pollos, huevos, leche, la mayoría de las frutas y de los vegetales
Semiperecederos	Patatas, algunas manzanas, nueces
No perecederos	Azúcar, harina, arroz y legumbres

Los alimentos están formados por materiales orgánicos y pueden ser considerados como nutrientes para las bacterias quimioorganótrofas. Las características físicas y químicas del alimento determinan el grado de susceptibilidad a la actividad microbiana. Respecto a la alteración, los alimentos se clasifican en tres categorías principales: (1) **alimentos perecederos**, que incluye muchos alimentos frescos; (2) **alimentos semiperecederos**, como las patatas y las nueces; y (3) **alimentos estables o no perecederos**, como la harina o el azúcar (**Tabla 37.1**).

Estas categorías difieren notablemente en su *contenido de humedad*, que está relacionado con la actividad del agua, a_w (*véase* Sección 6.16). La actividad del agua es una medida de la disponibilidad de agua para ser usada en procesos metabólicos. Los alimentos no perecederos tienen una baja actividad de agua y generalmente se pueden almacenar durante largos períodos de tiempo sin alteración. En contraste, los perecederos y semiperecederos suelen tener una actividad de agua más elevada. Por tanto, estos alimentos deben guardarse bajo condiciones que inhiban el crecimiento microbiano.

Los alimentos frescos resultan alterados por una amplia variedad de bacterias y hongos. Las propiedades químicas de los alimentos son muy diversas y cada tipo de alimento fresco suele ser colonizado y alterado por un grupo de organismos relativamente pequeño. Los organismos que causan la alteración son aquellos capaces de tener acceso al alimento y que pueden usar los nutrientes disponibles (**Tabla 37.2**).

Por ejemplo, las bacterias entéricas, como *Salmonella, Shigella* y *Escherichia*, que son patógenos potenciales que se pueden encontrar en el intestino de los animales, contaminan y alteran con frecuencia la carne. En el matadero, el contenido intestinal que contiene las bacterias vivas puede dejar escapar bacterias que contaminan los productos cárnicos. Ocasionalmente, estos organismos también pueden contaminar los productos por contaminación fecal de los sistemas de suministro de agua. De modo similar, las bacterias lácticas, que son los microorganismos más frecuentes en los productos lácteos, estropean la leche y sus derivados. Las especies de *Pseudomonas* se encuentran en el suelo y en los ani-

Tabla 37.2 Deterioro microbiano de alimentos frescos*

Producto alimenticio	*Tipo microbiano*	*Géneros comunes en el deterioro*
Frutas y vegetales	Bacterias	*Erwinia*, ***Pseudomonas, Corynebacterium*** *(principalmente patógenos de vegetales; raramente deterioran frutas)*
	Hongos	*Aspergillus, Botrytis, Geotrichum, Rhizopus, Penicillium, Cladosporium, Alternaria, Phytophhora, levaduras*
Carne fresca, aves y marisco	Bacterias	*Acinetobacter, Aeromonas,* ***Pseudomonas****, Micrococcus, Achromobacter, Flavobacterium,* ***Proteus, Salmonella, Escherichia, Campylobacter, Listeria***
	Hongos	*Cladosporium, Mucor, Rhizopus, Penicillium, Geotrichum,* ***Sporotrichium, Candida,*** *Torula, Rhodotorula*
Leche	Bacterias	***Streptococcus,*** *Leuconostoc, Lactococcus, Lactobacillus,* ***Pseudomonas, Proteus***
Alimentos azucarados	Bacterias	**Clostridium, Bacillus**, *Flavobacterium*
	Hongos	*Saccharomyces, Torula, Penicillium*

*Los organismos señalados son los agentes más frecuentes de deterioro de alimentos frescos perecederos. Los géneros en negrita incluyen especies que son posibles patógenos para el hombre.

males y pueden causar el deterioro de alimentos frescos de todo tipo.

Crecimiento microbiano en los alimentos

El crecimiento microbiano en los alimentos sigue el modelo normal del crecimiento bacteriano (*véase* Sección 6.7). La fase lag o adaptativa puede ser de duración variable, dependiendo de las propiedades del microorganismo contaminante y del alimento. El tiempo necesario para que la densidad de población alcance un nivel significativo en un alimento determinado depende del tamaño del inóculo inicial y de la velocidad de crecimiento durante la fase exponencial. La velocidad de crecimiento depende a su vez de la temperatura, del valor nutritivo del alimento y de otras condiciones de crecimiento.

Durante gran parte de la fase exponencial de crecimiento puede que el número de microorganismos en un alimento sea tan bajo que no se pueda observar ningún efecto apreciable y que solamente las últimas duplicaciones de la población conlleven una alteración observable. Por tanto, durante gran parte de la fase de crecimiento en un alimento no hay cambio visible o fácilmente detectable en la calidad del alimento; por lo general, la alteración sólo se observa cuando la densidad de la población microbiana es alta.

37.1 Minirrevisión

La mayoría de los alimentos se altera por el crecimiento de microorganismos contaminantes. La alteración microbiana depende del valor nutritivo y del contenido en agua del alimento. Esta alteración microbiana limita la vida media de los alimentos perecederos y semiperecederos. Varios microorganismos inducen alteraciones y algunos de estos son también patógenos.

- Cite las categorías principales de alimentos en función de la disponibilidad de agua. Sugiera condiciones de almacenamiento que inhiban la alteración microbiana de cada tipo de alimento.
- Identifique al menos tres géneros de bacterias que causen tanto alteración alimenticia como enfermedad en el hombre.

37.2 Conservación de los alimentos

El almacenamiento y conservación de los alimentos reduce el crecimiento microbiano que produce las alteraciones y la transmisión de enfermedades.

Frío

Uno de los factores más importantes que afecta al crecimiento bacteriano es la temperatura (*véase* Sección 3.12). En general, una temperatura baja ocasiona menos crecimiento microbiano y menor alteración alimenticia. Sin embargo, varios microorganismos psicrotolerantes (tolerantes al frío) pueden crecer, aunque sea lentamente, a la temperatura de un refrigerador (3-5 °C). Por tanto, el almacenamiento de productos alimenticios perecederos por largos períodos de tiempo (más de varios días) sólo es posible a temperaturas por debajo de la congelación. No obstante, como la congelación y la subsiguiente descongelación altera su estructura física, la congelación no es siempre un método aceptable de conservación para muchos alimentos frescos, aunque es un sistema muy empleado en la conservación de carnes y diversass frutas y vegetales. Los congeladores que más se utilizan son los que proporcionan una temperatura de −20 °C. A esta temperatura es posible mantener alimentos por semanas y meses, pero los microorganismos todavía pueden crecer en burbujas de agua líquida atrapadas en la masa congelada. Para un mantenimiento a largo plazo se necesitan temperaturas de −80 °C (la temperatura del CO_2 sólido, nieve carbónica o «hielo seco»). El mantenimiento a temperaturas tan bajas es caro y, en consecuencia, no se utiliza en el almacenamiento rutinario de los alimentos.

Acidez

Otro factor que afecta al crecimiento microbiano sobre los alimentos es el pH. El pH de los alimentos es algo variable, pero la mayoría de ellos son neutros o ácidos. Los microorganismos difieren en su capacidad para crecer en condiciones ácidas, aunque un pH de 5 o inferior inhibe el crecimiento de la mayoría de los organismos que actúan en el deterioro. Por esta razón, se utilizan a menudo ácidos débiles en la conservación de alimentos mediante el proceso llamado encurtido. El vinagre, que es ácido acético diluido, y a su vez un producto de la fermentación de las bacterias acéticas, se añade en el método de encurtido. En este proceso se mezcla normalmente el vinagre con grandes cantidades de sal o de azúcar para disminuir la disponibilidad de agua (*véase* más adelante) e inhibir aún más el crecimiento microbiano. Alimentos encurtidos típicos son los realizados con pepinillos (dulces y amargos), pimientos, carnes, pescados y frutas.

Secado y deshidratación

Como hemos comentado, la **actividad de agua** o a_w, es una medida del agua disponible por los microorganismos para sus actividades metabólicas. El valor a_w del agua pura es 1,00; las moléculas de agua están débilmente ordenadas y se recolocan libremente. Si se añade un soluto, el valor de a_w disminuye. Cuando las moléculas de agua se ordenan alrededor del soluto, la disposición libre de las moléculas de agua que están unidas al soluto se convierte en energéticamente desfavorable. Las células microbianas deben entonces competir con el soluto para disponer de la cantidad reducida de agua libre. En general, las bacterias son unas competidoras pobres para el resto del agua libre, pero los hongos son buenos competidores. En la práctica esto significa que altas concentraciones de solutos como los azúcares o las sales, que reducen a_w, inhibirán normalmente el crecimiento bacteriano. Por ejemplo, la mayoría de las bacterias se inhiben a una concentración de NaCl del 7,5% (a_w = 0,957), con la excepción de algunos cocos grampositivos como especies de *Staphylococcus*. Por otra parte, los hongos compiten bien por el agua libre en condiciones de baja a_w y a menudo son capaces de crecer en alimentos con altas concentraciones de azúcares como las mermeladas.

Varios alimentos de importancia comercial se conservan por la adición de sal o azúcar. El azúcar se usa principalmente en frutas (mermeladas, gelatinas y conservas) y la sal en productos cárnicos y pescados. Las salchichas y el jamón se conservan con varias sales, incluyendo NaCl. Algunas carnes también se someten a un proceso de ahumado. Los productos cárnicos conservados varían mucho en a_w dependiendo de la cantidad de sal añadida y de si el producto ha sido o no desecado. Algunos productos curados como el jamón o la cecina se pueden mantener a temperatura ambiente durante largos períodos. Otros con mayor a_w requieren refrigeración para su conservación a largo plazo.

El crecimiento microbiano en los alimentos también puede ser controlado disminuyendo el contenido en agua mediante el secado o deshidratación. La desecación se emplea para mantener alimentos muy perecederos como la carne, el pescado, la leche, vegetales, frutas y huevos. El método físico menos perjudicial para secar alimentos es el proceso de la **liofilización**, en el que los alimentos se congelan y el agua se elimina a continuación al vacío. Este método es sin embargo bastante caro y se usa fundamentalmente para aplicaciones especializadas como la preparación de raciones militares que deben ser almacenadas por mucho tiempo bajo condiciones adversas.

El secado en spray es el proceso de pulverizar o atomizar líquidos como la leche en una atmósfera calentada. La atomización produce pequeñas gotas que aumentan la relación superficie-volumen del líquido, lo que favorece una rápida desecación sin destruir el alimento. Esta tecnología es muy empleada en la producción de leche en polvo, en algunos productos lácteos concentrados y en ingredientes alimenticios concentrados que se presentan como condimentos líquidos.

Calor

El calor se emplea para reducir la carga bacteriana de un alimento o para esterilizarlo, y es realmente útil para la conservación de líquidos y de alimentos húmedos. En la Sección 27.1 se describió la *pasteurización*, un proceso en el que los líquidos se calientan hasta una temperatura determinada por un tiempo preciso. La pasteurización no esteriliza los líquidos pero reduce la carga microbiana de los microorganismos potencialmente transformadores y de los patógenos, alargando considerablemente la vida media del líquido. El **enlatado** es un proceso en el que el alimento se encierra en un recipiente, como una lata o tarro de cristal, y luego se calienta. En teoría, este enlatado debería esterilizar al alimento pero no es así el 100% de las veces (*véase* párrafo siguiente). Sin embargo, cuando se cierra y se calienta de modo adecuado, el alimento enlatado debería permanecer después indefinidamente estable e inalterado a cualquier temperatura.

La relación temperatura-tiempo en el enlatado depende del tipo de alimento, de su pH, del tamaño del recipiente y de la densidad o consistencia del alimento. Como el calor debe penetrar por completo en el alimento enlatado, los tiempos de calentamiento efectivo deben ser más largos para latas de mayor tamaño o con contenido muy denso. A menudo, los alimentos ácidos pueden enlatarse calentando justamente hasta la ebullición, 100 °C, mientras que los no ácidos deben calentarse a la temperatura del autoclave (121 °C). Para algunos alimentos en grandes recipientes se requieren tiempos de 20-50 minutos. Unos tiempos de calentamiento lo suficientemente largos como para garantizar la esterilidad absoluta de cada lata envasada convertiría a muchos alimentos en desagradables al gusto y degradaría su valor nutritivo. Por tanto, cada lata puede que no esté estéril aunque esté adecuadamente enlatada. El proceso empleado para el

enlatado comercial, llamado *enlatado al autoclave*, utiliza un equipamiento similar al autoclave, donde aplica vapor de agua a presión (*véase* Sección 27.1).

Si dentro de una lata permanecen microorganismos vivos, su crecimiento puede producir grandes cantidades de gas que ejercen una presión que origina bultos o incluso explosiones (**Figura 37.1**). El interior de una lata es anaerobio, y algunas de las bacterias anaerobias que pueden crecer en los alimentos enlatados son productoras de toxinas, como las del género *Clostridium* (Sección 37.6). Por tanto, el alimento de una lata deformada nunca debe consumirse. Por otra parte, la ausencia de una producción visible de gas tampoco es una garantía absoluta de que el alimento enlatado sea seguro para el consumo.

Procesado aséptico de los alimentos

Muchos alimentos en Estados Unidos, Asia y Europa se preparan y envasan en la actualidad en condiciones asépticas. En principio, estos alimentos deben ser estériles y pueden mantenerse a temperatura ambiente durante meses o por más tiempo sin alteración. El procesamiento aséptico implica calentamientos en flash (calentamiento breve a alta temperatura) o el cocinado de los alimentos con esterilidad y su envasado posterior en recipientes asépticos, que normalmente son de cartón con papel de aluminio y plástico. El proceso puede requerir una «habitación limpia» (de atmosfera modificada) de condiciones similares a las de una sala de operaciones de un hospital. Por ejemplo, el aire entrante en la habitación debe ser filtrado para limitar la contaminación por esporas y bacterias de la atmósfera. Se requiere un equipamiento especializado para realizar los calentamientos en flash y para depositar asépticamente el producto en los materiales estériles del envasado.

En Estados Unidos, se procesan frecuentemente de este modo los zumos de frutas o los derivados lácteos. En muchos países europeos, la leche se calienta en flash a 133 °C y se envasa asépticamente. Los alimentos perecederos que se preparan asépticamente se pueden mantener a temperatura ambiente durante al menos 6 meses. Esta tecnología permite alargar casi indefinidamente la vida media de un alimento y evita la refrigeración de muchos productos. Si embargo, el equipo y las instalaciones necesarias para lograr y mantener un procesamiento aséptico de los alimentos son muy costosas.

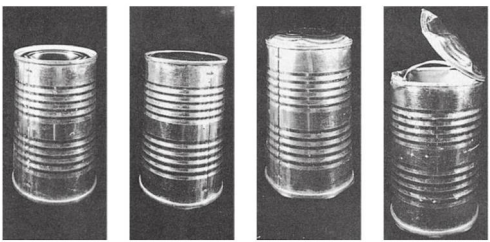
Conservación química

Más de 3.000 productos químicos están en uso como aditivos alimenticios. Estas sustancias están consideradas por la Food and Drug Administration (FDA) de Estados Unidos como «seguras» (GRAS, de ***g**enerally **r**ecognized **as** **s**afe*) y tienen mucha aplicación en la industria alimenticia para resaltar o conservar la textura, el color, la frescura o el sabor. Un pequeño número de estos compuestos se utiliza para controlar el crecimiento microbiano en los alimentos (**Tabla 37.3**). Muchos de estos inhibidores del crecimiento microbiano, como el propionato sódico o el benzoato sódico, se han usado desde hace mucho tiempo sin evidencias de toxicidad para el hombre. El empleo de otros aditivos alimentarios, como los nitritos (precursores de carcinógenos) y el óxido de etileno o de propileno (mutágenos), es tema de controversia porque algunos es-

Tabla 37.3 Conservantes químicos en la alimentación

Compuesto	*Alimentos*
Propionato sódico o cálcico	Pan
Benzoato sódico	Bebidas carbonatadas, frutos, zumos, escabeches margarina, mermeladas
Ácido sórbico	Productos cítricos, quesos, escabeches, ensaladas
Dióxido de azufre, sulfitos, bisulfitos	Frutos secos y vegetales, vino
Formaldehído (del proceso de ahumado)	Carne, pescado
Óxidos de etileno y propileno	Condimentos, frutos secos, nueces
Nitrito sódico	Jamón ahumado, panceta

www.elibros.com



(a) (b) (c) (d)

Figura 37.1 Cambios en latas de conserva como consecuencia del deterioro microbiano *(a)* Lata normal; la parte superior está ligeramente retraída debido a la presión negativa en el interior (vacío). *(b)* Hinchamiento resultante de una pequeña producción de gas. La parte superior de la lata se abulta ligeramente. *(c)* Hinchamiento pronunciado debido a una amplia producción de gas. *(d)* La lata mostrada en *(c)* se dejó caer y la presión del gas originó una violenta explosión que separó la tapa.

tudios sugieren que pueden afectar de modo perjudicial a la salud humana. Sin embargo, el empleo de aditivos que retardan el deterioro de los alimentos aumenta de modo significativo su vida media. Los aditivos químicos contribuyen de manera muy notable a aumentar la cantidad y la calidad de los alimentos disponibles.

Debido al tiempo y a los costes necesarios para probar cualquier compuesto que se proponga como conservante o aditivo, es poco probable que en el futuro se añadan muchos compuestos a la lista de los compuestos autorizados como seguros que se presenta en la Tabla 37.3

Irradiación

La irradiación de alimentos con radiaciones ionizantes es un método eficaz para reducir la contaminación por bacterias, hongos e incluso insectos (*véase* Sección 27.2). La **Tabla 37.4** presenta alimentos para los que se han autorizado tratamientos con radiaciones. Los condimentos se irradian de modo rutinario. En Estados Unidos, los productos cárnicos frescos, como las hamburguesas y la carne de ave, se irradian en la actualidad para limitar la contaminación por *Escherichia coli* O157:H7 (hamburguesas) y otros patógenos como *Campylobacter jejuni* (carnes de aves).

Para irradiar los alimentos se generan rayos gamma de ^{60}Co o de ^{137}Cs, o bien de electrones de alta energía producidos en aceleradores lineales. Alternativamente, se pueden producir rayos beta por un generador de electrones, similar pero mucho más poderoso que el rayo de electrones producido en el tubo catódico de las televisiones antiguas. Además, se pueden producir rayos X con chorros de electrones enfocados a una lámina de metal. Los rayos X tienen mucho más poder de penetración que los rayos beta y por lo tanto son muy útiles para el tratamiento de grandes volúmenes de alimentos. Las fuentes de radiación beta y de rayos X se pueden encender y apagar y no requieren una fuente radioactiva.

Los alimentos irradiados reciben una dosis de radiación controlada. La dosis varía considerablemente según la categoría de alimento y la finalidad. Por ejemplo, se emplea una dosis de 44 kiloGrays (kGys) para esterilizar los productos cárnicos en los vuelos espaciales de la NASA y es casi 10 veces la dosis de 4,5 kGys usada para controlar los patógenos de las hamburguesas (Tabla 37.4). En Estados Unidos, los alimentos irradiados deben acompañarse de una información para el consumidor (**Figura 37.2**).

Tabla 37.4 Alimentos irradiados por categorías, dosis y finalidad

Tipo de alimento	*Dosis[a] (kGy)*	*Finalidad*
Carne fresca: ternera picada	4,5	Reducción de *patógenos bacterianos*
Infusiones, condimentos, enzimas y aderezos	30,0	Esterilización
Cerdo	1	Reducción del protozoo *Trichinella spiralis*
Carnes usadas en los programas espaciales de la NASA[b]	44,0	Esterilización
Aves	4,5	Reducción de patógenos bacterianos
Harina de trigo	0,5	Inhibición de hongos
Harina blanca	0,15	

[a] Se indica el valor más alto de las dosis recomendadas. Un kGy (kiloGray) son mil grays. Un gray, unidad estándar internacional, es un julio de radiación absorbida por un kilogramo de masa y equivale también a 100 rad.
[b] *National Aeronautics and Space Administration*, EE.UU.

37.2 Minirrevisión

El crecimiento microbiano en los alimentos debe ser limitado para evitar el deterioro y prevenir la enfermedad. Los alimentos varían mucho en su sensibilidad al crecimiento microbiano en función de su contenido en nutrientes, disponibilidad de agua y pH. El crecimiento de los microorganismos en los alimentos perecederos se puede controlar por refrigeración, congelación, enlatado, encurtido, deshidratación, conservación química o irradiación.

- Identifique microorganismos que alteren los alimentos y sean también patógenos.
- Identifique métodos físicos y químicos para la conservación de alimentos ¿Cómo limita cada método el crecimiento microbiano?

37.3 Alimentos fermentados

Muchos alimentos y bebidas corrientes se conservan, son producidas o mejoran sus propiedades por acción directa de los microorganismos. Los procesos microbianos pueden provocar alteraciones significativas en los alimentos crudos, y el producto se llama un *alimento fer-*

Figura 37.2 Radura, el símbolo internacional de radiación. El embalaje de los alimentos tratados con radiación debe marcarse con este símbolo (radura) así como con la indicación «tratado por irradiación» o «tratado con radiación».

mentado. La **fermentación** es el catabolismo anaeróbico de compuestos orgánicos, generalmente carbohidratos, en ausencia de un aceptor terminal de electrones (*véase* Sección 5.10). En la industria de los alimentos fermentados son importantes las bacterias del ácido láctico, las bacterias del ácido acético y las bacterias del ácido propiónico (**Tabla 37.5**). Estas bacterias no crecen por debajo de un pH 3,5 de modo que la fermentación de alimentos es un proceso autolimitado.

Uno de los alimentos fermentados más comunes es el pan hecho con levadura, en donde la fermentación de los azúcares sencillos y de los carbohidratos de la harina por la levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Tabla 37.5) produce dióxido de carbono que levanta la masa y produce los huecos del pan acabado (**Figura 37.3**). Las bebidas fermentadas como el vino, la cerveza y el whisky se consideraron en las secciones 25.10 y 25.11 como procesos de aplicación industrial de los microorganismos.

Figura 37.3 Alimentos fermentados. El pan, las salchichas de carne, los quesos y otros derivados de la leche, y los vegetales son productos alimenticios que se producen o mejoran por reacciones de fermentación que están catalizadas por microorganismos.

Productos lácteos

Los productos lácteos fermentados se desarrollaron originalmente como métodos para conservar la leche, un alimento fresco y ecnonómicamente importante que suele experimentar un deterioro rápido (Sección 37.2). Los productos lácteos son el queso y otros derivados de la fermentación de la leche, como yogurt, mantequilla y crema ácida (Figura 37.3). La leche contiene el disacárido lactosa, que puede ser hidrolizado por la enzima lactasa en glucosa y galactosa. Estos monosacáridos se fermentan para dar como producto final ácido láctico (*véase* Figura 5.15) gracias a las bacterias del ácido láctico (Tabla 37.5). Esta reacción fermentativa desciende de modo notable el pH desde el valor neutro o débilmente básico de la leche hasta un pH por debajo de 5,3 en los quesos o inferior a 4,6 en otros productos lácteos fermentados.

Tabla 37.5 Alimentos fermentados y principales microorganismos de la fermentaciónª

Tipo de alimento	*Principal microorganismo fermentativo*
Derivados lácteos	
Quesos	*Lactococcus* *Lactobacillus* *Streptococcus thermophilus*
Leches fermentadas	
Mantequillas Crema ácida Yogurt	*Lactococcus* *Lactococcus* *Lactobacillus* *Streptococcus thermophilus*
Bebidas alcohólicas	*Zymomonas* *Saccharomyces*[b]
Pan de levadura	*Saccharomyces cerevisiae*[c]
Productos cárnicos	
Salchichas secas (salchichón) y semisecas (mortadela)	*Pediococcus* *Lactobacillus* *Micrococcus* *Staphylococcus*
Vegetales	
Coles (col ácida)	*Leuconostoc* *Lactobacillus*
Pepinillos	Bacterias del ácido láctico
Salsa de soja	*Aspergillus* *Tetragenococcus halophilus* Levaduras

ª A menos que se indique lo contrario, todos son miembros del grupo de bacterias del ácido láctico. *Zymomonas* está relacionada con *Pseudomonas*.
[b] Levadura. En la fermentación alcohólica intervienen varias especis de *Saccharomyces*.
[c] Levadura de panadería.

Se introducen en la leche original los cultivos iniciales de bacterias lácticas y se deja proceder la fermentación por un período de tiempo que depende del producto deseado (Tabla 37.5). En el caso de algunos quesos se puede introducir un segundo inóculo para producir una segunda fermentación. Por ejemplo, después de la fermentación láctica, los quesos de estilo suizo Emmental se reinoculan con *Propionibacterium*. La fermentación secundaria cataboliza el ácido láctico a ácido propiónico, ácido acético y CO_2. El dióxido de carbono produce los grandes agujeros (ojos) que caracterizan a los quesos de tipo suizo. Las fermentaciones secundarias con *Lactobacillus* y con el hongo *Penicillium roqueforti* producen el aspecto y el gusto y aroma distintivo de los quesos azules. Cada tipo de queso se produce bajo condiciones cuidadosamente controladas. Para asegurar un producto diferencial y reproducible, se controla el tiempo de fermentación, la temperatura, la duración del envejecimiento y los tipos de microorganismos fermentativos.

Productos cárnicos

Los productos cárnicos forman varias categorías. Las *salchichas* se hacen por lo general con carne de cerdo, vaca o pollo. El tipo más común es el de las salchichas secas, como el salami y el *pepperoni*, y el de las semisecas, como la mortadela y las *summers sansages* (Figura 37.3).

www.elsolucionario.net

Las salchichas se hacen usando una mezcla uniforme de carne, sal y condimentos. Se añade un cultivo iniciador de bacterias del ácido láctico para reducir el pH de la mezcla a menos de 5. Tras la fermentación, las salchichas a menudo se ahuman y se secan hasta un contenido en humedad del 30%. Después del proceso final, las salchichas secas se pueden mantener a temperatura ambiente durante mucho tiempo. Las semisecas contienen una humedad final del 50% y son menos resistentes al deterioro, por lo que se mantienen generalmente refrigeradas.

También se fermenta el pescado, a menudo mezclado con arroz, gambas y condimentos, para hacer pastas de pescado y productos con sabor a pescado.

Verduras y productos vegetales

La variedad de alimentos vegetales fermentados es prácticamente interminable. Los alimentos vegetales fermentados más importantes desde el punto de vista económico son la col ácida (sauerkraut, chucrul) y algunos tipos de encurtidos (pepinillos). Las aceitunas, cebollas, tomates, pimientos y muchas frutas también se fermentan.

A menudo los vegetales se fermentan con salmuera para mejorar la conservación y el sabor. La sal también ayuda a evitar la contaminación con organismos indeseables cuando los organismos que llevan a cabo la fermentación son tolerantes a la sal. La fermentación puede favorecer la digestibilidad del producto descomponiendo los tejidos vegetales. Por ejemplo, las legumbres fermentadas (guisantes, alubias, lentejas) tienen una notable reducción en los oligosacáridos que producen la flatulencia característica de las legumbres frescas.

La salsa de soja es un producto complejo de la fermentación de la semilla de soja y del trigo. Las semillas de soja cocinadas se mezclan con una preparación enzimática derivada de un cultivo de *Aspergillus* crecido en arroz u otros cereales (Tabla 37.5). Este cultivo iniciador se lleva a la mezcla de soja-trigo y se deja crecer durante 2-3 días. Esta preparación se conoce como «koji» y se mezcla con salmuera (17-19% de NaCl) dejando que la fermentación continúe durante 2-4 meses o más. Varios microorganismos, como *Lactobacillus*, *Pediococcus,* y levaduras y hongos filamentosos, forman productos fermentativos que contribuyen a las características deseadas en el producto final. Después de la fermentación, la salsa líquida se decanta, se filtra, se pasteuriza y se embotella como salsa de soja.

37.3 Minirrevisión

La fermentación microbiana se emplea para preparar, preservar y mejorar alimentos como el pan, productos lácteos, carnes y vegetales.

- Identifique productos lácteos, cárnicos y vegetales que se produzcan o mejoren por procesos de fermentación microbiana.
- Identifique grupos microbianos que son importantes en la fermentación de alimentos.

II DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS E INTOXICACIÓN ALIMENTARIA

La conservación y la descontaminación inadecuada de un alimento puede permitir el crecimiento de patógenos, originando enfermedades transmitidas por los alimentos con importante morbilidad y mortalidad. Como el caso de las enfermedades transmitidas por el agua, las transmitidas por alimentos suelen ser enfermedades con un origen común. Una única fuente de alimento contaminado en una planta de productos alimentarios o en un restaurante puede afectar a muchas personas. En Estados Unidos casi 25.000 brotes anuales de enfermedades debidas a alimentos causan unos 13 millones de enfermedades. La mayoría de los brotes se debe a una manipulación y una preparación inadecuada a nivel del consumidor y afecta a un pequeño número de personas, normalmente a nivel familiar. Ocasionalmente se presentan brotes más amplios que afectan a muchos individuos debido a roturas en la cadena de seguridad en las plantas de procesamiento y distribución de los alimentos. Muchos brotes de este tipo de enfermedades no se registran como tales porque no se establece la conexión entre la alimentación y la enfermedad.

libros.com

37.4 Enfermedades transmitidas por los alimentos y detección de microorganismos

La **Tabla 37.6** resume las enfermedades más frecuentes en Estados Unidos que son transmitidas por alimentos y los microorganismos que las causan. Estas enfermedades pueden clasificarse en dos grupos, *intoxicaciones alimentarias e infecciones alimentarias*. Se necesitan técnicas especiales de muestreo y detección para aislar los patógenos responsables de las enfermedades transmitidas por alimentos.

Enfermedades transmitidas por alimentos

El **envenenamiento por alimentos**, también llamado **intoxicación alimentaria**, es la enfermedad derivada de la ingestión de alimentos que contienen toxinas microbianas preformadas. Los microorganismos que produjeron las toxinas no tienen que crecer en el hospedador y con frecuencia no están vivos cuando se consume el alimento contaminado. La enfermedad es el resultado de la ingestión y la acción de la toxina bioactiva. Con anterioridad, hemos comentado algunas de estas toxinas, particularmente la exotoxina de *Clostridium botulinum* (*véase* Figura 28.21) y las toxinas superantigénicas de *Staphylococcus* y de *Streptococcus* (*véase* Sección 30.8). A diferencia de la intoxicación alimentaria, la infección alimentaria es una infección microbiana originada por la

Tabla 37.6 Estimaciones de enfermedades alimentarias anuales en Estados Unidos[a]

Organismo	*Enfermedad[b]*	*Casos/año*	*Alimentos*
Bacterias			
Bacillus cereus	Int/Inf	27.000	Arroz y alimentos con almidón, alimentos azucarados, carnes, salsas, postres, leche en polvo
Campylobacter jejuni	Inf	1.963.000	Aves, lácteos
Clostridium perfringens	Int/Inf	248.000	Carne cocinada recalentada y productos cárnicos
Escherichia coli O157:H7	Inf	63.000	Carne, especialmente picada
Otras *E. coli* enteropatógenas	Inf	110.000	Carne, especialmente picada
Listeria monocytogenes	Inf	2.500	Carne y lácteos
Salmonella spp.	Inf	1.340.000	Aves, carnes, lácteos, huevos
Staphylococcus aureus	Int	185.000	Carne, postres
Streptococcus spp.	Inf	50.000	Lácteos, carne
Yersinia enterocolitica	Inf	87.000	Cerdo, leche
Resto de bacterias	Int/Inf	102.000	
Total por bacterias		**4.177.500**	
Protozoos			
Cryptodporidium parvum	Inf	30.000	Carne cruda o poco cocinada
Cyclospora cayetanenesis	Inf	16.000	Productos frescos
Giardia lamblia	Inf	200.000	Carne contaminada o infectada
Toxoplasma gondii	Inf	13.000	Carne cruda o poco cocinada
Total por protozoos		**359.000**	
Virus			
Norovirus	Inf	9.200.000	Marisco, muchos otros alimentos
Resto de virus	Inf	82.000	
Total por virus		**9.282.000**	
Total de enfermedades/año transmitidas por alimentos		**13.818.500**	

[a] Las estimaciones se basan en datos de los Centros para Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU., y reflejan valores típicos de los últimos años.
[b] Int, intoxicación alimentaria; Inf, infección alimentaria.

www.medilibros.com

ingestión de alimentos contaminados con patógenos, seguida por el crecimiento de los patógenos en el hospedador. Las principales infecciones transmitidas por alimentos se estudian en las Secciones 37.7-37.11.

Detección microbiana y enfermedad

En los alimentos frescos, además de microorganismos no patógenos, pueden estar presentes microorganismos patógenos. Para detectar patógenos importantes en los alimentos, como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella*, *Staphylococcus* y *Clostridium botulinum*, se han desarrollado métodos de diagnóstico rápido que no requieren cultivar al patógeno. Para identificar la contaminación por toxinas o por patógenos en alimentos y en otros productos, como cosméticos o fármacos, se usan pruebas moleculares e inmunológicas. En la Sección 32.12 expusimos el empleo de sondas de ácidos nucleicos y de la reacción en cadena de la polimerasa para la detección de patógenos específicos, incluyendo los transmitidos por alimentos.

Sin embargo, la presencia de una toxina o de un patógeno puede no ser suficiente para relacionar alimentos o patógenos concretos con un brote específico de enfermedad. El organismo causante debe de ser aislado e identificado para completar la investigación de un brote de enfermedad transmitida por alimentos. El aislamiento de patógenos a partir de alimentos que no son líquidos requiere normalmente un tratamiento preliminar para suspender los microorganismos que están atrapados o embebidos en el alimento. Un método usual emplea una especie de batidora estéril denominada *homogenizador*. El homogenizador tritura y homogeniza mediante unas aspas que aplastan y estiran la muestra de alimento. El alimento debería examinarse tan pronto como sea posible, y si no se puede empezar antes de transcurrida una hora desde el muestreo debería refrigerarse. El alimento congelado debe descongelarse en un refrigerador en el mismo recipiente original y examinarse tan pronto como se complete la descongelación. Además de recoger los patógenos del alimento, se debe recogerlos también de los pacientes para establecer una relación de causa a efecto entre el patógeno y la enfermedad. En muchos casos, se pueden cultivar muestras fecales para recoger los microorganismos para pruebas.

Las muestras obtenidas de los alimentos o de los pacientes se pueden inocular en medios enriquecidos y transferirlos después a medios diferenciales o selectivos para su aislamiento e identificación, como se describió para el aislamiento de patógenos humanos (*véase* Sección 32.2). La identificación final de los patógenos por características de crecimiento, así como por métodos moleculares y genéticos del tipo de la PCR, con sondas de ácidos nucleicos, mediante secuenciación de ácidos nucleicos o ribotipado, puede permitir relacionar organismos específicos con enfermedades transmitidas por alimentos y con una enfermedad individual.

En Estados Unidos los brotes de enfermedades por alimentos se declaran a los Centros de Control y Prevención de Enfermedades. La identificación de organismos particulares responsables de brotes de estas enfermedades es muy importante y existe un sistema nacional llamado *PulseNet* para comparar los patrones del DNA de organismos transmitidos por alimentos por electroforesis en campo pulsante. El rastrear las características de las enfermedades asociadas a alimentos e identificar los agentes causales permite a los epidemiólogos determinar la fuente común del alimento contaminado.

37.4 Minirrevisión

Las enfermedades transmitidas por alimentos pueden ser intoxicaciones alimentarias o infecciones alimentarias. La intoxicación deriva de la acción de toxinas microbianas, y la infección se debe al crecimiento del microorganismo. Se emplean técnicas especializadas para determinar los microorganismos en los alimentos.

- Distinga entre intoxicación alimentaria e infección alimentaria.
- Describa procedimientos de muestreo microbiano para alimentos sólidos, como la carne.

37.5 Intoxicación alimentaria por estafilococos

Las intoxicaciones alimentarias se deben a menudo a toxinas producidas por la bacteria *Staphylococcus aureus*. Las especies de *Staphylococcus* son cocos pequeños grampositivos (**Figura 37.4**) (*véase* Sección 16.1). Como vimos en la Sección 34.10, los estafilococos forman parte de la flora normal de la piel y del tracto respiratorio de casi todos los hombres, y con frecuencia son patógenos oportunistas. *S. aureus* está realcionado muchas veces con intoxicaciones alimentarias porque crece en muchos alimentos corrientes y algunas cepas producen varias enterotoxinas que son termoestables. Si se consume la enterotoxina con el alimento, en 1-6 horas aparece una gastrenteritis caracterizada por naúseas, vómitos y diarrea.

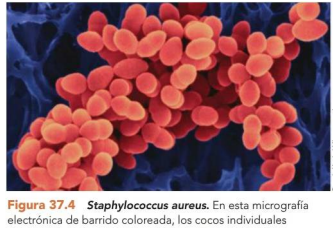

Dennis Kunkel Microscopy, Inc.

Figura 37.4 ***Staphylococcus aureus.*** En esta micrografía electrónica de barrido coloreada, los cocos individuales grampositivos tienen cerca de 0,8 μm de diámetro. Los estafilococos se dividen en múltiples planos, generando la apariencia que da el nombre al género (del griego *staphyle*, racimo de uvas).

Epidemiología

Se estima que cada año ocurren en Estados Unidos 185.000 casos de intoxicaciones por alimentos debidas a estafilococos (Tabla 37.6). Los alimentos más frecuentemente implicados son cremas pasteleras, carnes de aves y otros productos cárnicos, y otros derivados como salsas y jugos, huevos y ensaladillas, postres, y aderezos para ensaladas. Si tales alimentos se refrigeran inmediatamente después de la preparación, suelen ser seguros, porque *S. aureus* crece muy poco a bajas temperaturas. Sin embargo, los alimentos de este tipo se mantienen muchas veces a temperatura ambiente en las cocinas o en comidas en el exterior. Cuando resultan inoculados con *S. aureus* por un manipulador de alimentos infectado, los alimentos favorecen un rápido crecimiento bacteriano y la producción de enterotoxina. Incluso si el alimento que contiene la toxina se recalienta antes de ser comido, la toxina termoestable puede permenecer activa. *S. aureus* no necesita estar vivo en el alimento que causa la enfermedad porque ésta se debe únicamente a la toxina preformada.

Enterotoxinas estafilocócicas

S. aureus produce por lo menos siete enterotoxinas que son diferentes pero que están relacionadas. La mayoría de las cepas producen solamente uno o dos de estas toxinas, y otras no son productoras de toxinas. Sin embargo, cualquiera de estas toxinas puede causar intoxicación. Estas toxinas se consideran como *superantígenos* porque estimulan a un gran número de células T, que a su vez liberan mediadores intercelulares llamados *citoquinas*. En el intestino, los superantígenos inducen una respuesta inflamatoria general que causa gastroenteritis y pérdida notable de líquidos (diarreas y vómitos) (*véase* Sección 30.8).

La enterotoxina de *S. aureus* más frecuente es la enterotoxina A, una proteína que está codificada por el gen

cromosomal *entA*. La comparación de *entA* con otros genes de enterotoxinas de *S. aureus* muestra que las toxinas están genéticamente relacionadas. Aunque el gen *entA* está en el cromosoma bacteriano, las enterotoxinas B y C de *S. aureus* pueden estar codificadas por plásmidos, transposones o por bacteriófagos lisogénicos. Estos elementos genéticos móviles pueden propagar la producción de toxina a cepas no toxigénicas de *Staphylococcus* por mecanismos de transferencia genética lateral (*véase* Sección 13.11).

Diagnóstico, tratamiento y prevención

Para detectar la presencia de enterotoxinas o de metabolitos de *S. aureus* en los alimentos se usan respectivamente enzimoinmunoensayos (ELISA para la detección de enterotoxina) y pruebas para revelar la existencia de exonucleasa (una enzima de *S. aureus* que degrada DNA). Estas pruebas cualitativas confirman la presencia o ausencia de enterotoxina o la presencia pasada de *S. aureus* por encima de los límites de detección del ensayo. Para obtener datos cuantitativos y determinar la extensión de la contaminación bacteriana, se requiere un recuento de colonias. Para el recuento de estafilococos, se emplea un medio salino (cloruro sódico o cloruro de litio a una concentración de 7,5%). En comparación con la mayoría de las bacterias que están presentes en los alimentos, los estafilococos se desarrollan bien en ambientes con altas concentraciones de sal y con baja actividad de agua.

Los síntomas de intoxicación debida a *S. aureus* pueden ser muy graves pero normalmente son limitados y se suelen resolver en 48 horas a medida que la toxina se elimina del cuerpo. Algunos casos pueden requerir tratamiento para la deshidratación. No se suelen emplear antibióticos porque la intoxicación está provocada por una toxina preformada y no por la infección bacteriana activa. La intoxicación alimentaria se puede evitar con medidas sanitarias e higiénicas en la producción, en la preparación y en el mantenimiento del alimento. Como regla general, no deben consumirse los alimentos susceptibles de ser colonizados por *S. aureus* que se hayan mantenido durante varias horas por encima de 4 °C.

37.5 Minirrevisión

Las intoxicaciones alimentarias por estafilococos derivan de la ingestión de una enterotoxina preformada, que es un superantígeno producido por *Staphylococcus aureus* cuando crece sobre alimentos. En algunos casos, *S. aureus* no puede ser recuperado de los alimentos que contienen las toxinas.

- Identifique los síntomas y el mecanismo de intoxicación debida a estafilococos.
- ¿Influyen los antibióticos en el resultado o la gravedad de la intoxicación alimenticia por estafilococos? Razone la respuesta.

37.6 Intoxicación alimentaria por clostridios

Clostridium perfringens y *Clostridium botulinum* causan intoxicaciones alimenticias graves. Los miembros que pertenecen al género *Clostridium* son bacilos anaerobios formadores de endosporas (*véase* Sección 16.2). Los procedimientos de enlatado y cocinado matan a organismos vivos pero no matan necesariamente a las endosporas. Bajo condiciones anaeróbicas apropiadas, las endosporas pueden germinar y producir toxinas.

Intoxicación por *Clostridium perfringens*

C. perfingens es un bacilo anaerobio grampositivo formador de endosporas que se encuentra con frecuencia en el suelo (**Figura 37.5**). También vive a baja concentración en el tracto intestinal de muchos animales y del hombre y por lo tanto se encuentra en las aguas negras. *C. perfringens* es la causa más frecuente de las intoxicaciones alimenticias descritas en Estados Unidos, con unos 248.000 casos anuales (Tabla 37.6).

Este tipo de intoxicación requiere la ingestión de una gran dosis de *C. perfringens* ($> 10^8$ células) en los alimentos, especialmente en alimentos de alto contenido proteico como carnes, aves y pescados. En los platos de menú precocinados al por mayor puede crecer *C. perfringens* a niveles altos. En la preparación de tales alimentos la penetración del calor es a veces insuficiente y las endosporas de *C. perfringens* que sobreviven germinan en condiciones anaeróbias como las que proporcionan los recipientes cerrados. La bacteria crece rápidamente en la carne, sobre todo si se la deja enfriar a 20-40 °C por cortos espacios de tiempo. Sin embargo, la toxina aún no está presente.

Después del consumo del alimento contaminado, las células vivas de la bacteria comienzan a esporular en el intestino, coincidiendo con la producción de la enteroto-

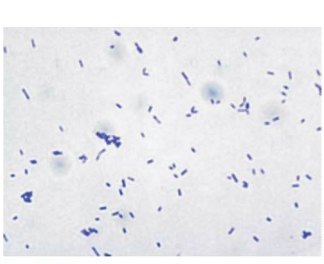


Figura 37.5 ***Clostridium perfringens.*** La tinción de Gram muestra bacilos individuales grampositivos de cerca de 1 μm de diámetro.

xina (*véase* Tabla 28.4). Cuando se ingiere, la enterotoxina de *C. perfringens* altera la permeabilidad del epitelio intestinal originando náuseas, diarrea y dolor intestinal, normalmente sin fiebre. El inicio de los síntomas comienza a percibirse a las 7-15 horas después del consumo del alimento contaminado, pero normalmente se resuelve en 24 horas y las complicaciones son poco frecuentes.

Diagnóstico, tratamiento y prevención

El diagnóstico de la intoxicación se hace aislando *C. perfringens* de las heces o, de modo más fiable, mediante un enzimoinmunoensayo directo (ELISA) para detectar la enterotoxina en las heces. Como la intoxicación alimentaria por *C. perfringens* es autolimitada, no se recomienda tratamiento con antibióticos. En casos graves se puede suministrar una terapia de apoyo. La prevención requiere tomar medidas para evitar la contaminación de alimentos crudos y cocinados y seguir procedimientos adecuados de enlatado que aseguren un tratamiento térmico correcto de todos los alimentos. Los alimentos cocinados deben refrigerarse tan pronto como sea posible para bajar rápidamente la temperatura e inhibir el crecimiento de *C. perfringens*.

Botulismo

El botulismo es una intoxicación alimentaria grave, a menudo mortal, que ocurre tras el consumo de alimentos que contienen la exotoxina producida por *C. botulinum*. Esta bacteria se encuentra normalmente en el suelo y en el agua, pero sus endosporas pueden contaminar los alimentos antes de su recolección o antes de la entrada de animales al matadero. Si los alimentos se procesan de modo adecuado, de tal forma que las endosporas de *C. botulinum* se eliminen o mueran, no se producirán problemas; pero si existen endosporas viables, pueden germinar y producir toxina. Incluso en muy pequeñas cantidades, esta neurotoxina puede ser peligrosa.

En la Sección 12.10 (*véase* Figura 28.21) expusimos la naturaleza y la actividad de la toxina botulínica, que es una neurotoxina que origina una parálisis flácida que afecta los nervios autónomos que controlan funciones corporales como la respiración y el latido cardíaco. Se conocen al menos siete toxinas distintas. Sin embargo, como estas toxinas se destruyen por el calor (a 80 °C durante 10 minutos), un alimento cuidadosamente cocinado puede ser totalmente inocuo, incluso si estuviera contaminado con la toxina.

La mayoría de los casos de botulismo por la alimentación se debe al hecho de tomar alimentos que no están cocinados después de su preparación (**Figura 37.6**). Por ejemplo, los vegetales no ácidos mantenidos en conserva casera (como el envasado de maíz y judías) se usan con frecuencia sin cocinar para preparar ensaladas frías. El pescado ahumado y el fresco, envasado en plástico al vacío, también se ingiere a menudo sin cocinar. En esas condiciones, las endosporas viables de *C. botulinum* pueden germinar y las células vegetativas pueden producir la suficiente toxina como para causar una intoxicación alimentaria grave. Del año 2000 al 2005 ha ocurrido en Estados Unidos una media de 24 casos de botulismo al año por alimentos.

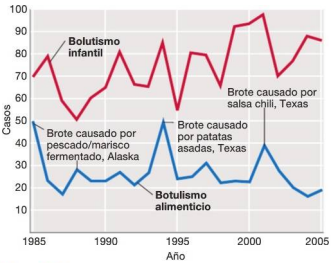


Figura 37.6 Botulismo en Estados Unidos. Se indica tanto el botulismo alimenticio como el infantil. En los años con gran número de casos, se especifican los brotes principales causantes del aumento. Datos de los centros para Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU.

Muchos casos de botulismo ocurren como consecuencia de una infección por *C. botulinum*. Por ejemplo, el botulismo infantil se presenta cuando los recién nacidos ingieren endosporas de *C. botulinum* (Figura 37.6). En algunos casos el vehículo es la miel, pero lo más frecuente es que la fuente no sea identificada. Si la flora normal de un niño no se desarrolla o si el niño está bajo terapia antibiótica, las endosporas pueden germinar en su intestino provocando el crecimiento de la bacteria y la producción de toxina. La mayoría de los casos de botulismo infantil ocurren entre la primera semana de vida y los dos meses de edad, y raramente se presenta en niños mayores de 6 meses, cuando la flora normal del intestino está más desarrollada. El 60% de los casos de botulismo en Estados Unidos se da en edad infantil. Del año 2000 al 2005 se han presentado como media 85 casos anuales de botulismo infantil en Estados Unidos. También puede producirse botulismo debido a infección de heridas cuando se introducen endosporas por material contaminado a través de una ruta parenteral. El botulismo por heridas se asocia corrientemente con el uso ilícito de drogas inyectables, y en Estados Unidos esta forma de botulismo ha representado una media anual de 25 casos en el período del 2000 al 2005.

Todas las formas de botulismo son poco frecuentes, con unos seis casos por cada 10 millones de habitantes y año en Estados Unidos durante la época más reciente. Sin embargo, el botulismo es una enfermedad grave por la elevada mortalidad que la acompaña. Aunque en la última década ha habido menos de 155 casos cada año, en cerca

del 25% de todos los casos provocó la muerte. La muerte ocurre por parálisis respiratoria o parada cardíaca debido a la acción paralizante de la neurotoxina botulínica.

Diagnóstico, tratamiento y prevención

El diagnóstico del botulismo se basa en la demostración de la toxina botulínica en el suero del paciente o en la presencia de la toxina o de células vivas de *C. botulinum* en loa alimentos sospechosos. Los hallazgos en el laboratorio deben acompañarse de observaciones clínicas sobre síntomas neurológicos de parálisis localizada (alteraciones en la visión y en el habla) que suelen comenzar a las 18-24 horas de la ingestión del alimento contaminado. El tratamiento supone administrar la antitoxina botulínica si el diagnóstico es temprano y la aplicación de ventilación mecánica para contrarrestar la parálisis respiratoria. En el botulismo infantil se suele encontrar *C. botulinum* y toxina en el contenido intestinal. El botulismo infantil suele ser autolimitado y la mayoría de los niños se recuperan con tan solo terapia de apoyo, como la respiración asistida. La administración de antitoxina no se recomienda. Las muertes ocasionales se deben a fallo respiratorio.

La prevención del botulismo requiere mantener un cuidadoso control de los métodos de envasado y conservación. Los alimentos susceptibles deben calentarse para destruir las endosporas pues el calentamiento a ebullición durante 20 minutos destruye la toxina. Los alimentos caseros son la fuente más común de brotes de botulismo. Además, alimentar a menores de 2 años de edad con miel es una práctica poco recomendable porque la miel es una fuente ocasional de endosporas de *C. botulinum*.

37.6 Minirrevisión

La intoxicación alimentaria por *Clostridium* es el resultado de ingerir toxinas producidas durante el crecimiento microbiano en alimentos o del crecimiento y producción de la toxina en el cuerpo humano. La intoxicación debida a *C. perfringens* es muy común y con frecuencia es una enfermedad gastrointestinal autolimitante. El botulismo es una enfermedad poco frecuente pero muy grave, con una mortalidad significativa.

- Describa los pasos que conducen a una intoxicación alimentaria por *Clostridium perfringens*. ¿Cuál es el resultado probable de la intoxicación?
- Describa el desarrollo del botulismo en adultos y en niños. ¿Cuál es el resultado probable del botulismo?

III INFECCIONES ALIMENTARIAS

La **infección alimentaria** es el resultado de la ingestión de alimentos contaminados con un número suficiente de patógenos viables como para causar infección y enfermedad en el hospedador. Las infecciones por alimentos son muy frecuentes (Tabla 37.6) y comenzaremos con la causada por una bacteria muy común, *Salmonella*. Muchos agentes infecciosos transmitidos por alimentos pueden ocasionar también enfermedades transmitidas por el agua.

37.7 Salmonelosis

La **salmonelosis** es una enfermedad gastrointestinal que se debe típicamente a la infección por *Salmonella*. Los síntomas comienzan después de que el patógeno coloniza el epitelio intestinal. *Salmonella* es un bacilo móvil, gramnegativo y anaerobio facultativo, que está relacionado con *Escherichia coli* y con otras bacterias entéricas (*véase* Sección 15.11). *Salmonella* es un habitante del intestino de los animales y por tanto se encuentra en las aguas fecales.

El nombre específico aceptado para los miembros patógenos del género es *Salmonella enterica*. Teniendo en cuenta los análisis de ácidos nucleicos, existen siete grupos evolutivos o subespecies dentro de *Salmonella enterica*. La mayoría de los patógenos del hombre se incluyen en el grupo I, como una subespecie única, *S. enterica* subespecie *enterica*. Finalmente, cada subespecie puede dividirse en serotipos (variaciones serológicas que definen los anticuerpos dirigidos contra los antígenos celulares de superficie). Así, el organismo que normalmente se denomina *Salmonella typhi* es formalmente *Salmonella enterica* subespecie *enterica* serotipo Typhi. Este microorganismo causa la grave enfermedad de la fiebre tifoidea, pero su presencia es muy rara en Estados Unidos. Se importan anualmente más de 500 casos anuales de otros países. Otros serotipos de *S. enterica* también pueden causar gastroenteritis transmitida por alimentos. En conjunto, más de 1.400 serotipos pueden causar enfermedades en el hombre. Los serotipos Typhimurium y Enteriditis causan con frecuencia salmonelosis en el hombre transmitida por alimentos.

Epidemiología y patogénesis

La incidencia de la salmonelosis se ha estabilizado en la última década, con unos 40.000-45.000 casos documentados cada año (**Figura 37.7**). Sin embargo, probablemente se declaran menos del 4% de las salmonelosis, que puede llegar a alcanzar más de un millón de casos al año (Tabla 37.6).

El origen remoto de las salmonelas transmitidas por los alimentos es el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, y existen varios mecanismos que pueden introducir estos organismos en los alimentos disponibles. El organismo puede alcanzar el alimento por contaminación fecal de los manipuladores de los alimentos. Los animales para producción de alimentos, como pollos, cerdos y vacas también pueden albergar serotipos de *Salmonella* que son patógenos para el hombre y pueden pasar la bacteria a los alimentos frescos acabados, tales como huevos, carnes y productos lácteos. Con fre-

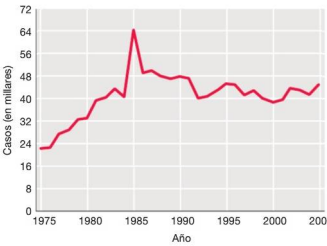


Figura 37.7 Salmonelosis en Estados Unidos de 1975 a 2005. La mayoría de los casos de salmonelosis de deben a alimentos. El número total de casos descritos en 2005 fue de 45.322. Solamente cerca del 4% de todos los casos de salmonelosis se identifican y declaran. Por tanto, la incidencia real anual de la salmonelosis sobrepasa 1 millón de casos. La elevada incidencia de 1985 se debió a una contaminación de leche pasteurizada que se mezcló con leche no procesada en una importante planta de productos lácteos de Illinois. Los datos son de los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades, Atlanta, Georgia, EE.UU.

cuencia, las infecciones por *Salmonella* tienen su origen en cremas, pasteles, merengues, tartas y ponches de huevo hechos con huevos sin cocinar. Otros alimentos que suelen estar relacionados con brotes de salmonelosis son productos cárnicos como pasteles de carne, salchichas curadas pero crudas, derivados de carne de pollo y leche.

La salmonelosis más común es la enterocolitis. La ingestión de alimentos que contienen células viables de *Salmonella* ocasiona la colonización del intestino delgado y del intestino grueso. A las 8-48 horas de la ingestión se inician los síntomas de la enfermedad que incluyen la rápida aparición de dolor de cabeza, escalofríos, vómitos y diarrea, seguidos de una fiebre que dura varios días. Normalmente la enfermedad se resuelve a los 2-5 días sin intervención. Sin embargo, tras la recuperación, los enfermos pueden liberar *Salmonella* en las heces durante varias semanas. Algunos enfermos se recuperan y permanecen asintomáticos, pero liberan el microorganismo durante meses o incluso años como transportadores crónicos (*véase* Sección 33.3). Unos cuantos serotipos de *Salmonella* también pueden originar septicemia (infección de la sangre) y fiebre entérica o tifoidea, una enfermedad caracterizada por infección sistémica y por fiebre alta que dura varias semanas. La mortalidad está cercana al 15% en la fiebre tifoidea sin tratamiento.

La patogénesis de las infecciones por *Salmonella* se inicia con la entrada de los microorganismos al intestino. Las células de *Salmonella* presente en el agua o en los alimentos invaden los fagocitos y crecen como un patógeno intracelular, extendiéndose a células adyacentes cuando las células del hospedador van muriendo. Como se ilustró en la Figura 28.17, tras la invasión, las cepas patógenas de *Salmonella* utilizan una combinación de endotoxina, enterotoxina y citotoxina para dañar a las células del hospedador provocando los síntomas clásicos de la salmonelosis.

Diagnóstico, tratamiento y prevención

El diagnóstico de la salmonelosis alimentaria se hace por observación de los síntomas clínicos, por la historia del consumo reciente de alimentos y por el cultivo del organismo a partir de las heces. Se emplean normalmente medios selectivos (*véase* Sección 32.2) y diversas pruebas para detectar la presencia de *Salmonella* en alimentos de origen animal como carne cruda, carne de pollo, huevos y leche en polvo, por ser las fuentes usuales de contaminación alimenticia.

Para la enterocolitis no se requiere normalmente tratamiento, y el uso de antibióticos no acorta el curso de la enfermedad ni elimina el estado de portador. Sin embargo, los antibióticos reducen significativamente la duración y la gravedad de la septicemia y de la fiebre tifoidea. La mortalidad por fiebre tifoidea puede reducirse a menos del 1% con una terapia adecuada con antibióticos. Las cepas de *Salmonella* con resistencia múltiple son un importante problema clínico.

Los alimentos bien cocinados y calentados por lo menos a 70 °C durante 10 minutos son generalmente seguros si se consumen inmediatamente, si se mantienen a 50 °C o si se guardan inmediatmente a 4 °C. Cualquier alimento contaminado por un manipulador de alimentos puede servir para sostener el crecimiento de *Salmonella* si dicho alimento se mantiene sin consumir mucho tiempo, especialmente sin calentamiento o sin refrigeración. Las infecciones por *Salmonella* son más frecuentes en verano que en invierno, probablemente porque el ambiente cálido favorece el crecimiento de los microorganismos en los alimentos.

Aunque las leyes y las regulaciones locales varían, los individuos infectados, debido a la larga duración del estado de transportador, deben de ser excluidos de trabajos como manipuladores de alimentos hasta que sus heces sean negativas para el cultivo de *Salmonella* en tres cultivos sucesivos.

www.medilibros.com

37.7 Minirrevisión

En Estados Unidos ocurren más de 1 millón de casos de salmonelosis al año. La infección es el resultado de la ingestión de *Salmonella* introducida en los alimentos de origen animal o por los manipuladores de alimentos.

- Describa la salmonelosis ¿En qué se diferencia de una intoxicación alimentaria?
- ¿Cómo podría evitarse la contaminación de productos alimentarios de origen animal por *Salmonella*?

37.8 Cepas patógenas de *Escherichia coli*

La mayoría de las cepas de *Escherichia coli* no son patógenas y forman parte de la microflora entérica normal del colon humano. Sin embargo, unas cuantas cepas son potencialmente patógenas y se transmiten por alimentos. Todas estas cepas son patógenos intestinales y varias de ellas se caracterizan por su capacidad de producir enterotoxinas muy potentes. Existen unas 200 cepas patógenas conocidas de *E. coli*. Algunas causan enfermedades diarreicas graves e infecciones del tracto urinario. Las cepas patógenas se pueden dividir según el tipo de toxina que producen y la enfermedad específica que causan.

Escherichia coli enterohemorrágica (EHEC)

Las células de *E. coli* enterohemorrágica (EHEC, del inglés *enterohemorrhagic E. Coli*) producen *verotoxina*, una enterotoxina similar a la producida por *Shigella dysenteriae*, la toxina de Shiga (*véase* Tabla 28.4). Después de que una persona ingiere alimento o agua que contiene una cepa EHEC de *E. coli* O157:H7, el organismo crece en el intestino delgado y produce verotoxina, la cual causa tanto una diarrea hemorrágica (sanguinolenta) como un fallo renal. En Estados Unidos, *E. coli* O157:H7 produce cada año más de 60.000 infecciones y 50 muertes (Tabla 37.6). Este patógeno es la causa mayoritaria del síndrome urémico hemolítico y del fallo renal, con 221 casos descritos en 2005, la mayoría de ellos en niños menores de 5 años de edad. La causa más frecuente de esta infección es el consumo de carne no cocinada o mal preparada, sobre todo de carne picada de venta al por mayor.

En varios brotes importantes ocurridos en Estados Unidos debidos a *E. coli* O157:H7, la fuente de carne contaminada fue carne picada de ternera procedente de centros de distribución regional. Los productos cárnicos infectados provocaron la enfermedad en diversos estados. Otro brote estuvo causado por carne de ternera procesada y curada, pero sin cocinar, en salchichas listas para comer. La fuente de contaminación fue carne de ternera y la *E. coli* O157:H7 probablemente se adquirió de los cadáveres de reses muertas en el matadero. En el año 2001 hubo 16 brotes de infección alimentaria documentados en Estados Unidos que se debieron a *E. coli* O157:H7 y cinco de ellos estuvieron definitivamente relacionados con carnes contaminadas.

En el 2003, el Servicio de Seguridad e Inspección Alimentaria del Departamento de Agricultura de Estados Unidos informó que de 6.584 muestras de carne picada analizadas 20 resultaron positivas para *E. coli* O157:H7 (el 0,03%). Esta cepa también se ha implicado en brotes debidos a infecciones alimenticias de productos lácteos, frutas frescas y vegetales crudos. La contaminación de alimentos frescos con material fecal, normalmente a partir de ganado portador de la cepa *E. coli* O157:H7, ha sido la causa de varios de estos casos (Información adicional: «Espinacas y *Escherichia coli* O157:H7»).

Como *E. coli* O157:H7 crece en el intestino y se encuentra en el material fecal, también constituye una causa potencial de enfermedades gastrointestinales transmitidas por el agua. Ha habido varios casos de infecciones graves por *E. coli* O157:H7 en áreas públicas de natación que estaban contaminadas con heces (Tabla 36.2). También se han descrito brotes en instalaciones del tipo de las guarderías, donde la ruta probable de exposición se debe a la contaminación oral-fecal.

Otras cepas patógenas de *Escherichia coli*

Los niños de países subdesarrollados contraen con frecuencia una enfermedad diarreica causada por *E. coli*. Esta bacteria también puede ser la causa de la «diarrea del viajero», una infección entérica muy frecuente que provoca una diarrea acuosa en quienes viajan a países subdesarrollados. Los causantes fundamentales son las cepas enterotoxigénicas de *E. coli* (ETEC, del inglés *enterotoxigenic E. Coli*). Estas cepas ETEC normalmente producen una de dos enterotoxinas termolábiles que producen diarrea. En estudios realizados con ciudadanos estadounidenses de viaje por Méjico, la tasa de infección con ETEC supera a menudo el 50%. Los vehículos de transmisión son alimentos, como los vegetales frescos (por ejemplo, lechugas en ensaladas) y el agua. Esta elevada tasa de infección se debe a que los suministros locales de agua pública están contaminados. Las poblaciones locales son por lo general resistentes a las cepas infecciosas porque han adquirido resistencia frente a las cepas ETEC endémicas. La presencia de anticuerpos secretorios de tipo IgA en el intestino evita en los residentes locales la colonización del patógeno, pero el microorganismo infecta con facilidad a los viajeros que no están inmunes y aparece la enfermedad.

Las cepas enteropatogénicas de *E. coli* (EPEC, del inglés *enteropathogenic E. Coli*) causan enfermedades diarreicas en recién nacidos y en niños pero sin producir una enfermedad invasiva ni producir toxinas. Las cepas enteroinvasivas de *E. coli* (EIEC, del inglés *enteroinvasive E. Coli*) causan una enfermedad invasiva del colon originando una diarrea acuosa a veces sanguinolenta. Las cepas EIEC son fagocitadas pero escapan a la lisis de los fagolisosomas, crecen en el citoplasma de los fagocitos y de allí emigran a otras células. Esta enfermedad invasiva que causa diarreas es común en países no desarrollados.

Diagnóstico y tratamiento

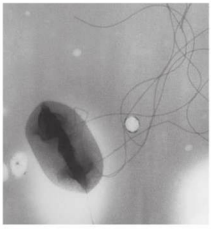
En Estados Unidos la enfermedad infecciosa debida a *E. coli* O157:H7 es de declaración obligatoria. Las pautas generales establecidas para el diagnóstico, tratamiento y prevención de la infección por *E. coli* O157:H7 reflejan los procedimientos actuales utilizados para todas las cepas patógenas de *E. coli*. El diagnóstico de laboratorio requiere el cultivo a partir de las heces y la identificación mediante serología de los antígenos O (del lipopolisacárido) y H (del flagelo) y de las toxinas. La identificación de las cepas también se lleva a cabo por análisis del DNA

Información adicional

Espinacas y *Escherichia coli* O157:H7

En 2006 ocurrió en Estados Unidos un brote de enfermedad asociada con *Escherichia coli* O157:H7 que se relacionó con el consumo de una bolsa de espinacas frescas listas para comer. El origen del brote fue rápidamente determinado y se centró en una fábrica de procesado de vegetales en California. El brote se relacionó en septiembre con las espinacas y causó al menos 199 infecciones, a consecuencia de las cuales 102 individuos fueron hospitalizados y 32 presentaron síndrome urémico hemolítico. Como mínimo, tres muertes se debieron a dicho brote.

La llamativa corta duración y el rápido final de esta epidemia (el primer caso se confirmó a finales de agosto y el último se registró a primeros de octubre) ilustra la eficacia de la cooperación entre las instancias dedicadas a la salud pública en todo el país. En el Capítulo 33 comentamos la existencia de redes de vigilancia con información sobre las enfermedades infecciosas. En este caso vemos en acción estas redes, PulseNet y FoodNet (CDC). Las espinacas se distribuyeron por toda la nación, y la mayoría de los casos no se presentaron en el oeste. Los dos estados más afectados fueron Wisconsin, con 49 casos, y Ohio, con 25. California, que fue el estado donde realmente ocurrió la contaminación, sólo tuvo 2 casos que se pudieran atribuir a este brote.



CDC/Elizabeth H. White, M.S.; PHIL

Figura 1 *Micrografía electrónica de transmisión de una célula de Escherichia coli O157:H7 con tinción negativa. La célula tiene un diámetro aproximado de 1.1 μm*

Las autoridades sanitarias fueron capaces de identificar la cepa de *E. coli* O157:H7 (**Figura 1**) y de determinar su origen. De manera convincente relacionaron el brote con las bolsas de espinacas, rastrearon su distribución hasta la planta de procesado, y eventualmente determinaron su origen en un campo agrícola próximo a dichas instalaciones. El DNA de organismos aislados de los brotes regionales fue caracterizado por un método molecular llamado electroforesis en gel en campo pulsante. Los patrones obtenidos se compararon y se pudo demostrar que el organismo responsable de los casos de enfermedad era el mismo que estaba presente en los lotes sospechosos de espinacas vendidos por todo el país.

Aunque se llegó a relacionar el campo próximo a la planta de procesamiento con el brote, la fuente exacta del brote no pudo determinarse. En ese campo identificado existían cerdos asilvestrados y ganado doméstico, y los pozos contaminados o las aguas superficiales usadas para el riego pudieron introducir al patógeno en el campo y finalmente en las espinacas. Sin embargo, cualquiera que fuera la fuente primaria, parece claro su origen animal pues *E. coli* es un organismo entérico que sólo se encuentra en la naturaleza en el intestino de los animales de sangre caliente.

La parte alentadora de este relato es que la epidemia de las espinacas, aunque resultó grave e incluso mortal para algunos, se detectó, limitó y detuvo muy rápidamente. Este incidente muestra cómo las instalaciones centralizadas de alimentos pueden extender enfermedades muy deprisa entre poblaciones muy distantes. Los estándares de higiene alimenticia en estas grandes instalaciones de procesamiento y distribución deben mantenerse al nivel más alto posible y se deben realizar análisis microbiológicos cuidadosos y fiables de los productos alimenticios para evitar futuros brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos.

elibromedicina.com

mediante la determinación de fragmentos polimórficos de restricción y electroforesis en gel en campo pulsante. Los brotes de *E. coli* O157:H7 se registran a través de la división PulseNet de los CDC.

El tratamiento frente a E. coli O157:H7 y otras EHEC incluye terapia de apoyo y control de la función renal, de la hemoglobina sanguínea y de las plaquetas. Los antibióticos pueden resultar perjudiciales porque pueden causar la liberación de grandes cantidades de verotoxina por la lisis de las células de *E. coli* que mueren por el tratamiento. Para otras infecciones por cepas patógenas de *E. coli*, el tratamiento supone normalmente una terapia de apoyo y, en los casos graves e invasivos, fármacos antimicrobianos para acortar y eliminar la infección.

Prevención de enfermedades por *Escherichia coli*

El modo más eficaz de evitar la infección por EHEC O157:H7 a través de alimentos es tener la seguridad de que la carne está cuidadosamente cocinada, lo que significa que debe aparecer gris o marrón y la salsa debe ser clara. Como se comentó anteriormente (Sección 37.2), en Estados Unidos se ha aprobado la irradiación de la carne picada como un medio aceptable para eliminar o reducir la infección de alimentos por bacterias, sobre todo porque *E. coli* O157:H7 se ha relacionado con varias epidemias de este tipo. En la preparación de alimentos como las hamburguesas, las plantas de producción a gran escala de este tipo de alimentos pueden mezclar y picar conjuntamente carne de centenares o miles de animales y el proceso puede distribuir el patógeno desde un único animal infectado a toda la carne. La radiación penetrante se considera el único medio eficaz para asegurar la descontaminación.

En general, un manejo adecuado de los alimentos, la purificación del agua, y las precauciones higiénicas apropiadas son medidas que evitan la difusión de las cepas patógenas de *E. coli*. La diarrea del viajero puede evitarse eliminando el consumo de agua local y los alimentos no cocinados.

37.8 Minirrevisión

Escherichia coli enteropatogénica causa muchas infecciones alimenticias. La contaminación de los alimentos con material fecal difunde las cepas patógenas. La práctica de una buena higiene y algunas medidas específicas, como la irradiación de la carne picada, puede frenar la extensión de estos patógenos.

- Describa la patología de infecciones alimenticias debidas a cepas EHEC, ETEC, EPEC y EIEC de *Escherichia coli*.
- ¿Por qué se considera a *E. coli* O157:H7 un patógeno peligroso y de declaración obligatoria?

37.9 Campylobacter

Campylobacter spp. es la causa más frecuente de infecciones alimentarias en Estados Unidos. Las células de las especies de *Campylobacter* son gramnegativas, móviles, con forma de bacilos curvados o en espiral, y que crecen como organismos microaerófilos a bajas tensiones de oxígeno (*véanse* Secciones 6.17 y 15.14). Se conocen varias especies patógenas, como *Campylobacter jejuni* (**Figura 37.8**), *C. coli* y *C. fetus*. Los responsables de casi 2 millones de casos anuales de diarreas bacterianas son *C. jejuni* y *C. coli* (Tabla 37.6). *C. fetus* es la principal causa de esterilidad y aborto espontáneo en el ganado bovino y ovino.

Figura 37.8 ***Campylobacter jejuni.*** En esta micrografía electrónica de barrido, el bacilo curvado gramnegativo tiene 1 μm de diámetro.

Epidemiología y patología

Campylobacter se transmite al hombre por alimento contaminado, frecuentemente por pollo, cerdo, marisco crudo o por aguas superficiales. *C. jejuni* es un habitante normal del tracto intestinal de las aves; prácticamente todos los pollos y pavos tienen este organismo. Según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, hasta el 90% de los pavos y pollos y más del 30% de los cerdos en canal pueden estar contaminados con *Campylobacter*. La carne de vaca, por otra parte, raramente es un vehículo para este patógeno. Las especies de *Campylobacter* también infectan a animales domésticos, como perros, causando una forma de diarrea más suave que la que se observa en humanos. Las infecciones de los niños se deben con frecuencia a animales domésticos infectados, especialmente perros.

Después de que una persona ingiere células de *Campylobacter*, el organismo se multiplica en el intestino delgado, invade el epitelio y causa inflamación. Como *C. jejuni* es sensible a los ácidos gástricos, se pueden necesitar cantidades de células tan altas como 10^4 para iniciar la infección. Sin embargo, la ingestión directa del organismo en el alimento, o la ingestión por individuos que toman medicación para reducir la producción de ácido estomacal, puede reducir este número a menos de 500 bacterias. La infección por *Campylobacter* suele causar fiebre alta (por lo general superior a 40 °C), dolor de cabeza, malestar, náuseas, dolor abdominal y diarrea profusa con deposiciones acuosas que son frecuentemente sanguinolentas. La enfermedad decae en 7-10 días. A veces la recuperación espontánea de las infecciones por *Campylobacter* es completa, pero ocurren recaídas en el 25% de los casos.

Diagnóstico, tratamiento y prevención

El diagnóstico de la infección alimentaria por *Campylobacter* requiere el aislamiento del microorganismo de muestras de heces y su identificación por pruebas que dependen de su crecimiento o por pruebas inmunológicas. Las infecciones más graves por *C. jejuni* se presentan en niños. En estos casos el diagnóstico es importante; se han desarrollado medios de cultivo selectivos y métodos inmunológicos específicos para la identificación de este microorganismo. El tratamiento con eritromicina y quino-

www.medilibros.com

lonas puede ser útil en las primeras fases de la enfermedad diarreica aguda. Una higiene personal adecuada, el lavado cuidadoso de las aves no cocinadas (y del utensilio de cocina en contacto con ellas) y un calentamiento exhaustivo de la carne durante el cocinado elimina la contaminación de *Campylobacter*.

37.9 Minirrevisión

La infección por *Campylobacter* es la infección bacteriana más frecuente transmitida por la alimentación en Estados Unidos. Aunque normalmente esta enfermedad es autolimitante, afecta a casi 2 millones de personas por año.

- Describa la patología de la infección por *Campylobacter* ¿Cuál es el resultado?
- ¿Cómo podría controlarse la contaminación de productos alimenticios de origen animal por *Campylobacter*?

37.10 Listeriosis

Listeria monocytogenes causa la **listeriosis**, una infección intestinal que puede conducir a bacteremia y meningitis. *L. monocytogenes* es un cocobacilo corto, grampositivo, no formador de endosporas que es tolerante al ácido, a la sal y al frío, y es un anaerobio facultativo (*véase* Sección 16.1) (**Figura 37.9**).

Epidemiología y patología

L. monocytogenes se encuentra comúnmente en el suelo y en el agua; prácticamente ninguna fuente alimentaria está a salvo de una posible contaminación por *L. monocytogenes*. El alimento puede contaminarse en cualquier fase de su crecimiento o del procesamiento. La conservación por refrigeración, que normalmente reduce el crecimiento microbiano, resulta ineficaz para limitar el crecimiento de este organismo psicrotolerante. Los alimentos listos para comer, los quesos blandos frescos, los productos lácteos no pasteurizados, y la leche no correctamente pasteurizada son los principales vehículos de este patógeno incluso cuando los alimentos se mantienen a temperatura refrigerada (4 °C).

L. monocytogenes es un patógeno intracelular que entra en el cuerpo por el tracto gastrointestinal mediante la ingestión de alimento contaminado. La entrada del patógeno en los fagocitos da lugar al crecimiento y proliferación de la bacteria, la lisis de los fagocitos y la extensión a células adyacentes como los fibroblastos. La inmunidad frente a *L. monocytogenes* está mediada principalmente por células T_H1. La población que es particularmente susceptible son los ancianos, mujeres embarazadas, recién nacidos y personas con inmunosupresión (por ejemplo, pacientes de transplantes sometidos a terapia esteroidea y enfermos de SIDA).

Aunque la exposición a *L. monocytogenes* es sin duda muy frecuente, se estima que sólo hay unos 2.500 casos de listeriosis clínica cada año y menos de 1.000 son declarados. Casi todos los casos diagnosticados requieren hospitalización. La listeriosis aguda es rara y se caracteriza por septicemia, que origina con frecuencia meningitis, y una mortalidad del 20% o superior. Cada año se describen cerca de 32 muertes por listeriosis.

Diagnóstico, prevención y tratamiento

La listeriosis se diagnostica cultivando *L. monocytogenes* de la sangre o del líquido espinal. *L. monocytogenes* se puede identificar en los alimentos por cultivo directo o por métodos moleculares como el ribotipado y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Todos los aislamientos clínicos se analizan por electroforesis en campo pulsante para determinar subtipos moleculares. Los patrones de subtipos se envían a PulseNet de los CDC. El tratamiento intravenoso con antibióticos como penicilina, ampicilina o trimetoprim más sulfametoxiazol es el recomendado para la forma invasiva de la enfermedad.

Las medidas de prevención incluyen la retirada de los alimentos contaminados y el establecimiento de cuidados para limitar la contaminación de *L. monocytogenes* en el lugar de procesamiento del alimento. Como *L. monocytogenes* es sensible a las radiaciones y al calor, el alimento no cocinado y los utensilios de cocina se pueden descontaminar fácilmente. Sin embargo, sin la pasteurización del producto final, no puede eliminarse el riesgo de contaminación debido a la amplia distribución del patógeno.

Las personas que están inmunocomprometidas deberían abtenerse de tomar derivados lácteos no pasteurizados y carnes preparadas como alimentos listos para el consumo. El aborto espontáneo es un resultado frecuente de la listeriosis. Por consiguiente, para proteger al feto, las mujeres embarazadas deberían evitar los alimentos que pueden transmitir *L. monocytogenes*.

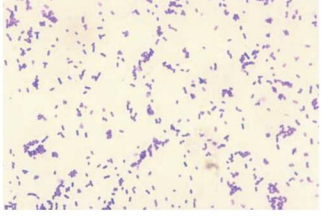


Figura 37.9 ***Listeria monocytogenes***. Esta tinción de Gram muestra cocobacilos grampositivos de unos 0,5 μm de diámetro.

37.10 Minirrevisión

Listeria monocytogenes es un microorganismo muy ubicuo en el medio ambiente. En individuos sanos, esta bacteria raramente causa infección. En cambio, en individuos inmunocomprometidos, *Listeria* causa una enfermedad grave e incluso la muerte.

- ¿Cuál es el resultado más probable de la exposición de un individuo normal a *Listeria*?
- ¿Qué poblaciones son las más susceptibles a la infección por *Listeria*? ¿Porqué?.

37.11 Otras enfermedades infecciosas transmitidas por alimentos

Otros microorganismos y agentes infecciosos (por ejemplo, priones) pueden contribuir a provocar enfermedades transmitidas por alimentos. Consideraremos unos cuantos ejemplos.

Bacterias

La Tabla 37.6 indica algunas bacterias que causan enfermedades alimentarias en el hombre y que no se han tratado en este capítulo. *Yersinia enterocolitica* se encuentra frecuentemente en el intestino de los animales domésticos y causa infecciones alimentarias debidas a carnes y productos lácteos contaminados. El resultado más grave de infección por *Y. enterocolitica* es la fiebre entérica, una infección grave y potencialmente letal. *Bacillus cereus* produce dos enterotoxinas que causan diarreas y vómitos. El organismo crece en alimentos cocinados que se han dejado enfriar lentamente a temperatura ambiente, como arroz, pastas, carnes o salsas. Las endosporas de este bacilo grampositivo germinan y se producen las toxinas. El recalentamiento puede matar a *B. cereus* pero la toxina puede permanecer activa. *B. cereus* también puede causar una infección alimenticia similar a la causada por *Clostridium perfringens*. Las especies de *Shigella* provocan casi 100.000 casos cada año de una grave gastroenteritis infecciosa denominada *shigelosis*. Varios miembros del género *Vibrio* causan intoxicaciones alimenticias es personas que consumen marisco contaminado.

Virus

Se cree que el mayor número de infecciones alimentarias está causado por virus. En general, las infecciones víricas se manifiestan como gastroenteritis con diarreas que frecuentemente se acompañan de náuseas y vómitos. La recuperación es espontánea y rápida, normalmente en 24-48 horas («el virus de las 24 horas»). Los norovirus (**Figura 37.10**) son los responsables de la mayoría de estas infecciones alimentarias leves en Estados Unidos (Tabla 37.6) y originan más de 9 millones de los 13 millones de casos de enfermedades alimentarias que se calculan. Los rotavirus, astrovirus y virus de la hepatitis A causan, en conjunto, 100.000 casos anuales de enfermedad. Estos virus habitan en el intestino y a menudo se transmiten al alimento o al agua por materia fecal. Como ocurre con otras muchas infecciones transmitidas por los alimentos, para evitar la infección es esencial un manejo adecuado de los alimentos, lavarse las manos y una fuente de agua limpia para preparar los alimentos.

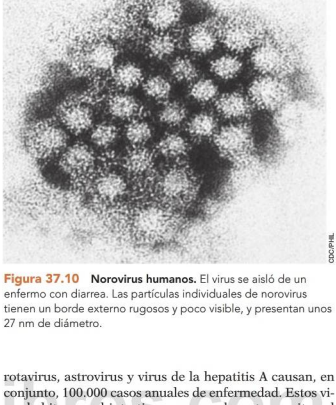
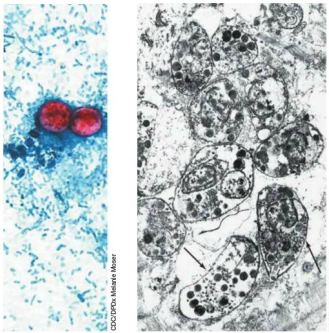


Figura 37.10 **Norovirus humanos.** El virus se aisló de un enfermo con diarrea. Las partículas individuales de norovirus tienen un borde externo rugosos y poco visible, y presentan unos 27 nm de diámetro.

Protozoos

En la Tabla 37.6 se recogen protozoos importantes que se transmiten por los alimentos. Los protozoos como *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum* (*véanse* Figuras 36.13 y 36.14) y *Cyclospora cayetanenesis* (**Figura 37.11a**) se pueden difundir en alimentos contaminados con materia fecal cuando se utiliza agua no tratada para lavar, irrigar, o rociar las cosechas. Los alimentos frescos, como las frutas, están a menudo implicados como origen de enfermedad por estos protozoos. Comentamos la giardiasis y la criptococosis como enfermedades transmitidas por el agua (*véase* Sección 36.6). La ciclosporiasis es una gastroenteritis aguda y es una importante enfermedad emergente. En Estados Unidos, la mayor parte de los casos se adquieren al comer productos frescos importados de otros países.

Toxoplasma gondii (Figura 37.11*b*) es un protozoo que se propaga a través de las heces de gato y que también se encuentra en carne cruda o poco cocinada. En la mayoría de las personas, la toxoplasmosis es una enfermedad leve en forma de gastroenteritis autolimitada. Sin embargo, la infección prenatal puede conducir a una toxoplasmosis aguda grave con resultado final de implicaciones tisula-



(a) (b)

Figura 37.11 Protozoos transmitidos por alimentos. *(a)* Oocistos de *Cyclospora cayetanensis* en una muestra de heces de un enfermo afectado. Los oocistos están teñidos de rojo con safranina y miden 8-10 μm de diámetro. *(b)* Taquizoitos de *Toxoplasma gondii*, un parásito intracelular. En esta micrografía electrónica de transmisión, los taquizoitos están en una estructura semejante a un quiste dentro de un miocito del corazón. Los taquizoitos son de forma generalmente alargada o semilunar, con cerca de 4-7 μm de largo y 2-4 μm de ancho.

res, formación de quistes y complicaciones como miocarditis, ceguera y muerte del feto en el parto. En personas inmunocomprometidas, como enfermos de SIDA, se puede presentar una toxoplasmosis aguda. *T. gondii* crece intracelularmente y forma estructuras llamadas *taquizoitos* que llegan a lisar la célula e infectar a células vecinas, causando destrucción tisular. Los taquizoitos pueden atravesar la placenta e infectar al feto. Las infecciones por toxoplasma en individuos inmunocomprometidos se pueden tratar con el fármaco antiprotozoario pirimetamina.

Priones, BSE y enfermedad nvCJD

Los *priones* son proteínas, probablemente con un origen derivado del hospedador, que adoptan conformaciones nuevas de modo que inhiben la función de proteínas normales y causan la degeneración del sistema nervioso (*véase* Sección 10.15). Las enfermedades humanas por priones se caracterizan por síntomas neurológicos, como depresión progresiva, pérdida de la coordinación motora y demencia.

Una enfermedad priónica en el hombre, conocida como «nueva variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob» (nvCJD), se ha relacionado con el consumo de carne de ganado bovino afectado de *encefalopatía bovina espongiforme* (BSE, del inglés *bobine spongiform encephalopathy*), la enfermedad priónica llamada comúnmente «enfermedad de las vacas locas». La enfermedad nvCJD es un lento desorden degenerativo del sistema nervioso que tiene un período dilatado de latencia que se extiende a años después de la exposición al prión de la BSE. En Gran Bretaña y otros países europeos, casi 200 personas han adquirido la enfermedad nvCJD. Sin embargo, esta enfermedad relacionada con el consumo de carne no se ha observado en Estados Unidos. Los priones de la BSE consumidos con los productos cárnicos derivados de ganado infectado inducen en las proteínas análogas del hombre una conformación alterada que origina una disfunción y la enfermedad (*véase* Figura 10.23). Las fases terminales, tanto en la BSE como en la nvCJD, se caracterizan por grandes vacuolas en el tejido cerebral que dan al cerebro un aspecto «esponjoso», de donde deriva el nombre de BSE (**Figura 37.12**).

En el Reino Unido y en Europa, se han diagnosticado con BSE unas 180.000 reses. En Estados Unidos, los cerebros de las reses sacrificadas para consumo se analizan rutinariamente para BSE y se han encontrado varios casos en el ganado canadiense y estadounidense. Tanto en Europa como en América del Norte, todo ganado sospechoso de tener BSE se elimina. La prohibición de alimentar al ganado con piensos de carnes y huesos de desecho parece haber detenido el desarrollo de nuevos casos de BSE en Europa y mantenido la baja incidencia de esta enfermedad en América del Norte. Los priones infectivos probablemente se transmitían a los animales de producción cárnica a través de la comida de carnes y huesos derivados de ganado infectado o de otros animales no autorizados para consumo humano.

El diagnóstico de la BSE se realiza probando una cepa de ratón que es susceptible a los priones o mediante análisis inmunohistoquímico o micrográfico de tejido nervioso obtenido en biopsias (Figura 37.12)

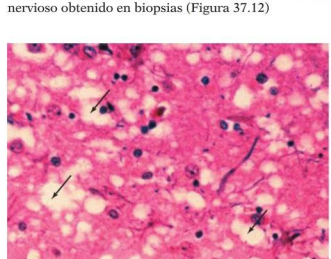


Figura 37.12 Sección del cerebro de una vaca con encefalopatía espongiforme bovina (BSE). Las vacuolas que aparecen como agujeros (flechas) dan al cerebro de los animales infectados una característica apariencia esponjosa.

37.11 Minirrevisión

Más de 200 agentes infecciosos diferentes causan enfermedades transmisibles por alimentos. Los virus causan la mayoría de las infecciones alimentarias. No obstante, las bacterias, los protozoos y los priones también causan enfermedades alimentarias significativas.

- Identifique virus, bacterias y protozoos causantes de enfermedades que se transmiten por los alimentos.
- ¿Cómo se puede evitar en Estados Unidos la contaminación por priones de animales dedicados a la producción cárnica?

Glosario de términos

Actividad de agua (a_w): disponibilidad de agua para ser utilizada en procesos metabólicos.

Alimento no perecedero: alimento con baja actividad de agua que tiene una vida media dilatada y resiste al deterioro por microorganismos.

Alimento perecedero: alimento fresco que generalmente tiene una elevada actividad de agua y una vida media muy corta debido a su potencial deterioro por el crecimiento de microorganismos.

Alimento semiperecedero: alimento con actividad de agua intermedia que tiene una vida media limitada debido a su potencial deterioro por el crecimiento de microorganismos

Botulismo: intoxicación alimenticia debida a la ingestión de alimento que contienen la toxina botulínica producida por *Clostridium botulinum*.

Deterioro alimenticio: cambio en la apariencia, olor o sabor de un alimento que lo hace inaceptable para el consumidor.

Encurtido: proceso de acidificación del alimento para evitar el crecimiento microbiano y el deterioro.

Enlatado: proceso de envasar el alimento en un recipiente cerrado y calentarlo para destruir organismos vivos y endosporas.

Fermentación: catabolismo anaerobio de compuestos orgánicos, generalmente carbohidratos, en ausencia de un aceptor externo de electrones.

Infección alimenticia: enfermedad causada por la infección activa que resulta de la ingestión de un alimento contaminado por el patógeno.

Intoxicación alimenticia (envenenamiento alimenticio): enfermedad causada por la ingestión de un alimento que ya contiene preformadas las toxinas microbianas.

Irradiación: exposición de alimentos a radiación ionizante para inhibir el crecimiento de microorganismos o de plagas de insectos, o para retrasar la maduración.

Liofilización: extracción al vacío de todo el agua de un alimento congelado.

Listeriosis: infección alimenticia gastrointestinal causada por *Listeria monocytogenes* que puede terminar en bacteremia y meningitis.

Salmonelosis: enterocolitis causada por cualquiera de las más de 2.000 variantes de *Salmonella* spp.

Preguntas de repaso

1. Identifique y defina las tres categorías más importantes de alimentos con respecto a su carácter perecedero (Sección 37.1).
2. Identifique los métodos principales de conservación de alimentos. Ponga un ejemplo de alimento conservado por cada método (Sección 37.2).
3. Señale las principales clases de alimentos fermentados (Sección 37.3).
4. Diferencie entre infección alimentaria e intoxicación alimentaria (Sección 37.4).
5. Describa la patogénesis de la intoxicación alimentaria por estafilococos. Sugiera métodos para evitar esta enfermedad (Sección 37.5).
6. Comente los dos tipos relevantes de intoxicación alimentaria por clostridios. ¿Cuál es más frecuente? ¿Cuál es más peligrosa? ¿Por qué (Sección 37.6)?
7. ¿Cuáles son las posibles fuentes de infección para la presencia de *Salmonella* en los alimentos (Sección 37.7)?
8. ¿Qué medidas pueden controlar la inoculación y el crecimiento de *Escherichia coli* O157:H7 en la carne picada (Sección 37.8)?
9. *Campylobacter* causa más infecciones alimentarias que ninguna otra bacteria. Señale al menos una razón que apoye la veracidad de esta afirmación (Sección 37.9).
10. Identifique las fuentes alimentarias de las infecciones por *Listeria monocytogenes*. Señale los individuos que presentan mayor riesgo para adquirir listeriosis (Sección 37.10).
11. ¿Por qué se asocian tan frecuentemente los virus con las enfermedades transmitidas por los alimentos (Sección 37.11)?

Ejercicios prácticos

1. Señale las condiciones óptimas de conservación para los alimentos perecederos, semiperecederos y no perecederos. Considere factores económicos como el coste de los conservantes, el espacio de almacenamiento y el valor intrínseco del alimento concreto.
2. Elija un alimento y diseñe un procedimiento para conservarlo reduciendo la actividad del agua sin secarlo.
3. La intoxicación alimentaria por ingestión de *Clostridium perfringens* implica su crecimiento y esporulación en el intestino del hospedador. La esporulación induce la producción de toxina. ¿Esta enfermedad es una verdadera intoxicación alimentaria o podría ser considerada como una infección alimentaria? Razone la respuesta.
4. La incorrecta manipulación de ensaladillas con patata es a menudo la causa de la intoxicación por estafilococos o de salmonelosis. Explique los modos por los que una ensaladilla puede resultar inoculada por *Staphylococcus aureus* o *Salmonella* spp.
5. *Clostridium botulinum* necesita un ambiente anaeróbico para la producción de la toxina botulínica. Señale métodos de conservación de alimentos que creen un ambiente anaeróbico necesario para el crecimiento de *C. botulinum*. A la inversa, identifique métodos de conservación que creen un ambiente aeróbico que impida su crecimiento. ¿Qué otros factores determinan el crecimiento de *C. botulinum*?
6. Indique qué precauciones son necesarias para evitar infecciones con cepas patógenas de *Escherichia coli*. Haga referencia a *E. coli* O157:H7 y a las prácticas de seguridad en la manipulación de alimentos, cocinado y consumo.
7. Diseñe un plan para eliminar a *Campylobacter* de un gallinero o del producto terminal de la carne de ave. Explique las ventajas de un gallinero libre de *Campylobacter* y comente los problemas que podría encontrar en su plan.
8. Normalmente la listeriosis sólo ocurre cuando existe un descenso en la inmunidad celular mediada por T_H1. Indique la razón. Diseñe una vacuna de protección contra la listeriosis. ¿Se trataría de una cepa bacteriana inactivada o de su producto, o de una cepa atenuada? Comente la razón. ¿Utilizaría su vacuna en la población propensa a la listeriosis?
9. Indique los motivos para la frecuencia tan alta de enfermedades víricas transmitidas por alimentos, especialmente las de los norovirus. Diseñe un plan para la eliminación de los norovirus del suministro de alimentos.
10. Comente los problemas inherentes al rastreo de un agente de una infección latente como el prión de la BSE ¿Pueden eliminarse las enfermedades producidas por priones? ¿Cómo?

www.medilibros.com

La información contenida en este Apéndice pretende servir de ayuda para calcular los cambios de energía libre que acompañan a las reacciones químicas que realizan los microorganismos. El apéndice comienza con las definiciones de los términos que se requieren para realizar dichos cálculos y muestra cómo conocer el potencial rédox, el equilibrio atómico y de carga, y otros factores, necesarios para calcular adecuadamente problemas de energía libre.

I. DEFINICIONES

1. ΔG^0 = cambio de energía libre estándar de la reacción a 1 atm de presión y 1 M de concentración; ΔG = cambio de energía libre bajo las condiciones especificadas; $\Delta G^{0\prime}$ = cambio de energía libre bajo condiciones estándar a pH 7.
2. Cálculo de ΔG^0 para una reacción química a partir de la energía libre de formación, ΔG_f^0, de sustancias reactantes y productos:

$$\Delta G^0 = \Sigma \Delta G_f^0 \text{ (productos)} - \Sigma \Delta G_f^0 \text{ (reactantes)}$$

   Es decir, el sumatorio de ΔG_f^0 de los productos, el sumatorio ΔG_f^0 de los reactantes y restar el último valor del primero.
3. Para las reacciones energéticas en las que están implicados H^+, se debe pasar de las condiciones estándar (pH 0) a las condiciones celulares (pH 7):

$$\Delta G^{0\prime} = \Delta G^0 + m\Delta G_f^0\,(H^+)$$

   donde m, es el número neto de protones en la reacción (m es negativo cuando se consumen más protones de los que se forman) y ΔG_f^0 (H^+) es la energía libre de formación de un protón a pH 7 (−39,87 kJ) a 25 °C.
4. Efecto de la concentración sobre ΔG: con sustratos solubles, la relación entre las concentraciones de los productos formados y de los sustratos exógenos consumidos es normalmente igual o mayor que 10^{-2} al principio del crecimiento, e igual o menor que 10^{-2} al final del crecimiento. A partir de la relación existente entre ΔG y la constante de equilibrio (véase el punto 8), se puede calcular que en la práctica el cambio de energía libre difiere, en condiciones estándar, 11,7 kJ, una cantidad más bien pequeña, por tanto y como aproximación, se puede usar la energía libre estándar en la mayoría de los casos. Sin embargo, con H_2 como producto, la presencia de bacterias consumidoras de H_2 puede mantener la concentración de H_2 tan baja que el resultado final de la energía libre puede estar significativamente afectado. Por ejemplo, en la fermentación de etanol a acetato y H_2 por bacterias sintróficas ($C_2H_5OH + H_2O \longrightarrow C_2H_3O_2^- + 2\,H_2 + H^+$), la $\Delta G^{0\prime}$ a 1 atm de H_2, es +9,68 kJ, pero a 10^{-4} atm de H_2 es −36,03 kJ. Por consiguiente, en presencia de bacterias que consumen H_2, la fermentación de etanol es exergónica (véase también el punto 9).
5. Potenciales de reducción: convencionalmente, las ecuaciones redox se escriben en la dirección oxidante + ne^- ⟶ reductor (es decir, como reducciones), donde n es el número de electrones transferidos. El potencial estándar (E_0) del hidrógeno, $2H^+ + 2\,e^- \longrightarrow H_2$, se fija por definición a 0,0 V a 1,0 atm de presión de gas H_2 y 1,0 M H^+ a 25 °C. E_0' es el potencial estándar de reducción a pH 7. Véase también la Tabla A1.2.
6. Relación entre la energía libre y el potencial de reducción:

$$\Delta G^{0\prime} = -nF\Delta E_0'$$

   donde n, es el número de electrones transferidos; F, es la constante de Faraday (96,48 kJ/V), y $\Delta E_0'$ es el E_0' del par aceptor de electrones menos el E_0' del par donador de electrones.
7. Constante de equilibrio, K. Para la reacción general $aA + bB \rightleftharpoons cC + dD$,

$$K = \frac{[C]^c[D]^d}{[A]^a[B]^b}$$

   donde A, B, C y D, representan los reactantes y los productos y a, b, c y d el número de moléculas en cada uno; Los corchetes indican las concentraciones. Esto sólo se cumple cuando el sistema químico está en equilibrio.
8. Relación entre la constante de equilibrio, K, y el cambio de energía libre. A temperatura y presión constantes y pH,

$$\Delta G = \Delta G^{0\prime} + RT \ln K$$

   donde R es una constante (8,29 J/mol/°K) y T es la temperatura absoluta (°K).
9. Dos sustancias pueden reaccionar en una reacción redox incluso si sus potenciales estándar son desfavorables, si las concentraciones son las adecuadas.

Supongamos que la forma reducida de A cede normalmente electrones a la forma oxidada de B. Sin embargo, si la concentración de la forma reducida de A fuera baja y la concentración de la forma reducida de B fuera alta, sería posible que la forma reducida de B cediera electrones a la forma oxidada de A. Por tanto, la reacción tendría lugar en dirección opuesta a la predicha a partir de los potenciales estándar. Un ejemplo práctico de esto es la utilización de H^+ como aceptor de electrones para producir H_2. Normalmente, la producción de H_2 por bacterias fermentativas no es grande debido a que H^+ es un aceptor débil de electrones; el E_0' del par $2H^+/H_2$ es −0,41 V. Sin embargo, si la concentración de H_2 se mantiene baja porque se elimina continuamente (un proceso realizado por las *Archaea* metanogénicas, que utilizan $H_2 + CO_2$ para producir metano, CH_4, o muchos otros anaerobios capaces de consumir H_2 anaeróbicamente), el potencial será más positivo, y entonces los H+ servirán como aceptor de electrones.

II. ESTADO O NÚMERO DE OXIDACIÓN

1. El estado de oxidación de un elemento en una sustancia elemental (por ejemplo H_2, O_2) es cero.

www.medilibros.com

2. El estado de oxidación del ión de un elemento es igual al de su carga (por ejemplo, $Na^+ = +1$, $Fe^{3+} = +3$; $O^{2-} = -2$).
3. La suma de los números de oxidación de todos los átomos en una molécula neutra es cero. Así, H_2O es neutra porque tiene dos H con +1 cada uno, y un O con −2.
4. En un ión, la suma de los números de oxidación de todos los átomos es igual a la carga del ión. Así, en el ión OH^-, O(−2) + H(+1) = −1.
5. En compuestos, el estado de oxidación del O es casi siempre −2 y el de H es +1.
6. En compuestos del carbono simples, el estado de oxidación de C se puede calcular sumando los átomos de H y O presentes y usando los estados de oxidación de estos elementos como se indica en el punto 5, ya que en un compuesto neutro la suma de todos los números de oxidación debe ser cero. Por ejemplo, el estado de oxidación del carbono en el metano, CH_4, es −4 (4 H a +1 cada uno = +4); en el dióxido de carbono, CO_2, el estado de oxidación del carbono es +4 (2 O a −2 cada uno = −4).
7. En los compuestos orgánicos con más de un átomo de C, puede que no sea posible asignar a cada átomo de C un número de oxidación específico, pero es útil calcular el estado de oxidación del compuesto en su conjunto. Se utilizan las mismas convenciones. Por tanto, el estado de oxidación del carbono en la glucosa, $C_6H_{12}O_6$, es cero (12 H a +1 = 12; 6 O a −2 = −12) y el estado de oxidación del carbono en el etanol, C_2H_6O, es −2 cada uno (6 H a +1 = +6; un O a −2).
8. En todas las reacciones de oxidación-reducción hay un equilibrio entre los productos oxidados y reducidos. Para calcular un equilibrio de oxidación-reducción, se multiplica el número de moléculas de cada producto por su estado de oxidación. Por ejemplo, para calcular el equilibrio de oxidación de la fermentación alcohólica, hay dos moléculas de etanol a −4 = −8 y dos moléculas de CO_2 a +4 = +8, de modo que el balance neto es cero. Cuando se diseñan reacciones modelo es útil calcular los equilibrios redox para estar seguros de que la reacción es posible.

II. CÁLCULO DE LA PRODUCCIÓN DE ENERGÍA LIBRE EN REACCIONES HIPOTÉTICAS

La producción de energía puede calcularse a partir de las energías libres de formación de los reactantes y productos, o a partir de las diferencias parciales en la reducción de potenciales de las reacciones de donador de electrones y aceptor de electrones.

Cálculos a partir de la energía libre

Las energías libres de formación se presentan en la **Tabla A1.1**. A continuación se indica el procedimiento para el cálculo de los valores de energía libre.

1. *Equilibrio de las reacciones.* En todos los casos, es esencial comprobar que la reacción de óxido-reducción acoplada está equilibrada. El equilibrio depende de tres cosas: (a) el *número total de átomos de cada clase* debe ser idéntico a ambos lados de la ecuación; (b) debe haber un *equilibrio iónico*, esto es, si se añaden iones positivos o negativos al lado derecho de la ecuación, la carga iónica total (positiva, negativa o neutra) debe estar equilibrada la carga iónica del lado izquierdo de la ecuación; y (c) debe existir un *equilibrio en la oxidación-reducción*, de manera que, todos los electrones cedidos por una sustancia deben ser transferidos a otra sustancia. En general, cuando se equilibran las reacciones se sigue el orden inverso a los pasos indicados. Normalmente, si los pasos (c) y (b) han operado de forma apropiada, el paso (a) es automáticamente correcto.
2. *Ejemplos.* (a) ¿Cuál es la reacción de equilibrio para la oxidación del H_2S a SO_4^{2-} con presencia de O_2? Primero, se calculará cuántos electrones están implicados en la oxidación de H_2S a SO_4^{2-}. Esto se puede deducir fácilmente a partir de los estados de oxidación de los compuestos, utilizando las reglas anteriormente mencionadas. Como el H tiene un estado de oxidación de +1, el estado de oxidación del S en H_2S es −2. Como el O tiene un estado de oxidación de −2, el estado de oxidación del S en SO_4^{2-} es +6 (como es un ión se deben utilizar las reglas 4 y 5 de la sección anterior). Por tanto, la oxidación de H_2 a SO_4^{2-} implica a una *transferencia de 8 electrones* (de −2 a +6). Como cada átomo O puede aceptar dos electrones (el estado de oxidación del O en O_2 es cero, pero en el H_2O es de −2), esto significa que se requieren dos moléculas de oxígeno molecular, O_2, para proporcionar la capacidad suficiente como aceptor de electrones. Hasta este punto, sabemos que la reacción requiere 1 H_2S y 2 O_2 en el lado izquierdo de la ecuación, y 1 SO_4^{2-} en el lado derecho. Para conseguir el equilibrio iónico debemos tener dos cargas positivas en el lado derecho de la ecuación para compensar las dos cargas negativas del SO_4^{2-}. Por tanto, se añadirán $2H^+$ al lado derecho de la ecuación, la reacción global quedará del siguiente modo:

$$H_2S + 2O_2 \longrightarrow SO_4^{2-} + 2H^+$$

Puede comprobarse que esta ecuación también está equilibrada respecto al número total de átomos de cada clase en cada lado de la ecuación.

(b) ¿Cuál es la reacción equilibrada de la oxidación de H_2S a SO_4^{2-} con Fe^{3+} como aceptor de electrones? Acabamos de demostrar que en la oxidación de H_2S a SO_4^{2-} se necesita una transferencia de ocho electrones. La reducción de Fe^{3+} a Fe^{2+} solo necesita la transferencia de un electrón, por tanto se requerirán 8 Fe^{3+}. La reacción, en este punto, será como indica a continuación:

$$H_2S + 8Fe^{3+} \longrightarrow 8Fe^{2+} + SO_4^{2-} \quad \text{(no equilibrada)}$$

En este caso, el equilibrio iónico no es correcto. Tenemos 24 cargas positivas en la parte izquierda de la ecuación y 14 cargas positivas a la derecha (16+ del Fe, 2− del sulfato). Para igualar las cargas, se deben añadir 10 $H+$ a la derecha, de modo que la ecuación es de esta forma:

$$H_2S + 8Fe^{3+} \longrightarrow 8Fe^{2+} + 10H^+ + SO_4^{2-} \text{ (no equilibrada)}$$

Para aportar los hidrógenos necesarios para $H+$ y el oxígeno para el sulfato, se añaden 4 H_2O en la parte izquierda y ahora la reacción está equilibrada:

$$H_2S + 4H_2O + 8Fe^{3+} \longrightarrow 8Fe^{2+} + 10H^+ + SO_4^{2-} \quad \text{(equilibrada)}$$

En general, en las reacciones microbiológicas, el equilibrio iónico se consigue añadiendo H^+ o OH^- al lado

izquierdo o derecho de la ecuación, y como todas las reacciones tienen lugar en medio acuoso, se añaden tantas moléculas de H_2O como sean necesarias. La adición de H^+ o OH^- depende de si la reacción ocurre en condiciones ácidas o alcalinas.

3. *Cálculo de la producción de la energía para las ecuaciones equilibradas a partir de las energías libres de formación.* Una vez que una reacción ha sido equilibrada, la energía libre producida, puede calcularse mediante inserción de los valores de energía libre de formación de cada reactante y producto indicados en la Tabla A1.1 y utilizando la fórmula del punto 2 de la primera sección de este apéndice.

Por ejemplo, en la ecuación

$$H_2S + 2\,O_2 \longrightarrow SO_4^{2-} + 2\,H^+$$

$$G_f^0 \text{ valores} \longrightarrow (-27{,}87) + (0) \quad (-744{,}6) + 2\ (-39{,}83)$$

(si se supone pH 7)

$$\Delta G^{0\prime} = -796{,}39 \text{ kJ}$$

Los valores G_f^0 de los productos se suman (lado derecho de la ecuación) y se restan los valores G_f^0 de los reactantes (lado izquierdo de la ecuación), asegurándose de que los signos aritméticos son correctos. A partir de los datos de la Tabla A1.1 se puede calcular la energía libre producida en una gran variedad de reacciones de interés microbiológico.

Cálculos de la producción de energía libre a partir del potencial de reducción

En la **Tabla A1.2** se especifican los potenciales de reducción de algunos pares redox más importantes. La cantidad de energía que se puede liberar de dos semireacciones acopladas puede calcularse a partir de las diferencias de los potenciales de reducción de dos reacciones y del número de electrones transferidos. Cuanto mayor sea la diferencia entre las dos semirreacciones y mayor sea el número de los electrones transferido, mayor será la cantidad de energía liberada.

La conversión de la diferencia de potencial a energía libre viene determinada por la fórmula $\Delta G^{0\prime} = -nF\Delta E_0'$, donde n es el número de electrones, F es la constante de Faraday (96,48 kJ/V) y $\Delta E_0'$ es la diferencia de los potenciales. Por tanto, el par $2H^+/H_2$, tiene un potencial de −0,41 V y el par $\frac{1}{2}O_2/H_20$ tiene un potencial de +0,82 V, de manera que la diferencia de potencial es 1,23 V, que es equivalente (porque hay dos electrones implicados) a la energía libre producida ($\Delta G^{0\prime}$) de −237,34 kJ. Por otro lado, la diferencia de potencial entre las reacciones $2H^+/H_2$ y NO_3^-/NO_2^- es menor, 0,84V, que equivale a una energía libre producida de −162,08 kJ.

Como muchas reacciones bioquímicas son transferencias de dos electrones, suele ser útil dar las energías producidas para reacciones con dos electrones, aunque estén implicados más electrones. Por ejemplo, en el par redox SO_4^{2-}/H_2 están implicados ocho electrones, y la reducción completa de SO_4^{2-} con H_2 requiere 4 H_2 (equivalente a ocho electrones). De la diferencia de potencial entre $2H^+/H_2$ y SO_4^{2-}/H_2S (0,19V), se puede calcular una energía libre producida es −146,64 kJ, o −36,66 kJ por cada dos electrones. Por convención, los potenciales de reducción se dan para condiciones en que están presentes concentraciones iguales de formas oxidadas y reducidas. En la práctica real, las concentraciones de estas dos formas pueden ser bastante diferentes. Como se ha comentado (sección I, punto 9), es posible acoplar semirreacciones aunque la diferencia de potencial sea desfavorable, si las concentraciones de las especies reactantes son las adecuadas.

Tabla A1.1 Energías libres de formación, G_f^0, para algunos compuestos (kJ/mol)[a]

Compuesto de carbono	*Compuesto de carbono*	*Metal*	*No metal*	*Compuesto de nitrógeno*
CO, −137,34	Glutamina, −529,7	Cu^+, +50,28	H_2, 0	N_2, 0
CO_2, −394,4	Gliceraldehído, −437,65	Cu^{2+}, +64,94	H^+, 0 a pH 0;	NO, +86,57
CH_4, −50,75	Glicerato, −658,1	CuS, −49,02	−39,83 a pH 7	NO_2, +51,95
H_2CO_3, −623,16	Glicerol, −488,52	Fe^{2+}, −78,87	(−5,69 por unidad de pH)	NO_2^-, −37,2
HCO_3^-, −586,85	Glicina, −314,96	Fe^{3+}, −4,6	O_2, 0	NO_3^-, −111,34
CO_3^{2-}, −527,90	Glicolato, −530,95	$FeCO_3$, −673,23	OH^-, −157,3 a pH 14;	NH_3, −26,57
Acetaldehído, −139,9	Glioxalato, −468,6	FeS_2, −150,84	−198,76 a pH 7;	NH_4^+, −79,37
Acetato, −369,41	Guanina, +46,99	$FeSO_4$, −829,62	−237,57 a pH 0	N_2O, +104,18
Acetona, −161,17	α-Cetoglutarato, −797,55	PbS, −92,59	H_2O, −237,17	
Alanina, −371,54	Lactato, −517,81	Mn^{2+}, −227,93	H_2O_2, −134,1	
Arginina, −240,2	Lactosa, −1515,24	Mn^{3+}, −82,12	PO_4^{3-}, −1026,55	
Aspartato, −700,4	Malato, −845,08	MnO_4^-, −506,57	Se^0, 0	
Benzeno, +124,5	Manitol, −942,61	MnO_2, −456,71	H_2Se, −77,09	
Ácido benzoico, −245,6	Metanol, −175,39	$MnSO_4$, −955,32	SeO_4^{2-}, −439,95	
n-Butanol, −171,84	Metionina, −502,92	HgS, −49,02	S^0, 0	
Butirato, −352,63	Metilamina, −40,0	MoS_2, −225,42	SO_3^{2-}, −486,6	
Caproato, −335,96	Oxalato, −674,04	ZnS, −198,60	SO_4^{2-}, −744,6	
Citrato, −1168,34	Ácido palmítico, −305		$S_2O_3^{2-}$, −513,4	
o-Cresol, −37,1	Fenol, −47,6		H_2S, −27,87	
Crotonato, −277,4	*n*-Propanol, −175,81		HS^-, +12,05	
Cisteína, −339,8	Propionato, −361,08		S^{2-}, +85,8	
Dimetilamina, −3,3	Piruvato, −474,63			
Etanol, −181,75	Ribosa, −757,3			
Formaldehído, −130,54	Succinato, −690,23			
Formato, −351,04	Sacarosa, −370,90			
Fructosa, −951,38	Tolueno, +114,22			
Fumarato, −604,21	Trimetilamina, −37,2			
Gluconato, −1128,3	Triptófano, −112,6			
Glucosa, −917,22	Urea, −203,76			
Glutamato, −699,6	Valerato, −344,34			

[a] Los valores de energía libre de formación para varios compuestos se pueden hallar en Dean, J. A. 1973. *Lange's Handbook of Chemistry*, 11.ª edición. McGraw-Hill, New York; Carrels, R. M. y C. L. Christ, 1965. *Solutions, Minerals and Equilibria*. Harper y Row, New York; Burton, K. 1957. En Krebs, H. A., y H. L. Komberg. «Energy transformation in living matter», *Ergebrisse der Physiologie* (apéndice): Springer-Verlag, Berlin; y Thauer, R. K., K. Jungermann y H. Decker. 1977. Energy conservation in anaerobic chemotrophic bacteria, *Bacteriol Rev* 41:1002180.

www.edilibros.com

Tabla A1.2 Potenciales de reducción de importancia microbiológica[a]

Par redox	E_0' *(V)*
SO_4^{2-}/HSO_3^-	−0,52
CO_2/formato	−0,43
$2H^+/H_2$	−0,41
$S_2O_3^{2-}/HS^- + HSO_3^-$	−0,40
Ferredoxina ox/red	−0,39
Flavodoxina ox/red[b]	−0,37
NAD^+/NADH	−0,32
Citocromo c_3 ox/red	−0,29
CO_2/acetato$^-$	−0,29
S^0/HS^-	−0,27
CO_2/CH_4	−0,24
FAD/FADH	−0,22
SO_4^{2-}/HS^-	−0,217
Acetaldehído/etanol	−0,197
Piruvato$^-$/lactato$^-$	−0,19
FMN/FMNH	−0,19
Dihidroxiacetona fosfato/glicerolfosfato	−0,19
$HSO_3^-/S_2O_4^{2-}$	−0,17
Flavodoxina ox/red[b]	−0,12
HSO_3^-/HS^-	−0,116
Menaquinona ox/red	−0,075
APS/AMP + HSO_3^-	−0,060
Rubredoxina ox/red	−0,057
Acrilil-CoA/propionil-CoA	−0,015
Glicina/acetato$^-$ + NH_4^+	−0,010
$S_4O_6^{2-}/S_2O_3^{2-}$	+0,024
Fumarate^{2-}/succinate^{2-}	+0,033
Citocromo *b* ox/red	+0,035
Ubiquinona ox/red	+0,113
AsO_4^{3-}/AsO_3^{3-}	+0,139
Dimetil sulfóxido (DMSO)/dimetilsulfuro (DMS)	+0,16
$Fe(OH)_3$ + $HCO_3^-/FeCO_3$ (Fe^{3+}/Fe^{2+}, pH 7)	+0,20
$S_3O_6^{2-}/S_2O_3^{2-} + HSO_3^-$	+0,225
Citocromo c_1 ox/red	+0,23
NO_2^-/NO	+0,36
Citocromo a_3 ox/red	+0,385
Clorobenzoato$^-$ /benzoato$^-$ + HCl	+0,297
NO_3^-/NO_2^-	+0,43
SeO_4^{2-}/SeO_3^{2-}	+0,475
Fe^{3+}/Fe^{2+} (pH 2)	+0,77
Mn^{4+}/Mn^{2+}	+0,798
O_2/H_2O	+0,82
ClO_3^-/Cl^-	+1,03
NO/N_2O	+1,18
N_2O/N_2	+1,36

[a] Datos tomados de Thauer, R. K., K. Jungermann, y K. Decker, 1977. Energy conservation in anaerobic chemotrophic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 41:1002180.

[b] Se dan por separado los potenciales para cada transferencia de electrones, en su posible transferencia de dos electrones.

www.medilibros.com

www.medilibros.com

LISTA DE GÉNEROS Y TAXONES DE ORDEN SUPERIOR[a]

Dominio *Archaea*
Filum AI. *Crenarchaeota*
Clase I. *Thermoprotei*
Orden I. *Thermoproteales*
Familia I. *Thermoproteaceae*
Género I. *Thermoproteus*
Género II. *Caldivirga*
Género III. *Pyrobaculum*
Género IV. *Thermocladium*
Género V. *Vulcanisaeta*
Familia II. *Thermofilaceae*
Género I. *Thermofilum*
Orden II. *Caldisphaerales*
Familia I. *Caldisphaeraceae*
Género I. *Caldisphaera*
Orden III. *Desulfurococcales*
Familia I. *Desulfurococcaceae*
Género I. *Desulfurococcus*
Género II. *Acidilobus*
Género III. *Aeropyrum*
Género IV. *Ignicoccus*
Género V. *Staphylothermus*
Género VI. *Stetteria*
Género VII. *Sulfophobococcus*
Género VIII. *Thermodiscus*
Género IX. *Thermosphaera*
Familia II. *Pyrodictiaceae*
Género I. *Pyrodictium*
Género II. *Hyperthermus*
Género III. *Pyrolobus*
Orden IV. *Sulfolobales*
Familia I. *Sulfolobaceae*
Género I. *Sulfolobus*
Género II. *Acidianus*
Género III. *Metallosphaera*
Género IV. *Stygiolobus*
Género V. *Sulfurisphaera*
Género VI. *Sulfurococcus*
Filum AII. *Euryarchaeota*
Clase I. *Methanobacteria*
Orden I. *Methanobacteriales*
Familia I. *Methanobacteriaceae*
Género I. *Methanobacterium*
Género II. *Methanobrevibacter*
Género III. *Methanosphaera*
Género IV. *Methanothermobacter*
Familia II. *Methanothermaceae*
Género I. *Methanothermus*
Clase II. *Methanococci*
Orden I. *Methanococcales*
Familia I. *Methanococcaceae*
Género I. *Methanococcus*
Género II. *Methanothermococcus*
Familia II. *Methanocaldococcaceae*
Género I. *Methanocaldococcus*
Género II. *Methanotorris*
Clase III. *Methanomicrobia*
Orden I. *Methanomicrobiales*
Familia I. *Methanomicrobiaceae*
Género I. *Methanomicrobium*
Género II. *Methanoculleus*
Género III. *Methanofollis*
Género IV. *Methanogenium*
Género V. *Methanolacinia*
Género VI. *Methanoplanus*
Familia II. *Methanocorpusculaceae*
Género I. *Methanocorpusculum*
Familia III. *Methanospirillaceae*
Género I. *Methanospirillum*
Genera incertae sedis[b]
Género I. *Methanocalculus*
Orden II. *Methanosarcinales*
Familia I. *Methanosarcinaceae*
Género I. *Methanosarcina*
Género II. *Methanococcoides*
Género III. *Methanohalobium*
Género IV. *Methanohalophilus*
Género V. *Methanolobus*
Género VI. *Methanomethylovorans*
Género VII. *Methanimicrococcus*
Género VIII. *Methanosalsum*
Familia II. *Methanosaetaceae*
Género I. *Methanosaeta*
Clase IV. *Halobacteria*
Orden I. *Halobacteriales*
Familia I. *Halobacteriaceae*
Género I. *Halobacterium*
Género II. *Haloarcula*
Género III. *Halobaculum*
Género IV. *Halobiforma*
Género V. *Halococcus*
Género VI. *Haloferax*
Género VII. *Halogeometricum*
Género VIII. *Halomicrobium*
Género IX. *Halorhabdus*
Género X. *Halorubrum*
Género XI. *Halosimplex*
Género XII. *Haloterrigena*
Género XIII. *Natrialba*
Género XIV. *Natrinema*
Género XV. *Natronobacterium*
Género XVI. *Natrononoccus*
Género XVII. *Natronomonas*
Género XVIII. *Natronorubrum*
Clase V. *Thermoplasmata*
Orden I. *Thermoplasmatales*
Familia I. *Thermoplasmataceae*
Género I. *Thermoplasma*
Familia II. *Picrophilaceae*
Género I. *Picrophilus*
Familia III. *Ferroplasmaceae*
Género I. *Ferroplasma*
Clase VI. *Thermococci*
Orden I. *Thermococcales*
Familia I. *Thermococcaceae*
Género I. *Thermococcus*
Género II. *Palaeococcus*
Género III. *Pyrococcus*
Clase VII. *Archaeoglobi*
Orden I. *Archaeoglobales*
Familia I. *Archaeoglobaceae*
Género I. *Archaeoglobus*
Género II. *Ferroglobus*
Género III. *Geoglobus*
Clase VIII. *Methanopyri*
Orden I. *Methanopyrales*
Familia I. *Methanopyraceae*
Género I. *Methanopyrus*
Dominio *Bacteria*
Filum BI. *Aquificae*
Clase I. *Aquificae*
Orden I. *Aquificales*
Familia I. *Aquificaceae*
Género I. *Aquifex*
Género II. *Calderobacterium*
Género III. *Hydrogenobaculum*
Género IV. *Hydrogenobacter*
Género V. *Hydrogenothermus*
Género VI. *Persephonella*
Género VII. *Sulfurihydrogenibium*
Género VIII. *Thermocrinis*
Genera incertae sedis[b]
Género I. *Balnearium*
Género II. *Desulfurobacterium*
Género III. *Thermovibrio*
Filum BII. *Thermotogae*
Clase I. *Thermotogae*
Orden I. *Thermotogales*
Familia I. *Thermotogaceae*
Género I. *Thermotoga*
Género II. *Fervidobacterium*
Género III. *Geotoga*
Género IV. *Marinitoga*
Género V. *Petrotoga*
Género VI. *Thermosipho*
Filum BIII. *Thermodesulfobacteria*
Clase I. *Thermodesulfobacteria*
Orden I. *Thermodesulfobacteriales*
Familia I. *Thermodesulfobacteriaceae*
Género I. *Thermodesulfobacterium*
Género II. *Thermodesulfator*
Filum BIV. *Deinococcus-Thermus*
Clase I. *Deinococci*
Orden I. *Deinococcales*
Familia I. *Deinococcaceae*
Género I. *Deinococcus*
Orden II. *Thermales*
Familia I. *Thermaceae*
Género I. *Thermus*
Género II. *Marinithermus*
Género III. *Meiothermus*
Género IV. *Oceanithermus*
Género V. *Vulcanithermus*
Filum BV. *Chrysiogenetes*
Clase I. *Chrysiogenetes*
Orden I. *Chrysiogenales*
Familia I. *Chrysiogenaceae*
Género I. *Chrysiogenes*
Filum BVI. *Chloroflexi*
Clase I. *Chloroflexi*
Orden I. *Chloroflexales*
Familia I. *Chloroflexaceae*
Género I. *Chloroflexus*

[a] Los géneros y taxones de orden superior mostrados en esta lista representan los organismos reconocidos hasta el 2005. Los géneros o taxones superiores entrecomillados están reconocidos, pero sus nombres aún no se han validado. Como la taxonomía bacteriana se encuentra en continua evolución, la lista se actualiza cuando se describen nuevos géneros y especies y existen datos suficientes para incluirlos y realizar los cambios taxonómicos pertinentes. Para mayor información sobre la taxonomía bacteriana, *véanse* las Secciones 14.10-14.14. Para ver la lista publicada de los géneros y especies procariotas, consulte en http://www.bacterio.cict.fr/

[b] Taxones de afiliación no segura. *Incertae sedis,* nombre en latín de la posición no segura.

www.medicapros.com

Género II. *Chloronema*
Género III. *Heliothrix*
Género IV. *Roseiflexus*
Familia II. *Oscillochloridaceae*
Género I. *Oscillochloris*
Orden II. *Herpetosiphonales*
Familia I. *Herpetosiphonaceae*
Género I. *Herpetosiphon*
Clase II. *Anaerolineae*
Orden I. *Anaerolinales*
Familia I. *Anaerolinaceae*
Género I. *Anaerolinea*
Género II. *Caldilinea*
Filum BVII. *Thermomicrobia*
Clase I. *Thermomicrobia*
Orden I. *Thermomicrobiales*
Familia I. *Thermomicrobiaceae*
Género I. *Thermomicrobium*
Filum BVIII. *Nitrospirae*
Clase I. *Nitrospira*
Orden I. *Nitrospirales*
Familia I. *Nitrospiraceae*
Género I. *Nitrospira*
Género II. *Leptospirillum*
Género III. *Magnetobacterium*
Género IV. *Thermodesulfovibrio*
Filum BIX. *Deferribacteres*
Clase I. *Deferribacteres*
Orden I. *Deferribacterales*
Familia I. *Deferribacteraceae*
Género I. *Deferribacter*
Género II. *Denitrovibrio*
Género III. *Flexistipes*
Género IV. *Geovibrio*
Genera incertae sedis[b]
Género I. *Synergistes*
Género II. *Caldithrix*
Filum BX. *Cyanobacteria*
Clase I. *Cyanobacteria*
Subsección I. *Subsección 1*
Familia I. Familia 1.1
Género morfotipo I. *Chamaesiphon*[c]
Género morfotipo II. *Chroococcus*
Género morfotipo III. *Cyanobacterium*
Género morfotipo IV. *Cyanobium*
Género morfotipo V. *Cyanothece*
Género morfotipo VI. *Dactylococcopsis*
Género morfotipo VII. *Gloeobacter*
Género morfotipo VIII. *Gloeocapsa*
Género morfotipo IX. *Gloeothece*
Género morfotipo X. *Microcystis*
Género morfotipo XI. *Prochlorococcus*
Género morfotipo XII. *Prochloron*
Género morfotipo XIII. *Synechococcus*
Género morfotipo XIV. *Synechocystis*
Subsección II. *Subsección 2*
Familia I. Familia 2.1
Género morfotipo I. *Cyanocystis*
Género morfotipo II. *Dermocarpella*
Género morfotipo III. *Stanieria*
Género morfotipo IV. *Xenococcus*
Familia II. Familia 2.2
Género morfotipo I. *Chroococcidiopsis*
Género morfotipo II. *Myxosarcina*
Género morfotipo III. *Pleurocapsa*
Subsección III. *Subsección 3*
Familia I. Familia 3.1
Género morfotipo I. *Arthrospira*
Género morfotipo II. *Borzia*
Género morfotipo III. *Crinalium*
Género morfotipo IV. *Geitlerinema*
Género V. *Halospirulina*
Género morfotipo VI. *Leptolyngbya*
Género morfotipo VII. *Limnothrix*
Género morfotipo VIII. *Lyngbya*
Género morfotipo IX. *Microcoleus*
Género morfotipo X. *Oscillatoria*
Género morfotipo XI. *Planktothrix*
Género morfotipo XII. *Prochlorothrix*
Género morfotipo XIII. *Pseudanabaena*
Género morfotipo XIV. *Spirulina*
Género morfotipo XV. *Starria*
Género morfotipo XVI. *Symploca*
Género XVII. *Trichodesmium*
Género morfotipo XVIII. *Tychonema*
Subsección IV. *Subsección 4*
Familia I. Familia 4.1
Género morfotipo I. *Anabaena*
Género morfotipo II. *Anabaenopsis*
Género morfotipo III. *Aphanizomenon*
Género morfotipo IV. *Cyanospira*
Género morfotipo V. *Cylindrospermopsis*
Género morfotipo VI. *Cylindrospermum*
Género morfotipo VII. *Nodularia*
Género morfotipo VIII. *Nostoc*
Género morfotipo IX. *Scytonema*
Familia II. Familia 4.2
Género morfotipo I. *Calothrix*
Género morfotipo II. *Rivularia*
Género morfotipo III. *Tolypothrix*
Subsección V. *Subsección 5*
Familia I. Subsección 5.1
Género morfotipo I. *Chlorogloeopsis*
Género morfotipo II. *Fischerella*
Género morfotipo III. *Geitleria*
Género morfotipo IV. *Iyengariella*
Género morfotipo V. *Nostochopsis*
Género morfotipo VI. *Stigonema*
Filum BXI. *Chlorobi*
Clase I. *Chlorobia*
Orden I. *Chlorobiales*
Familia I. *Chlorobiaceae*
Género I. *Chlorobium*
Género II. *Ancalochloris*
Género III. *Chlorobaculum*
Género IV. *Chlorochromatium*
Género V. *Pelodictyon*
Género VI. *Prosthecochloris*
Filum BXII. *Proteobacteria*
Clase I. *Alphaproteobacteria*
Orden I. *Rhodospirillales*
Familia I. *Rhodospirillaceae*
Género I. *Rhodospirillum*
Género II. *Azospirillum*
Género III. *Inquilinus*
Género IV. *Magnetospirillum*
Género V. *Phaeospirillum*
Género VI. *Rhodocista*
Género VII. *Rhodospira*
Género VIII. *Rhodovibrio*
Género IX. *Roseospira*
Género X. *Skermanella*
Género XI. *Thalassospira*
Género XII. *Tistrella*
Familia II. *Acetobacteraceae*
Género I. *Acetobacter*
Género II. *Acidiphilium*
Género III. *Acidisphaera*
Género IV. *Acidocella*
Género V. *Acidomonas*
Género VI. *Asaia*
Género VII. *Craurococcus*
Género VIII. *Gluconacetobacter*
Género IX. *Gluconobacter*
Género X. *Kozakia*
Género XI. *Muricoccus*
Género XII. *Paracraurococcus*
Género XIII. *Rhodopila*
Género XIV. *Roseococcus*
Género XV. *Rubritepida*
Género XVI. *Stella*
Género XVII. *Teichococcus*
Género XVIII. *Zavarzinia*
Orden II. *Rickettsiales*
Familia I. *Rickettsiaceae*
Género I. *Rickettsia*
Género II. *Orientia*
Familia II. *Anaplasmataceae*
Género I. *Anaplasma*
Género II. *Aegyptianella*
Género III. *Cowdria*
Género IV. *Ehrlichia*
Género V. *Neorickettsia*
Género VI. *Wolbachia*
Género VII. *Xenohaliotis*
Familia III. *Holosporaceae*
Género I. *Holospora*
Genera incertae sedis[b]
Género I. *Caedibacter*
Género II. *Lyticum*
Género III. *Odyssella*
Género IV. *Pseudocaedibacter*
Género V. *Symbiotes*
Género VI. *Tectibacter*
Orden III. *Rhodobacterales*
Familia I. *Rhodobacteraceae*
Género I. *Rhodobacter*
Género II. *Ahrensia*
Género III. *Albidovulum*
Género IV. *Amaricoccus*
Género V. *Antarctobacter*
Género VI. *Gemmobacter*
Género VII. *Hirschia*
Género VIII. *Hyphomonas*
Género IX. *Jannaschia*
Género X. *Ketogulonicigenium*
Género XI. *Leisingera*
Género XII. *Maricaulis*
Género XIII. *Methylarcula*
Género XIV. *Oceanicaulis*
Género XV. *Octadecabacter*
Género XVI. *Pannonibacter*
Género XVII. *Paracoccus*
Género XVIII. *Pseudorhodobacter*
Género XIX. *Rhodobaca*
Género XX. *Rhodothalassium*
Género XXI. *Rhodovulum*
Género XXII. *Roseibium*
Género XXIII. *Roseinatronobacter*
Género XXIV. *Roseivivax*
Género XXV. *Roseobacter*
Género XXVI. *Roseovarius*
Género XXVII. *Rubrimonas*
Género XXVIII. *Ruegeria*
Género XXIX. *Sagittula*
Género XXX. *Silicibacter*
Género XXXI. *Staleya*
Género XXXII. *Stappia*
Género XXXIII. *Sulfitobacter*
Orden IV. *Sphingomonadales*

[c] Posición taxonómica de las cianobacterias en el Manual de Bergey no fijada totalmente. El término «género morfotipo» hace referencia a un grupo de cianobacterias con unas determinadas características morfológicas comunes a todas las encontradas en todo el mundo. Sin embargo, no todos los aislados con estas características deberían clasificarse dentro del mismo género. En algunos casos, no se dispone de los cultivos axénicos del género tipo.

www.microrao.com

Familia I. *Sphingomonadaceae*
Género I. *Sphingomonas*
Género II. *Blastomonas*
Género III. *Erythrobacter*
Género IV. *Erythromicrobium*
Género V. *Erythromonas*
Género VI. *Novosphingobium*
Género VII. *Porphyrobacter*
Género VIII. *Rhizomonas*
Género IX. *Sandaracinobacter*
Género X. *Sphingobium*
Género XI. *Sphingopyxis*
Género XII. *Zymomonas*
Orden V. *Caulobacterales*
Familia I. *Caulobacteraceae*
Género I. *Caulobacter*
Género II. *Asticcacaulis*
Género III. *Brevundimonas*
Género IV. *Phenylobacterium*
Orden VI. *Rhizobiales*
Familia I. *Rhizobiaceae*
Género I. *Rhizobium*
Género II. *Agrobacterium*
Género III. *Allorhizobium*
Género IV. *Carbophilus*
Género V. *Chelatobacter*
Género VI. *Ensifer*
Género VII. *Sinorhizobium*
Familia II. *Aurantimonadaceae*
Género I. *Aurantimonas*
Género II. *Fulvimarina*
Familia III. *Bartonellaceae*
Género I. *Bartonella*
Familia IV. *Brucellaceae*
Género I. *Brucella*
Género II. *Mycoplana*
Género III. *Ochrobactrum*
Familia V. *Phyllobacteriaceae*
Género I. *Phyllobacterium*
Género II. *Aminobacter*
Género III. *Aquamicrobium*
Género IV. *Fluvibacter*
Género V. *Candidatus Liberibacter*[d]
Género VI. *Mesorhizobium*
Género VII. *Nitratireductor*
Género VIII. *Pseudaminobacter*
Familia VI. *Methylocystaceae*
Género I. *Methylocystis*
Género II. *Albibacter*
Género III. *Methylopila*
Género IV. *Methylosinus*
Género V. *Terasakiella*
Familia VII. *Beijerinckiaceae*
Género I. *Beijerinckia*
Género II. *Chelatococcus*
Género III. *Methylocapsa*
Género IV. *Methylocella*
Familia VIII. *Bradyrhizobiaceae*
Género I. *Bradyrhizobium*
Género II. *Afipia*
Género III. *Agromonas*
Género IV. *Blastobacter*
Género V. *Bosea*
Género VI. *Nitrobacter*
Género VII. *Oligotropha*
Género VIII. *Rhodoblastus*
Género IX. *Rhodopseudomonas*
Familia IX. *Hyphomicrobiaceae*
Género I. *Hyphomicrobium*
Género II. *Ancalomicrobium*
Género III. *Ancylobacter*
Género IV. *Angulomicrobium*
Género V. *Aquabacter*
Género VI. *Azorhizobium*
Género VII. *Blastochloris*
Género VIII. *Devosia*
Género IX. *Dichotomicrobium*
Género X. *Filomicrobium*
Género XI. *Gemmiger*
Género XII. *Labrys*
Género XIII. *Methylorhabdus*
Género XIV. *Pedomicrobium*
Género XV. *Prosthecomicrobium*
Género XVI. *Rhodomicrobium*
Género XVII. *Rhodoplanes*
Género XVIII. *Seliberia*
Género XIX. *Starkeya*
Género XX. *Xanthobacter*
Familia X. *Methylobacteriaceae*
Género I. *Methylobacterium*
Género II. *Microvirga*
Género III. *Protomonas*
Género IV. *Roseomonas*
Familia XI. *Rhodobiaceae*
Género I. *Rhodobium*
Género II. *Roseospirillum*
Orden VII. *Parvularculales*
Familia I. *Parvularculaceae*
Género I. *Parvularcula*

Clase II. *Betaproteobacteria*

Orden I. *Burkholderiales*
Familia I. *Burkholderiaceae*
Género I. *Burkholderia*
Género II. *Cupriavidus*
Género III. *Lautropia*
Género IV. *Limnobacter*
Género V. *Pandoraea*
Género VI. *Paucimonas*
Género VII. *Polynucleobacter*
Género VIII. *Ralstonia*
Género IX. *Thermothrix*
Género X. *Wautersia*
Familia II. *Oxalobacteraceae*
Género I. *Oxalobacter*
Género II. *Duganella*
Género III. *Herbaspirillum*
Género IV. *Janthinobacterium*
Género V. *Massilia*
Género VI. *Oxalicibacterium*
Género VII. *Telluria*
Familia III. *Alcaligenaceae*
Género I. *Alcaligenes*
Género II. *Achromobacter*
Género III. *Bordetella*
Género IV. *Brackiella*
Género V. *Derxia*
Género VI. *Kerstersia*
Género VII. *Oligella*
Género VIII. *Pelistega*
Género IX. *Pigmentiphaga*
Género X. *Sutterella*
Género XI. *Taylorella*
Familia IV. *Comamonadaceae*
Género I. *Comamonas*
Género II. *Acidovorax*
Género III. *Alicycliphilus*
Género IV. *Brachymonas*
Género V. *Caldimonas*
Género VI. *Delftia*
Género VII. *Diaphorobacter*
Género VIII. *Hydrogenophaga*
Género IX. *Hylemonella*
Género X. *Lampropedia*
Género XI. *Macromonas*
Género XII. *Ottowia*
Género XIII. *Polaromonas*
Género XIV. *Ramlibacter*
Género XV. *Rhodoferax*
Género XVI. *Variovorax*
Género XVII. *Xenophilus*
Genera incertae sedis[§]
Género I. *Aquabacterium*
Género II. *Ideonella*
Género III. *Leptothrix*
Género IV. *Roseateles*
Género V. *Rubrivivax*
Género VI. *Schlegelella*
Género VII. *Sphaerotilus*
Género VIII. *Tepidimonas*
Género IX. *Thiomonas*
Género X. *Xylophilus*
Orden II. *Hydrogenophilales*
Familia I. «*Hydrogenophilaceae*»
Género I. *Hydrogenophilus*
Género II. *Thiobacillus*
Orden III. *Methylophilales*
Familia I. *Methylophilaceae*
Género I. *Methylophilus*
Género II. *Methylobacillus*
Género III. *Methylovorus*
Orden IV. *Neisseriales*
Familia I. *Neisseriaceae*
Género I. *Neisseria*
Género II. *Alysiella*
Género III. *Aquaspirillum*
Género IV. *Chromobacterium*
Género V. *Eikenella*
Género VI. *Formivibrio*
Género VII. *Iodobacter*
Género VIII. *Kingella*
Género IX. *Laribacter*
Género X. *Microvirgula*
Género XI. *Morococcus*
Género XII. *Prolinoborus*
Género XIII. *Simonsiella*
Género XIV. *Vitreoscilla*
Género XV. *Vogesella*
Orden V. *Nitrosomonadales*
Familia I. *Nitrosomonadaceae*
Género I. *Nitrosomonas*
Género II. *Nitrosolobus*
Género III. *Nitrosospira*
Familia II. *Spirillaceae*
Género I. *Spirillum*
Familia III. *Gallionellaceae*
Género I. *Gallionella*
Orden VI. *Rhodocyclales*
Familia I. *Rhodocyclaceae*
Género I. *Rhodocyclus*
Género II. *Azoarcus*
Género III. *Azonexus*
Género IV. *Azospira*
Género V. *Azovibrio*
Género VI. *Dechloromonas*
Género VII. *Dechlorosoma*
Género VIII. *Ferribacterium*
Género IX. *Propionibacter*
Género X. *Propionivibrio*
Género XI. *Quadricoccus*
Género XII. *Sterolibacterium*
Género XIII. *Thauera*
Género XIV. *Zoogloea*
Orden VII. *Procabacteriales*

[d] En taxonomía bacteriana, se dice que un organismo es candidato cuando se conoce la secuencia del rRNA 16S u otra característica importante, pero que aún no ha sido cultivado en condiciones axénicas.

www.medilibros.com

Familia I. *Procabacteriaceae*
Género I. *Procabacter*

Clase III. *Gammaproteobacteria*
Orden I. *Chromatiales*
Familia I. *Chromatiaceae*
Género I. *Chromatium*
Género II. *Allochromatium*
Género III. *Amoebobacter*
Género IV. *Halochromatium*
Género V. *Isochromatium*
Género VI. *Lamprobacter*
Género VII. *Lamprocystis*
Género VIII. *Marichromatium*
Género IX. *Nitrosococcus*
Género X. *Pfennigia*
Género XI. *Rhabdochromatium*
Género XII. *Rheinheimera*
Género XIII. *Thermochromatium*
Género XIV. *Thioalkalicoccus*
Género XV. *Thiobaca*
Género XVI. *Thiocapsa*
Género XVII. *Thiococcus*
Género XVIII. *Thiocystis*
Género XIX. *Thiodictyon*
Género XX. *Thiolavicoccus*
Género XXI. *Thiohalocapsa*
Género XXII. *Thiolamprovum*
Género XXIII. *Thiopedia*
Género XXIV. *Thiorhodococcus*
Género XXV. *Thiorhodovibrio*
Género XXVI. *Thiospirillum*
Familia II. *Ectothiorhodospiraceae*
Género I. *Ectothiorhodospira*
Género II. *Alcalilimnicola*
Género III. *Alkalispirillum*
Género IV. *Arhodomonas*
Género V. *Halorhodospira*
Género VI. *Nitrococcus*
Género VII. *Thioalkalispira*
Género VIII. *Thialkalivibrio*
Género IX. *Thiorhodospira*
Familia III. *Halothiobacillaceae*
Género I. *Halothiobacillus*
Orden II. *Acidithiobacillales*
Familia I. *Acidithiobacillaceae*
Género I. *Acidithiobacillus*
Familia II. *Thermithiobacillaceae*
Género I. *Thermithiobacillus*
Orden III. *Xanthomonadales*
Familia I. *Xanthomonadaceae*
Género I. *Xanthomonas*
Género II. *Frateuria*
Género III. *Fulvimonas*
Género IV. *Luteimonas*
Género V. *Lysobacter*
Género VI. *Nevskia*
Género VII. *Pseudoxanthomonas*
Género VIII. *Rhodanobacter*
Género IX. *Schineria*
Género X. *Stenotrophomonas*
Género XI. *Thermomonas*
Género XII. *Xylella*
Orden IV. *Cardiobacteriales*
Familia I. *Cardiobacteriaceae*
Género I. *Cardiobacterium*
Género II. *Dichelobacter*
Género III. *Suttonella*
Orden V. *Thiotrichales*
Familia I. *Thiotrichaceae*
Género I. *Thiothrix*
Género II. *Achromatium*
Género III. *Beggiatoa*
Género IV. *Leucothrix*
Género V. *Thiobacterium*
Género VI. *Thiomargarita*
Género VII. *Thioploca*
Género VIII. *Thiospira*
Familia II. *Francisellaceae*
Género I. *Francisella*
Familia III. *Piscirickettsiaceae*
Género I. *Piscirickettsia*
Género II. *Cycloclasticus*
Género III. *Hydrogenovibrio*
Género IV. *Methylophaga*
Género V. *Thioalkalimicrobium*
Género VI. *Thiomicrospira*
Orden VI. *Legionellales*
Familia I. *Legionellaceae*
Género I. *Legionella*
Familia II. *Coxiellaceae*
Género I. *Coxiella*
Género II. *Aquicella*
Género III. *Rickettsiella*
Orden VII. *Methylococcales*
Familia I. *Methylococcaceae*
Género I. *Methylococcus*
Género II. *Methylobacter*
Género III. *Methylocaldum*
Género IV. *Methylomicrobium*
Género V. *Methylomonas*
Género VI. *Methylosarcina*
Género VII. *Methylosphaera*
Orden VIII. *Oceanospirillales*
Familia I. *Oceanospirillaceae*
Género I. *Oceanospirillum*
Género II. *Balneatrix*
Género III. *Marinomonas*
Género IV. *Marinospirillum*
Género V. *Neptunomonas*
Género VI. *Oceanobacter*
Género VII. *Oleispira*
Género VIII. *Pseudospirillum*
Género IX. *Thalassolituus*
Familia II. *Alcanivoracaceae*
Género I. *Alcanivorax*
Género II. *Fundibacter*
Familia III. *Hahellaceae*
Género I. *Hahella*
Género II. *Zooshikella*
Familia IV. *Halomonadaceae*
Género I. *Halomonas*
Género II. *Carnimonas*
Género III. *Chromohalobacter*
Género IV. *Cobetia*
Género V. *Deleya*
Género VI. *Zymobacter*
Familia V. *Oleiphilaceae*
Género I. *Oleiphilus*
Familia VI. *Saccharospirillaceae*
Género I. *Saccharospirillum*
Orden IX. *Pseudomonadales*
Familia I. *Pseudomonadaceae*
Género I. *Pseudomonas*
Género II. *Azomonas*
Género III. *Azotobacter*
Género IV. *Cellvibrio*
Género V. *Chryseomonas*
Género VI. *Flavimonas*
Género VII. *Mesophilobacter*
Género VIII. *Rhizobacter*
Género IX. *Rugamonas*
Género X. *Serpens*
Familia II. *Moraxellaceae*
Género I. *Moraxella*
Género II. *Acinetobacter*
Género III. *Psychrobacter*
Familia III. Incertae sedis[b]
Género I. *Enhydrobacter*
Orden X. *Alteromonadales*
Familia I. *Alteromonadaceae*
Género I. *Alteromonas*
Género II. *Aestuariibacter*
Género III. *Alishewanella*
Género IV. *Colwellia*
Género V. *Ferrimonas*
Género VI. *Glaciecola*
Género VII. *Idiomarina*
Género VIII. *Marinobacter*
Género IX. *Marinobacterium*
Género X. *Microbulbifer*
Género XI. *Moritella*
Género XII. *Pseudoalteromonas*
Género XIII. *Psychromonas*
Género XIV. *Shewanella*
Género XV. *Thalassomonas*
Familia II. Incertae sedis[b]
Género I. *Tetrathalassobacter*
Orden XI. *Vibrionales*
Familia I. *Vibrionaceae*
Género I. *Vibrio*
Género II. *Allomonas*
Género III. *Catenococcus*
Género IV. *Enterovibrio*
Género V. *Grimontia*
Género VI. *Listonella*
Género VII. *Photobacterium*
Género VIII. *Salinivibrio*
Orden XII. *Aeromonadales*
Familia I. *Aeromonadaceae*
Género I. *Aeromonas*
Género II. *Oceanimonas*
Género III. *Oceanisphaera*
Género IV. *Tolumonas*
Familia II. Incertae sedis: *Succinivibrionaceae*[b]
Género I. *Succinivibrio*
Género II. *Anaerobiospirillum*
Género III. *Ruminobacter*
Género IV. *Succinimonas*
Orden XIII. *Enterobacteriales*
Familia I. *Enterobacteriaceae*
Género I. *Escherichia*
Género II. *Alterococcus*
Género III. *Arsenophonus*
Género IV. *Brenneria*
Género V. *Buchnera*
Género VI. *Budvicia*
Género VII. *Buttiauxella*
Género VIII. *Calymmatobacterium*
Género IX. *Cedecea*
Género X. *Citrobacter*
Género XI. *Edwardsiella*
Género XII. *Enterobacter*
Género XIII. *Erwinia*
Género XIV. *Ewingella*
Género XV. *Hafnia*
Género XVI. *Klebsiella*
Género XVII. *Kluyvera*
Género XVIII. *Leclercia*
Género XIX. *Leminorella*
Género XX. *Moellerella*
Género XXI. *Morganella*
Género XXII. *Obesumbacterium*
Género XXIII. *Pantoea*
Género XXIV. *Pectobacterium*
Género XXV. *Phlomobacter*
Género XXVI. *Photorhabdus*
Género XXVII. *Plesiomonas*
Género XXVIII. *Pragia*
Género XXIX. *Proteus*
Género XXX. *Providencia*
Género XXXI. *Rahnella*
Género XXXII. *Raoultella*
Género XXXIII. *Saccharobacter*
Género XXXIV. *Salmonella*

www.medbro.com

Género XXXV. *Samsonia*
Género XXXVI. *Serratia*
Género XXXVII. *Shigella*
Género XXXVIII. *Sodalis*
Género XXXIX. *Tatumella*
Género XL. *Trabulsiella*
Género XLI. *Wigglesworthia*
Género XLII. *Xenorhabdus*
Género XLIII. *Yersinia*
Género XLIV. *Yokenella*
Orden XIV. *Pasteurellales*
Familia I. *Pasteurellaceae*
Género I. *Pasteurella*
Género II. *Actinobacillus*
Género III. *Gallibacterium*
Género IV. *Haemophilus*
Género V. *Lonepinella*
Género VI. *Mannheimia*
Género VII. *Phocoenobacter*

Clase IV. *Deltaproteobacteria*

Orden I. *Desulfurellales*
Familia I. *Desulfurellaceae*
Género I. *Desulfurella*
Género II. *Hippea*
Orden II. *Desulfovibrionales*
Familia I. *Desulfovibrionaceae*
Género I. *Desulfovibrio*
Género II. *Bilophila*
Género III. *Lawsonia*
Familia II. *Desulfomicrobiaceae*
Género I. *Desulfomicrobium*
Familia III. *Desulfohalobiaceae*
Género I. *Desulfohalobium*
Género II. *Desulfomonas*
Género III. *Desulfonatronovibrio*
Género IV. *Desulfothermus*
Familia IV. *Desulfonatronumaceae*
Género I. *Desulfonatronum*
Orden III. *Desulfobacterales*
Familia I. *Desulfobacteraceae*
Género I. *Desulfobacter*
Género II. *Desulfatibacillum*
Género III. *Desulfobacterium*
Género IV. *Desulfobacula*
Género V. *Desulfobotulus*
Género VI. *Desulfocella*
Género VII. *Desulfococcus*
Género VIII. *Desulfofaba*
Género IX. *Desulfofrigus*
Género X. *Desulfomusa*
Género XI. *Desulfonema*
Género XII. *Desulforegula*
Género XIII. *Desulfosarcina*
Género XIV. *Desulfospira*
Género XV. *Desulfotignum*
Familia II. *Desulfobulbaceae*
Género I. *Desulfobulbus*
Género II. *Desulfocapsa*
Género III. *Desulfofustis*
Género IV. *Desulforhopalus*
Género V. *Desulfotalea*
Familia III. *Nitrospinaceae*
Género I. *Nitrospina*
Orden IV. *Desulfarcales*
Familia I. *Desulfarculaceae*
Género I. *Desulfarculus*
Orden V. *Desulfuromonales*
Familia I. *Desulfuromonaceae*
Género I. *Desulfuromonas*
Género II. *Desulfuromusa*
Género III. *Malonomonas*
Género IV. *Pelobacter*
Familia II. *Geobacteraceae*
Género I. *Geobacter*
Género II. *Trichlorobacter*

Orden VI. *Syntrophobacterales*
Familia I. *Syntrophobacteraceae*
Género I. *Syntrophobacter*
Género II. *Desulfacinum*
Género III. *Desulforhabdus*
Género IV. *Desulfovirga*
Género V. *Thermodesulforhabdus*
Familia II. *Syntrophaceae*
Género I. *Syntrophus*
Género II. *Desulfobacca*
Género III. *Desulfomonile*
Género IV. *Smithella*
Orden VII. *Bdellovibrionales*
Familia I. *Bdellovibrionaceae*
Género I. *Bdellovibrio*
Género II. *Bacteriovorax*
Género III. *Micavibrio*
Género IV. *Vampirovibrio*
Orden VIII. *Myxococcales*
Suborden I. *Cystobactereineae*
Familia I. *Cystobacteraceae*
Género I. *Cystobacter*
Género II. *Anaeromyxobacter*
Género III. *Archangium*
Género IV. *Hyalangium*
Género V. *Melittangium*
Género VI. *Stigmatella*
Familia II. *Myxococcaceae*
Género I. *Myxococcus*
Género II. *Corallococcus*
Género III. *Pyxicoccus*
Suborden II. *Sorangineae*
Familia I. *Polyangiaceae*
Género I. *Polyangium*
Género II. *Byssophaga*
Género III. *Chondromyces*
Género IV. *Haploangium*
Género V. *Jahnia*
Género VI. *Sorangium*
Suborden III. *Nannocystineae*
Familia I. *Nannocystaceae*
Género I. *Nannocystis*
Género II. *Plesiocystis*
Familia II. *Haliangiaceae*
Género I. *Haliangium*
Familia III. *Kocuriaceae*
Género I. *Kocuria*

Clase V. *Epsilonproteobacteria*

Orden I. *Campylobacterales*
Familia I. *Campylobacteraceae*
Género I. *Campylobacter*
Género II. *Arcobacter*
Género III. *Dehalospirillum*
Género IV. *Sulfurospirillum*
Familia II. *Helicobacteraceae*
Género I. *Helicobacter*
Género II. *Sulfurimonas*
Género III. *Thiovulum*
Género IV. *Wolinella*
Familia III. *Nautiliaceae*
Género I. *Nautilia*
Género II. *Caminibacter*
Familia IV. *Hydrogenimonaceae*
Género I. *Hydrogenimonas*

Filum BXIII. *Firmicutes*

Clase I. *Clostridia*

Orden I. *Clostridiales*
Familia I. *Clostridiaceae*
Género I. *Clostridium*
Género II. *Acetivibrio*
Género III. *Acidaminobacter*
Género IV. *Alkaliphilus*
Género V. *Anaerobacter*
Género VI. *Anaerotruncus*
Género VII. *Bryantella*

Género VIII. *Caminicella*
Género IX. *Caloramator*
Género X. *Caloranaerobacter*
Género XI. *Coprobacillus*
Género XII. *Dorea*
Género XIII. *Faecalibacterium*
Género XIV. *Hespellia*
Género XV. *Natronincola*
Género XVI. *Oxobacter*
Género XVII. *Parasporobacterium*
Género XVIII. *Sarcina*
Género XIX. *Soehngenia*
Género XX. *Tepidibacter*
Género XXI. *Thermobrachium*
Género XXII. *Thermoha lobacter*
Género XXIII. *Tindallia*
Familia II. *Lachnospiraceae*
Género I. *Lachnospira*
Género II. *Acetitomaculum*
Género III. *Anaerofilum*
Género IV. *Anaerostipes*
Género V. *Butyrivibrio*
Género VI. *Catenibacterium*
Género VII. *Catonella*
Género VIII. *Coprococcus*
Género IX. *Johnsonella*
Género X. *Lachnobacterium*
Género XI. *Pseudobutyrivibrio*
Género XII. *Roseburia*
Género XIII. *Ruminococcus*
Género XIV. *Shuttleworthia*
Género XV. *Sporobacterium*
Familia III. *Peptostreptococcaceae*
Género I. *Peptostreptococcus*
Género II. *Anaerococcus*
Género III. *Filifactor*
Género IV. *Finegoldia*
Género V. *Fusibacter*
Género VI. *Gallicola*
Género VII. *Helcococcus*
Género VIII. *Micromonas*
Género IX. *Peptoniphilus*
Género X. *Sedimentibacter*
Género XI. *Sporanaerobacter*
Género XII. *Tissierella*
Familia IV. *Eubacteriaceae*
Género I. *Eubacterium*
Género II. *Acetobacterium*
Género III. *Anaerovorax*
Género IV. *Mogibacterium*
Género V. *Pseudoramibacter*
Familia V. *Peptococcaceae*
Género I. *Peptococcus*
Género II. *Carboxydothermus*
Género III. *Dehalobacter*
Género IV. *Desulfotobacterium*
Género V. *Desulfonispora*
Género VI. *Desulfosporosinus*
Género VII. *Desulfotomaculum*
Género VIII. *Pelotomaculum*
Género IX. *Syntrophobotulus*
Género X. *Thermoterrabacterium*
Familia VI. *Heliobacteriaceae*
Género I. *Heliobacterium*
Género II. *Heliobacillus*
Género III. *Heliophilum*
Género IV. *Sporoheliosa*
Familia VII. *Acidaminococcaceae*
Género I. *Acidaminococcus*
Género II. *Acetonema*
Género III. *Allisonella*
Género IV. *Anaeroarcus*
Género V. *Anaeroglobus*
Género VI. *Anaeromusa*
Género VII. *Anaerosinus*

www.medbros.com

Género VIII. *Anaerovibrio*
Género IX. *Centipeda*
Género X. *Dendrosporobacter*
Género XI. *Dialister*
Género XII. *Megasphaera*
Género XIII. *Mitsuokella*
Género XIV. *Papillibacter*
Género XV. *Pectinatus*
Género XVI. *Phascolarctobacterium*
Género XVII. *Propionispira*
Género XVIII. *Propionispora*
Género XIX. *Quinella*
Género XX. *Schwartzia*
Género XXI. *Selenomonas*
Género XXII. *Sporomusa*
Género XXIII. *Succiniclasticum*
Género XXIV. *Succinispira*
Género XXV. *Veillonella*
Género XXVI. *Zymophilus*
Familia VIII. *Syntrophomonadaceae*
Género I. *Syntrophomonas*
Género II. *Acetogenium*
Género III. *Aminobacterium*
Género IV. *Aminomonas*
Género V. *Anaerobaculum*
Género VI. *Anaerobranca*
Género VII. *Caldicellulosiruptor*
Género VIII. *Carboxydocella*
Género IX. *Dethiosulfovibrio*
Género X. *Pelospora*
Género XI. *Syntrophospora*
Género XII. *Syntrophothermus*
Género XIII. *Thermaerobacter*
Género XIV. *Thermanaerovibrio*
Género XV. *Thermohydrogenium*
Género XVI. *Thermosyntropha*
Orden II. *Thermoanaerobacteriales*
Familia I. *Thermoanaerobacteriaceae*
Género I. *Thermoanaerobacterium*
Género II. *Ammonifex*
Género III. *Caldanaerobacter*
Género IV. *Carboxydibrachium*
Género V. *Coprothermobacter*
Género VI. *Gelria*
Género VII. *Moorella*
Género VIII. *Sporotomaculum*
Género IX. *Thermacetogenium*
Género X. *Thermanaeromonas*
Género XI. *Thermoanaerobacter*
Género XII. *Thermoanaerobium*
Género XIII. *Thermovenabulum*
Familia II. *Thermodesulfobiaceae*
Género I. *Thermodesulfobium*
Orden III. *Halanaerobiales*
Familia I. *Halanaerobiaceae*
Género I. *Halanaerobium*
Género II. *Halocella*
Género III. *Halothermothrix*
Familia II. *Halobacteroidaceae*
Género I. *Halobacteroides*
Género II. *Acetohalobium*
Género III. *Halanaerobacter*
Género IV. *Halonatronum*
Género V. *Natroniella*
Género VI. *Orenia*
Género VII. *Selenihalanaerobacter*
Género VIII. *Sporohalobacter*

Clase II. *Mollicutes*

Orden I. *Mycoplasmatales*
Familia I. *Mycoplasmataceae*
Género I. *Mycoplasma*
Género II. *Eperythrozoon*
Género III. *Haemobartonella*
Género IV. *Ureaplasma*
Orden II. *Entomoplasmatales*
Familia I. *Entomoplasmataceae*
Género I. *Entomoplasma*
Género II. *Mesoplasma*
Familia II. *Spiroplasmataceae*
Género I. *Spiroplasma*
Orden III. *Acholeplasmatales*
Familia I. *Acholeplasmataceae*
Género I. *Acholeplasma*
Género II. *Phytoplasma*
Orden IV. *Anaeroplasmatales*
Familia I. *Anaeroplasmataceae*
Género I. *Anaeroplasma*
Género II. *Asteroleplasma*
Orden V. Incertae sedis[b]
Familia I. *Erysipelotrichaceae*
Género I. *Erysipelothrix*
Género II. *Bulleidia*
Género III. *Holdemania*
Género IV. *Solobacterium*

Clase III. *Bacilli*

Orden I. *Bacillales*
Familia I. *Bacillaceae*
Género I. *Bacillus*
Género II. *Amphibacillus*
Género III. *Anoxybacillus*
Género IV. *Exiguobacterium*
Género V. *Filobacillus*
Género VI. *Geobacillus*
Género VII. *Gracilibacillus*
Género VIII. *Halobacillus*
Género IX. *Jeotgalibacillus*
Género X. *Lentibacillus*
Género XI. *Marinibacillus*
Género XII. *Oceanobacillus*
Género XIII. *Paraliobacillus*
Género XIV. *Saccharococcus*
Género XV. *Salibacillus*
Género XVI. *Virgibacillus*
Familia II. *Alicyclobacillaceae*
Género I. *Alicyclobacillus*
Género II. *Pasteuria*
Género III. *Sulfobacillus*
Familia III. *Caryophanaceae*
Género I. *Caryophanon*
Familia IV. *Listeriaceae*
Género I. *Listeria*
Género II. *Brochothrix*
Familia V. *Paenibacillaceae*
Género I. *Paenibacillus*
Género II. *Ammoniphilus*
Género III. *Aneurinibacillus*
Género IV. *Brevibacillus*
Género V. *Oxalophagus*
Género VI. *Thermicanus*
Género VII. *Thermobacillus*
Familia VI. *Planococcaceae*
Género I. *Planococcus*
Género II. *Filibacter*
Género III. *Kurthia*
Género IV. *Planomicrobium*
Género V. *Sporosarcina*
Familia VII. *Sporolactobacillaceae*
Género I. *Sporolactobacillus*
Género II. *Marinococcus*
Familia VIII. *Staphylococcaceae*
Género I. *Staphylococcus*
Género II. *Gemella*
Género III. *Jeotgalicoccus*
Género IV. *Macrococcus*
Género V. *Salinicoccus*
Familia IX. *Thermoactinomycetaceae*
Género I. *Thermoactinomyces*
Familia X. *Turicibacteraceae*
Género I. *Turicibacter*
Orden II. *Lactobacillales*
Familia I. *Lactobacillaceae*
Género I. *Lactobacillus*
Género II. *Paralactobacillus*
Género III. *Pediococcus*
Familia II. *Aerococcaceae*
Género I. *Aerococcus*
Género II. *Abiotrophia*
Género III. *Dolosicoccus*
Género IV. *Eremococcus*
Género V. *Facklamia*
Género VI. *Globicatella*
Género VII. *Ignavigranum*
Familia III. *Carnobacteriaceae*
Género I. *Carnobacterium*
Género II. *Agitococcus*
Género III. *Alkalibacterium*
Género IV. *Alloiustis*
Género V. *Alloiococcus*
Género VI. *Desemzia*
Género VII. *Dolosigranulum*
Género VIII. *Granulicatella*
Género IX. *Isobaculum*
Género X. *Lactosphaera*
Género XI. *Marinilactibacillus*
Género XII. *Trichococcus*
Familia IV. *Enterococcaceae*
Género I. *Enterococcus*
Género II. *Atopobacter*
Género III. *Melissococcus*
Género IV. *Tetragenococcus*
Género V. *Vagococcus*
Familia V. *Leuconostocaceae*
Género I. *Leuconostoc*
Género II. *Oenococcus*
Género III. *Weissella*
Familia VI. *Streptococcaceae*
Género I. *Streptococcus*
Género II. *Lactococcus*
Familia VII. Incertae sedis[b]
Género I. *Acetoanaerobium*
Género II. *Oscillospira*
Género III. *Syntrophococcus*

Filum BXIV. *Actinobacteria*

Clase I. *Actinobacteria*

Subclase I. *Acidimicrobidae*
Orden I. *Acidimicrobiales*
Suborden IV. *Acidimicrobineae*
Familia I. *Acidimicrobiaceae*
Género I. *Acidimicrobium*
Subclase II. *Rubrobacteridae*
Orden I. *Rubrobacterales*
Suborden V. *Rubrobacterineae*
Familia I. *Rubrobacteraceae*
Género I. *Rubrobacter*
Género II. *Conexibacter*
Género III. *Solirubrobacter*
Género IV. *Thermoleophilum*
Subclase III. *Coriobacteridae*
Orden I. *Coriobacteriales*
Suborden VI. *Coriobacterineae*
Familia I. *Coriobacteriaceae*
Género I. *Coriobacterium*
Género II. *Atopobium*
Género III. *Collinsella*
Género IV. *Cryptobacterium*
Género V. *Denitrobacterium*
Género VI. *Eggerthella*
Género VII. *Olsenella*
Género VIII. *Slackia*
Subclase IV. *Sphaerobacteridae*
Orden I. *Sphaerobacterales*
Suborden VII. *Sphaerobacterineae*
Familia I. *Sphaerobacteraceae*
Género I. *Sphaerobacter*

www.medicapanamericana.com

Subclase V. *Actinobacteridae*
Orden I. *Actinomycetales*
Suborden VIII. *Actinomycineae*
Familia I. *Actinomycetaceae*
Género I. *Actinomyces*
Género II. *Actinobaculum*
Género III. *Arcanobacterium*
Género IV. *Mobiluncus*
Género V. *Varibaculum*
Suborden IX. *Micrococcineae*
Familia I. *Micrococcaceae*
Género I. *Micrococcus*
Género II. *Arthrobacter*
Género III. *Citricoccus*
Género IV. *Kocuria*
Género V. *Nesterenkonia*
Género VI. *Rentbacterium*
Género VII. *Rothia*
Género VIII. *Stomatococcus*
Género IX. *Yania*
Familia II. *Bogoriellaceae*
Género I. *Bogoriella*
Familia III. *Rarobacteraceae*
Género I. *Rarobacter*
Familia IV. *Sanguibacteraceae*
Género I. *Sanguibacter*
Familia V. *Brevibacteriaceae*
Género I. *Brevibacterium*
Familia VI. *Cellulomonadaceae*
Género I. *Cellulomonas*
Género II. Oorskovia
Género III. *Tropheryma*
Familia VII. *Dermabacteraceae*
Género I. *Dermabacter*
Género II. *Brachybacterium*
Familia VIII. *Dermatophilaceae*
Género I. *Dermatophilus*
Género II. *Kineosphaera*
Familia IX. *Dermacoccaceae*
Género I. *Dermacoccus*
Género II. *Demetria*
Género III. *Kytococcus*
Familia X. *Intrasporangiaceae*
Género I. *Intrasporangium*
Género II. *Arsenicicoccus*
Género III. *Janibacter*
Género IV. *Knoellia*
Género V. *Ornithinicoccus*
Género VI. *Ornithinimicrobium*
Género VII. *Nostocoidia*
Género VIII. *Terrabacter*
Género IX. *Terracoccus*
Género X. *Tetrasphaera*
Familia XI. *Jonesiaceae*
Género I. *Jonesia*
Familia XII. *Microbacteriaceae*
Género I. *Microbacterium*
Género II. *Agreia*
Género III. *Agrococcus*
Género IV. *Agromyces*
Género V. *Aureobacterium*
Género VI. *Clavibacter*
Género VII. *Cryobacterium*
Género VIII. *Curtobacterium*
Género IX. *Frigoribacterium*
Género X. *Leifsonia*
Género XI. *Leucobacter*
Género XII. *Mycetocola*
Género XIII. *Okibacterium*
Género XIV. *Plantibacter*
Género XV. *Rathayibacter*
Género XVI. *Rhodoglobus*
Género XVII. *Salinibacterium*
Género XVIII. *Subtercola*
Familia XIII. *Beutenbergiaceae*
Género I. *Beutenbergia*
Género II. *Georgenia*
Género III. *Salana*
Familia XIV. *Promicromonosporaceae*
Género I. *Promicromonospora*
Género II. *Cellulosimicrobium*
Género III. *Xylanibacterium*
Género IV. *Xylanimonas*
Suborden X. *Corynebacterineae*
Familia I. *Corynebacteriaceae*
Género I. *Corynebacterium*
Familia II. *Dietziaceae*
Género I. *Dietzia*
Familia III. *Gordoniaceae*
Género I. *Gordonia*
Género II. *Skermania*
Familia IV. *Mycobacteriaceae*
Género I. *Mycobacterium*
Familia V. *Nocardiaceae*
Género I. *Nocardia*
Género II. *Rhodococcus*
Familia VI. *Tsukamurellaceae*
Género I. *Tsukamurella*
Familia VII. *Williamsiaceae*
Género I. *Williamsia*
Suborden XI. *Micromonosporineae*
Familia I. *Micromonosporaceae*
Género I. *Micromonospora*
Género II. *Actinoplanes*
Género III. *Asanoa*
Género IV. *Catellatospora*
Género V. *Catenuloplanes*
Género VI. *Couchioplanes*
Género VII. *Dactylosporangium*
Género VIII. *Pilimelia*
Género IX. *Spirilliplanes*
Género X. *Verrucosispora*
Género XI. *Virgisporangium*
Suborden XII. *Propionibacterineae*
Familia I. *Propionibacteriaceae*
Género I. *Propionibacterium*
Género II. *Luteococcus*
Género III. *Microlunatus*
Género IV. *Propioniferax*
Género V. *Propionimicrobium*
Género VI. *Tessaracoccus*
Familia II. *Nocardioidaceae*
Género I. *Nocardioides*
Género II. *Aeromicrobium*
Género III. *Actinopolymorpha*
Género IV. *Friedmanniella*
Género V. *Hongia*
Género VI. *Kribbella*
Género VII. *Micropruina*
Género VIII. *Marmoricola*
Género IX. *Propionicimonas*
Suborden XIII. *Pseudonocardineae*
Familia I. *Pseudonocardiaceae*
Género I. *Pseudonocardia*
Género II. *Actinoalloteichus*
Género III. *Actinopolyspora*
Género IV. *Amycolatopsis*
Género V. *Crossiella*
Género VI. *Kibdelosporangium*
Género VII. *Kutzneria*
Género VIII. *Prauserella*
Género IX. *Saccharomonospora*
Género X. *Saccharopolyspora*
Género XI. *Streptoalloteichus*
Género XII. *Thermobispora*
Género XIII. *Thermocrispum*
Familia II. *Actinosynnemataceae*
Género I. *Actinosynnema*
Género II. *Actinokineospora*
Género III. *Lechevalieria*
Género IV. *Lentzea*
Género V. *Saccharothrix*
Suborden XIV. *Streptomycineae*
Familia I. *Streptomycetaceae*
Género I. *Streptomyces*
Género II. *Kitasatospora*
Género III. *Streptoverticillium*
Suborden XV. *Streptosporangineae*
Familia I. *Streptosporangiaceae*
Género I. *Streptosporangium*
Género II. *Acrocarpospora*
Género III. *Herbidospora*
Género IV. *Microbispora*
Género V. *Microtetraspora*
Género VI. *Nonomuraea*
Género VII. *Planobispora*
Género VIII. *Planomonospora*
Género IX. *Planopolyspora*
Género X. *Planotetraspora*
Familia II. *Nocardiopsaceae*
Género I. *Nocardiopsis*
Género II. *Streptomonospora*
Género III. *Thermobifida*
Familia III. *Thermomonosporaceae*
Género I. *Thermomonospora*
Género II. *Actinomadura*
Género III. *Spirillospora*
Suborden XVI. *Frankineae*
Familia I. *Frankiaceae*
Género I. *Frankia*
Familia II. *Geodermatophilaceae*
Género I. *Geodermatophilus*
Género II. *Blastococcus*
Género III. *Modestobacter*
Familia III. *Microsphaeraceae*
Género I. *Microsphaera*
Familia IV. *Sporichthyaceae*
Género I. *Sporichthya*
Familia V. *Acidothermaceae*
Género I. *Acidothermus*
Familia VI. *Kineosporiaceae*
Género I. *Kineosporia*
Género II. *Cryptosporangium*
Género III. *Kineococcus*
Suborden XVII. *Glycomycineae*
Familia I. *Glycomycetaceae*
Género I. *Glycomyces*
Orden II. *Bifidobacteriales*
Familia I. *Bifidobacteriaceae*
Género I. *Bifidobacterium*
Género II. *Aeriscardovia*
Género III. *Falcivibrio*
Género IV. *Gardnerella*
Género V. *Parascardovia*
Género VI. *Scardovia*
Familia II. Incertae sedis[b]
Género I. *Actinobispora*
Género II. *Actinocorallia*
Género III. *Excellospora*
Género IV. *Pelczaria*
Género V. *Turicella*

Filum BXV. *Planctomycetes*
Clase I. *Planctomycetacia*
Orden I. *Planctomycetales*
Familia I. *Planctomycetaceae*
Género I. *Planctomyces*
Género II. *Gemmata*
Género III. *Isosphaera*
Género IV. *Pirellula*

Filum BXVI. *Chlamydiae*
Clase I. *Chlamydiae*
Orden I. *Chlamydiales*
Familia I. *Chlamydiaceae*
Género I. *Chlamydia*

www.medicapanamericana.com

Género II. *Chlamydophila*
Familia II. *Parachlamydiaceae*
Género I. *Parachlamydia*
Género II. *Neochlamydia*
Familia III. *Simkaniaceae*
Género I. *Simkania*
Género II. *Rhabdochlamydia*
Familia IV. *Waddliaceae*
Género I. *Waddlia*

Filum BXVII. *Spirochaetes*
Clase I. *Spirochaetes*
Orden I. *Spirochaetales*
Familia I. *Spirochaetaceae*
Género I. *Spirochaeta*
Género II. *Borrelia*
Género III. *Brevinema*
Género IV. *Clevelandina*
Género V. *Cristispira*
Género VI. *Diplocalyx*
Género VII. *Hollandina*
Género VIII. *Pillotina*
Género IX. *Treponema*
Familia II. *Serpulinaceae*
Género I. *Serpulina*
Género II. *Brachyspira*
Familia III. *Leptospiraceae*
Género I. *Leptospira*
Género II. *Leptonema*

Filum BXVIII. *Fibrobacteres*
Clase I. *Fibrobacteres*
Orden I. *Fibrobacterales*
Familia I. *Fibrobacteraceae*
Género I. *Fibrobacter*

Filum BXIX. *Acidobacteria*
Clase I. *Acidobacteria*
Orden I. *Acidobacteriales*
Familia I. *Acidobacteriaceae*
Género I. *Acidobacterium*
Género II. *Geothrix*
Género III. *Holophaga*

Filum BXX. *Bacteroidetes*
Clase I. *Bacteroidetes*
Orden I. Bacteroidales
Familia I. *Bacteroidaceae*
Género I. *Bacteroides*
Género II. *Acetofilamentum*
Género III. *Acetomicrobium*
Género IV. *Acetothermus*
Género V. *Anaerophaga*
Género VI. *Anaerorhabdus*
Género VII. *Megamonas*
Familia II. *Rikenellaceae*
Género I. *Rikenella*
Género II. *Alistipes*
Género III. *Marinilabilia*
Familia III. *Porphyromonadaceae*
Género I. *Porphyromonas*
Género II. *Dysgonomonas*
Género III. *Tannerella*
Familia IV. *Prevotellaceae*
Género I. *Prevotella*

Clase II. *Flavobacteria*
Orden I. *Flavobacteriales*
Familia I. *Flavobacteriaceae*
Género I. *Flavobacterium*
Género II. *Aequorivita*
Género III. *Arenibacter*
Género IV. *Bergeyella*
Género V. *Capnocytophaga*
Género VI. *Cellulophaga*
Género VII. *Chryseobacterium*
Género VIII. *Coenonia*
Género IX. *Croceibacter*
Género X. *Empedobacter*
Género XI. *Gelidibacter*
Género XII. *Gillisia*
Género XIII. *Mesonia*
Género XIV. *Muricauda*
Género XV. *Myroides*
Género XVI. *Ornithobacterium*
Género XVII. *Polaribacter*

www.medilibros.com

Glosario

Absceso Infección localizada, caracterizada por la producción de pus.

Aceptor de electrones Una sustancia que puede aceptar electrones de otra sustancia y que se reduce durante el proceso.

Acetogénesis Metabolismo energético con producción de acetato, bien a partir de H_2 más CO_2, bien a partir de compuestos orgánicos.

Acetotrófico Consumidor de acetato.

Ácido alcohol resistencia Una propiedad de las especies del género *Mycobacterium* donde las células teñidas con el colorante básico fuchsina resisten la decoloración con alcohol acidificado.

Ácido desoxirribonucleico (DNA) Material genético de las células y algunos virus.

Ácido dipicolínico Sustancia exclusiva de las endosporas que confiere la termorresistencia a esta estructura.

Ácido graso Un ácido orgánico que contiene un grupo carboxílico y una cadena de hidrocarburo de longitud variable, son los principales componentes de los lípidos.

Ácido nucleico de cadena más (positiva) Una cadena de RNA o DNA que tiene el mismo sentido que el mRNA de un virus.

Ácido nucleico de cadena menos (negativa) Una cadena de RNA o DNA que tiene el sentido opuesto (es decir, que es complementaria) del mRNA de un virus.

Ácido ribonucleico (RNA) Un polímero de nucleótidos unidos por esqueleto de ribosa-fosfato, implicados en la síntesis de proteínas o como material genético de algunos virus.

Ácido teicoico Un polialcohol fosforilado que se encuentra en la pared de las bacterias grampositivas.

Acidófilo Un organismo que crece mejor a pH bajo; normalmente a pH inferior a 6.

Ácidos grasos volátiles (AGV) La mayoría de los ácidos grasos (acetato, propionato y butirato) que se producen durante la fermentación en el rumen.

Actividad de agua (a_w) Disponibilidad de agua para su uso en procesos metabólicos.

Adenosina trifosfato (ATP) Nucleótido que es la forma principal en la que las células conservan y utilizan la energía química.

Adhesión Propiedad que permite a las células unirse a las superficies del hospedador.

ADN-T Segmento del plásmido Ti de *Agrobacterium tumefaciens* que se transfiere a las células vegetales.

Aerobio Un organismo que crece en presencia de O_2; puede ser facultativo, obligado o microaerófilo.

Aerosol Suspensión de partículas en gotículas de agua que viajan por el aire

Agente antimicrobiano Compuesto químico que mata o inhibe el crecimiento de los microorganismos.

Agente bactericida Un agente que mata las bacterias.

Agente bacteriostático Agente que inhibe el crecimiento bacteriano.

Agente fungicida Un agente que mata hongos.

Agente fungistático Un agente que inhibe el crecimiento de los hongos.

Agente quimioterapéutico Un agente antimicrobiano que puede usarse por vía interna.

Agente virucida Un agente que detiene la replicación vírica y la actividad.

Agente virustático Un agente que inhibe la replicación vírica.

Aglutinación Reacción entre un anticuerpo y un antígeno unido a una partícula, que da lugar a un agregado de partículas visible.

Agretopo Porción del antígeno procesado reconocido por la proteína MHC.

Agua contaminada Agua derivada del consumo humano o industrial que no puede ser vertida a un río o lago sin ser tratada adecuadamente.

Agua de distribución Agua potable que se distribuye por la red urbana después de su tratamiento.

Agua efluente Salida de aguas residuales tratadas de la planta de tratamiento de aguas residuales.

Agua en estado natural Agua superficial o subterránea que no ha sido tratada para su consumo (también llamada «agua sin tratar»).

Agua residual Líquidos contaminados con material fecal humano o animal.

Agua sin tratar Agua superficial o subterránea que no ha sido tratada para su consumo (también llamada «agua en estado natural»).

Aguda Infección de corta duración que se establece rápidamente y tiene una rápida recuperación.

Alcalófilo Un organismo que crece mejor a pH alto.

Alelo Secuencias variables de un determinado gen.

Alergia Una reacción inmunitaria perjudicial, normalmente causada por antígenos externos procedentes de los alimentos, polen, o sustancias químicas, que produce una inmediata o retardada hipersensibilidad.

Algas Eucariotas fototrópicos, incluyen tanto microorganismos como macroorganismos.

Alimentos alterados Cambio en las características organolépticas: apariencia, olor, o sabor, de un alimento que le hace inaceptable para su consumo.

Alimentos no perecederos (estables) Alimentos con baja actividad de agua que tienen un período de conservación más o menos largo ya que resiste al deterioro o alteración por microorganismos.

Alimentos perecederos Alimentos frescos generalmente con alta actividad de agua, con períodos de conservación muy cortos debido a su potencial deterioro por el crecimiento de microorganismos.

Alimentos semiperecederos Alimentos de intermedia actividad de agua que disponen de un tiempo de conservación limitado debido a la potencial alteración por el crecimiento de microorganismos.

Aminoácido Uno de los 22 monómeros diferentes que forman las proteínas; químicamente contiene un grupo carboxílico y un grupo amino en el carbono alfa.

Aminoacil-tRNA sintetasas Un grupo de enzimas cada una de las cuales cataliza la unión del aminoácido correcto a un tRNA.

Aminoglicósidos Grupo de antibióticos tales como la estreptomicina, que contienen aminoazúcares unidos por enlaces glicosídicos.

www.medilibros.com

AMP cíclico Nucleótido regulador que participa en la represión por catabolito.

Anabolismo La suma total de todas las reacciones biosintéticas de la célula.

Anaerobio Un organismo que crece en ausencia de O_2; en ocasiones pueden morir en presencia de O_2 (obligado o anaerobio estricto).

Anaerobio aerotolerante Un microorganismo anaerobio cuyo crecimiento no se inhibe por la presencia de O_2.

Anafilatoxinas Fracciones C3a y C5a del complemento que participan en algunas reacciones de anafilaxis.

Anafilaxis (choque anafiláctico) Una reacción violenta alérgica causada por una reacción antígeno-anticuerpo.

Análogo de un factor del crecimiento Un agente químico que es análogo de un factor de crecimiento y bloquea su incorporación.

Anamox Oxidación anóxica del amonio.

Anaplasmosis granulocítica humana (*HGA, human granulocytic anaplasmosis*) Ricketsiosis causada por *Ehrlichia ewingii* o *Anaplasma phagocytophilum*.

Anemia falciforme Condición genética que confiere resistencia a la malaria pero que causa una reducción en la eficacia de los glóbulos rojos para captar oxígeno.

Anergia clonal Incapacidad de producir una respuesta frente a antígenos específicos debido a la neutralización de las células efectoras.

Anión superóxido (O_2^-) Un compuesto derivado del O_2 capaz de producir la destrucción oxidativa de los componentes celulares.

Anóxico Sin oxígeno (se aplica principalmente a un medio de cultivo, hábitat o ambiente).

Antibiograma Estudio de la sensibilidad de los microorganismos clínicamente aislados a los antibióticos de uso en medicina humana.

Antibiótico Sustancia química producida por un microorganismo que mata o inhibe el crecimiento de otro microorganismo.

Antibiótico de amplio espectro Un antibiótico que actúa tanto sobre microorganismos grampositivos como sobre gramnegativos del dominio *Bacteria*.

Antibióticos β-lactámicos Grupo de antibióticos tales como la penicilina, que contienen el anillo β-lactámico de cuatro átomos heterocíclicos.

Anticodón Secuencia de tres bases en una molécula de tRNA que se aparea con un codón durante la síntesis de proteínas.

Anticuerpo Proteína producida por los linfocitos B, presentes en el suero u otros fluidos que se combina específicamente con el antígeno; también se le conoce como inmunoglobulina.

Anticuerpo fluorescente Modificación covalente de una molécula de anticuerpo con un colorante fluorescente, que hace al anticuerpo visible bajo luz de fluorescencia.

Anticuerpo monoclonal Anticuerpo producido por un clon individual de células B.

Anticuerpos policlonales Anticuerpos producidos por muchos clones diferentes de células B.

Antígeno Una molécula capaz de interaccionar con los componentes específicos del sistema inmunitario.

Antígenos de leucocitos humanos (HLA) Antígenos codificados por los genes del complejo principal de histocompatibilidad en el ser humano.

Antimicrobiano Dañino para los microorganismos, porque inhibe su crecimiento o porque los mata.

Antiparalelo En relación al DNA bicatenario, cuando las dos cadenas tienen sentidos opuestos (una va en sentido 5′ → 3′ y la cadena complementaria va 3′ → 5′).

Antiséptico Agente antimicrobiano suficientemente poco tóxico como para ser aplicado a los tejidos vivos.

Antisuero Un suero que contiene anticuerpos.

Antitoxina Un anticuerpo que se interacciona específicamente y neutraliza una toxina.

Apolar Que posee características hidrofóbicas (repulsión al agua) y se disuelve difícilmente en agua.

Apoptosis Muerte celular programada.

Árbol universal filogenético Un árbol filogenético que muestra la posición de los representantes de todos los dominios de organismos vivos.

Arquea Dominio filogenético de los procariotas que incluyen los metanógenos, halófilos extremos, hipertermófilos y acidófilos extremos como *Thermoplasma*.

Aspartamo Edulcorante no nutritivo constituido por los aminoácidos aspartato y fenilalanina, este último como metil éster.

Atenuación En un patógeno, la disminución o pérdida de virulencia. También, un mecanismo que controla la expresión génica; la transcripción se termina después de la iniciación pero antes de que se produzca un mRNA completo.

ATP Adenosina trifosfato, el principal portador de energía en la célula.

ATPasa (ATP sintetasa) Complejo enzimático multiproteico anclado en la membrana que cataliza la síntesis de ATP acoplada a la fuerza motriz de protones.

Autoanticuerpo Un anticuerpo dirigido contra antígenos propios.

Autoclave Un esterilizador que destruye los microorganismos con temperatura y vapor de agua bajo presión.

Autoinducción Mecanismo de regulación genética en el que están implicadas moléculas señal pequeñas y difusibles.

Autoinductor Moléculas señal pequeñas que participan en la percepción de quórum.

Autoinmunidad Reacciones inmunitarias contra los propios antígenos.

Autolisis Lisis celular espontánea, normalmente debida a la actividad de proteínas líticas llamadas autolisinas.

Autorradiografía Detección de radioactividad en una muestra, por ejemplo en una célula o gel, mediante el contacto con una película fotográfica.

Autotrofia Utilización de CO_2 como única fuente de carbono.

Autótrofo Organismo capaz de biosintetizar todo el material celular a partir del CO_2 como única fuente de carbono.

Auxótrofo Organismo que ha desarrollado un requerimiento nutricional mediante mutación. A diferencia del *prototrofo*.

Bacteria Grupo de procariotas filogenéticamente relacionados y distinto del dominio *arquea*.

Bacteria gramnegativa Célula procariótica cuya pared celular contiene una membrana externa y peptidoglicano y se tiñe de rosa en la tinción de Gram.

Bacteria grampositiva Célula procariótica cuya pared celular está compuesta básicamente por peptidoglicano y que se tiñe de morado en la tinción de Gram.

Bacterias entéricas Un gran grupo de bacilos gramnegativos y metabolismo anaerobio facultativo, que habitualmente colonizan el tracto intestinal de los animales.

Bacterias nitrificantes Quimiolitotrofos *bacteria* y *arquea* capaces de llevar a cabo la transformación $NH_3 \rightarrow NO_2^-$ o $NO_2^- \rightarrow NO_3^-$.

Bacterias reductoras de sulfato Un gran grupo de bacterias anaerobias que respiran anaeróbicamente utilizando SO_4^{2-} como aceptor de electrones produciendo H_2S.

www.medilibros.com

Bacterias rojas del azufre Un grupo de procariotas fototrópico que contienen bacterioclorofila *a* o *b,* que se caracterizan por su capacidad de oxidar H_2S y por acumular azufre elemental en el interior celular (excepto en el género *Ectothiorhodospira* que lo hace en el exterior).

Bacterias rojas no del azufre Un grupo de procariotas fototróficos que contienen bacterioclorofila *a* o *b* que crecen mejor como fotoheterotrofos y tienen relativamente baja tolerancia a H_2S.

Bacterias verdes del azufre Procariotas fototróficos anoxigénicos que contienen clorosomas y bacterioclorofilas *c*, *d* o *e*.

Bacteriemia Presencia transitoria de bacterias en la sangre.

Bacteriocinas Agentes producidos por ciertas bacterias que inhiben o matan especies relacionadas.

Bacterioclorofila Pigmento de los organismos fotosintéticos anoxigénicos que son tetrapirroles-magnesio sensibles a la luz.

Bacteriófago Un virus que infecta células procarióticas.

Bacteriorrodopsina Proteína de membrana que contiene retinal, producida por ciertos halófilos extremos de *arquea* y capaz de generar una fuerza motriz de protones mediante energía lumínica.

Bacteroide Células deformes de los rizobios en el interior de un nódulo radical de una planta leguminosa; puede fijar nitrógeno.

Baróf ilo Organismo que crece mejor a presiones elevadas superiores a 1 atm.

Baróf ilo extremo Organismo que es incapaz de crecer a presiones de 1 atm, y generalmente necesita algunos cientos de atm de presión para poder crecer.

Barotolerante Organismo que puede crecer a presiones elevadas, pero que crece mejor a presión atmosférica.

Bebida destilada Una bebida que contiene alcohol concentrado por destilación.

Biblioteca de DNA *Véase* biblioteca génica.

Biblioteca génica Conjunto de fragmentos clonados de DNA que contiene toda la información genética de un organismo en particular.

Biocatálisis La utilización de microorganismos para sintetizar un producto o realizar una transformación química específica.

Bioconversión La utilización de microorganismos para realizar una reacción química que es más cara o irrealizable no biológicamente.

Biogeoquímica Estudio de las transformaciones químicas realizadas por organismos de interés geoquímico, por ejemplo, ciclo del nitrógeno o azufre.

Bioinformática Uso de programas informáticos para analizar, guardar y acceder a secuencias de DNA y proteínas.

Bioluminiscencia La producción enzimática de luz visible por los organismos vivos.

Biopelícula Colonias de células microbianas recubiertas o incluidas en sustancias mucosas, normalmente polisacáridos y adheridas a una superficie.

Biopolímeros Sustancias poliméricas producidas biológicamente (y, por tanto, biodegradables).

Biorremediación Utilización de los microorganismos para eliminar o detoxificar sustancias químicas toxicas o indeseables del ambiente.

Biosíntesis Producción de los constituyentes celulares necesarios a partir de otras moléculas, generalmente más sencillas.

Biota normal (microbiota) Microorganismos que están presentes generalmente en los tejidos sanos.

Biotecnología Utilización de organismos, normalmente modificados genéticamente, para llevar a cabo procesos químicos concretos destinados a la aplicación industrial, médica o agricultura.

Biotransformación En microbiología industrial, es la utilización de microorganismos para convertir una sustancia en una forma químicamente modificada.

Botulismo Intoxicación alimentaria debida a la ingestión de alimentos que contienen la toxina botulínica producida por *Clostridium betulinum.*

Brote Aparición de un gran número de casos de una enfermedad en un corto período de tiempo.

Cadena avanzada (*leading strand*) Nueva cadena de DNA que se sintetiza de forma continua durante la replicación del DNA.

Cadena más (positiva) Una banda de RNA o DNA que tiene el mismo sentido que el mRNA del virus.

Cadena menos (negativa) Del ácido nucleico, una banda de RNA o DNA que tiene sentido opuesto al (es complementaria de) mRNA del virus.

Cadena negativa Ácido nucleico de sentido opuesto (complementario) a mRNA.

Cadena positiva Ácido nucleico del mismo sentido que el mRNA.

Cadena retardada La nueva cadena de DNA que se sintetiza en forma de fragmentos pequeños y posteriormente se juntan.

Calva o placa Una zona de lisis o inhibición celular causada por la infección vírica de un césped de células sensitivas.

Cambio del marco de lectura (*reading-frame shift*) *Véase* marco de lectura (*frameshift*).

Cambios antigénicos Grandes cambios en los antígenos debidos a reagrupamientos génicos en el virus de la gripe.

Capa viscosa Fibras difusas que rodean la célula y que se extienden fuera de ella.

Capa-S Una lámina paracristalina que rodea la pared constituida por proteína o glicoproteínas, se encuentra en algunos procariotas.

Cápsida Cubierta proteica que rodea el genoma del virus.

Capsómero Subunidad de la cápsida del virus.

Cápsula Bien definida y densa capa de polisacárido o proteína que rodea a la célula.

Carboxisomas Inclusiones celulares cristalinas y poliédricas de ribulosa difosfato carboxilasa (RubisCO), enzima clave del ciclo de Calvin.

Carcinógeno Una sustancia que causa la formación inicial de un tumor. Frecuentemente mutágeno.

Carga vírica Valoración cuantitativa de la cantidad de virus que hay en un organismo.

Caries dental Deterioro dental como resultado de una infección bacteriana.

Carotenoides Pigmentos hidrofóbicos accesorios presentes en las membranas fotosintéticas junto con la clorofila.

Casete de DNA Segmento de DNA diseñado artificialmente, que suele contener un gen de resistencia a antibiótico o algún otro marcador de interés y está flanqueado por sitios de restricción convenientes.

Casete de mutagénesis Crear mutaciones por la inserción de DNA presente en el casete.

Catálisis Aumento de la tasa de reacción química.

Catalizador Sustancia que acelera una reacción química pero que no se consume en la reacción.

Cebador Fragmento pequeño de DNA o RNA (oligonucleótido) utilizado para iniciar la síntesis de una nueva hebra de DNA.

Célula Unidad fundamental de la materia viva.

www.edilibro.com

Célula asesina natural (NK, del inglés *natural killer*) Leucocito especializado que reconoce y destruye células extrañas o células infectadas del hospedador, sin que exista un reconocimiento específico del antígeno.

Célula B Linfocito que produce inmunoglobulinas y puede presentar antígenos a las células T.

Célula CD4 Células T cooperadores. Son las diana de la infección por VIH.

Célula dendrítica Tipo de leucocito que puede fagocitar y presentar antígenos a las células T, y se encuentran en los nódulos linfáticos y bazo.

Célula Hfr Una célula con el plásmido F integrado en el cromosoma.

Célula madre Una célula que puede diferenciarse en diferentes tipos de células.

Célula plasmática Linfocito B diferenciado de vida corta especializado en la producción de anticuerpos.

Célula presentadora de antígeno (APC) Macrófago, célula dendrítica, o célula B que presenta péptidos procesados del antígeno a la célula T.

Célula T Linfocito responsable de las respuestas celulares específicas de antígeno. Los linfocitos T se subdividen en T citotóxicos (Tc) y T cooperadores (T_H). Los cooperadores se subdividen en T_H1 (células proinflamatorias) y T_H2, que ayudan a producir anticuerpos.

Centro de reacción Complejo fotosintético que contiene clorofila (o bacteriocloro fila) y otros componentes, dentro del cual se producen las reacciones iniciales de transferencia de electrones en la fotosíntesis.

Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) Agencia del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos que hace el seguimiento de enfermedades, suministra información sobre ellas a los profesionales de la salud y al público, y establece normas para la prevención e intervención de enfermedades.

Cepa Población de células de una sola especie descendientes de una única célula; un clon.

Cepa mutadora Cepa mutante en la que tasa de mutación está aumentada.

Cerveceo (*brewing*) Elaboración de bebidas alcohólicas tales como la cerveza a partir de la fermentación de cereales malteados.

Chaperonina (chaperona molecular) Proteína que ayuda a otras proteínas en el plegamiento.

Chimenea hidrotermal Manantial termal de las profundidades del océano del que mana agua templada (~20 °C) o supercalentada (~300 °C).

Chimenea negra Fuente hidrotermal submarina muy caliente (250-350 °C) que expulsa agua muy caliente y distintos minerales.

Cianobacteria Procariotas fotosintéticos oxigénicos que contienen clorofila *a* y ficobilinas pero no clorofila *b*.

Ciclo de Calvin Reacciones biosintéticas en que la mayoría de organismos fotosintéticos convierten el CO_2 a compuestos orgánicos.

Ciclo del ácido cítrico Ciclo de reacciones que dan como resultado la conversión del acetato en dos moléculas de CO_2 y NADH. También denominado *ciclo del ácido tricarboxílico* o *ciclo de Krebs*.

Ciclo del ácido cítrico inverso Sistema de autotrofia de las bacterias verdes del azufre y otros procariotas no fotosintéticos.

Ciclo del glioxilato Una serie de reacciones en las que se incluyen las reacciones del ácido cítrico que se utiliza para el crecimiento aerobio a partir de ácidos orgánicos de C_2 o C_3.

Ciclo lisogénico Una serie de etapas que, tras la infección del virus, conducen a un estado (lisogenia) en el que el genoma vírico se replica como un profago junto con el genoma del hospedador.

Ciclo lítico Una serie de etapas tras la infección del virus que conduce a la replicación vírica y destrucción (lisis) de la célula hospedadora.

Ciliados Un grupo de protistas que se caracterizan por su rápido movimiento producido por los cilios: apéndices cortos y numerosos.

Cirrosis Destrucción de la estructura normal del hígado que produce una fibrosis.

Cisto Forma de resistencia de algunas bacterias y protistas en la que la célula está rodeada por una pared gruesa que le confiere una notable resistencia química y física. No confundir con la espora o endospora.

Cistrón gen definido por el análisis cis-trans; segmento de DNA (o RNA) que codifica una sola cadena polipeptídica.

Citocromo Porfirina con hierro acomplejada con proteínas, cuya función es llevar y transportar electrones.

Citoesqueleto Típicamente, consiste en un entramado de microfibrillas típico de las células eucarióticas que determina la forma celular. Recientemente, se ha descubierto también la presencia de microfibrillas en bacterias, lo que podría suponer un inicio de citoesqueleto en procariotas.

Citoplasma Porción fluida de una célula limitada por la membrana celular exceptuando el núcleo (si existe).

Citoquina Proteína pequeña, soluble, producida por un linfocito y encargada de modular las reacciones inflamatorias y la inmunidad a través de sus efectos en las células diana.

Clarificador (depósito de coagulación) Reservorio en el cual los sólidos en suspensión del agua son coagulados y eliminados.

Clon En inmunología, una copia de linfocitos antígenos reactivos, normalmente en elevados números. También, un número de copias de un fragmento de DNA obtenido a partir de un fragmento insertado de DNA para ser replicados en un fago o plásmido.

Clonación molecular Aislamiento e incorporación de un fragmento de DNA dentro de un vector en el que puede replicarse.

Clonación por shot-gun Fabricación de una genoteca utilizando fragmentos de DNA obtenidos al azar.

Cloramina Sustancia química producida *«in sito»* por la combinación de cloro y amoniaco en una proporción determinada.

Cloro Sustancia química que en su estado gaseoso se emplea para desinfectar el agua. Un cierto nivel residual se mantiene en el sistema de distribución.

Cloración Tratamiento de desinfección de las aguas de consumo mediante la utilización de cloro gas u otro compuesto que contiene cloro.

Clorina A Un compuesto que se utiliza en estado gaseoso para desinfectar el agua. Se mantiene un nivel residual en el sistema de distribución.

Clorofila Pigmento de los organismos fototrópicos sensibles a la luz, tetrapirroles con magnesio, que inicia el proceso de fotofosforilación.

Cloroplasto El orgánulo fotosintético de eucariotas fototrópicos que contienen clorofilas.

Clorosomas Estructuras en forma de cigarro rodeados por membrana atípica y que contienen los pigmentos fotosintéticos bacteriocloro fílicas (*c*, c_s, *d* o *e*) en bacterias verdes del azufre y *Chloroflexus*.

Coagulación Formación de grandes partículas insolubles a partir de partículas coloidales mucho menores, mediante adición de sulfato de aluminio y polímeros aniónicos.

Coco Bacteria esférica.
Cocoide De forma esférica.
Codón Secuencia de tres bases en el mRNA que codifica un aminoácido.
Codón de inicio Codón especial, normalmente UAG, que marca o señala el inicio de la proteína.
Codón de parada o finalización Codón especial que señala el final de la proteína.
Codón de sentido alterado Codón que define un aminoácido distinto del que especifica habitualmente.
Codon de uso Proporción relativa de diferentes codones que codifican el mismo aminoácido. Varía en los diferentes organismos.
Coenocítico Presencia de múltiples núcleos en las hifas sin septos de los hongos.
Coenzima Una pequeña molécula no proteica que participa en una reacción enzimática que acepta o dona electrones o grupos funcionales. Ejemplos: NAD^+, FAD.
Coliformes Bacterias gramnegativas, no esporuladas, bacilos anaerobicos facultativos, fermentan la lactosa y producen gas en 48 horas a 35 °C de incubación.
Colonia Población de células en crecimiento en un medio sólido que se originan a partir de una única célula, que es macroscópicamente visible.
Colonial Forma de crecimiento de determinados protistas y algas verdes en que algunas células viven juntas y cooperan en funciones de movilidad, alimentación y reproducción; constituye una forma temprana de multicelularidad.
Colonización Multiplicación de un patógeno después de la unión a un tejido del hospedador u otra superficie.
Columna de Winogradsky Una columna compactada con lodo y cubierta con agua para imitar un lago, donde diversas bacterias se desarrollan en un período de meses.
Comensalismo Tipo de simbiosis en el que sólo uno de los dos organismos de la relación se beneficia.
Comercialización de sustancias químicas Sustancias químicas, tales como el etanol que tiene bajo coste y se vende al por mayor.
Cometabolismo Metabolismo de un compuesto en presencia de un segundo compuesto orgánico, que es usado como fuente primaria de energía.
Competencia Capacidad de captar el DNA exterior para poder ser transformada genéticamente
Complejo principal de histocompatibilidad (MHC) Una región genética que codifica varias proteínas importantes para la presentación de antígenos y otras funciones defensivas del hospedador (Las proteínas MHC I se expresan en todas las células. Las proteínas MHC II se expresan solamente en células presentadoras de antígeno).
Complementario Secuencias de ácidos nucleicos que forman parejas de bases entre ellas.
Complemento Conjunto de proteínas que reaccionan secuencialmente con complejos antígeno-anticuerpo, lectina que une manosa, o proteínas de activación de la vía alternativa para amplificar o potenciar la destrucción de células diana.
Composición de bases Hace referencia a los ácidos nucleicos, la proporción de bases total consiste en los pares guanina-citosina más los pares adenina-timina. Normalmente se expresa como el valor guanina-citosina (GC), por ejemplo, 60% GC.
Concatámero Dos o más moléculas de ácidos nucleicos lineales idénticas en tándem.
Concentración mínima inhibitoria (CMI) La concentración mínima de una sustancia necesaria para prevenir el crecimiento microbiano.
Conidios Esporas asexuales de los hongos.
Conjugación Transferencia de genes de una célula procariótica a otra por un mecanismo que implica contacto célula-célula.
Consorcios Asociación de dos o más procariotas en la que cada organismo se beneficia de los otros.
Contagioso Transmisible.
Control negativo Mecanismo que regula la expresión génica en el cual una proteína represora funciona previniendo la transcripción de uno o más genes.
Control positivo Mecanismo que regula la expresión génica en el que una proteína activadora funciona promoviendo la transcripción de uno o más genes.
Corte y empalme Paso de procesamiento del RNA en el que los intrones se eliminan y los exones se unen.
Córtex Parte de la envuelta de la endospora.
Crecimiento Incremento en el número de células.
Crecimiento exponencial Crecimiento de un microorganismo cuyo número de células se duplica en un período constante de tiempo.
Crecimiento intercalar En la división celular, elongación de la célula en los puntos de crecimiento.
Crenarchaeota Un filum de *arquea* que contiene microorganismos hipertermófilos y psicrófilos.
Cromogénico Produce color; por ejemplo, una colonia cromogénica es una colonia pigmentada.
Cromosoma Elemento genético que contiene genes esenciales para realizar todas las funciones celulares. Los procariotas tienen generalmente un cromosoma circular único. Los eucariotas típicamente tienen varios cromosomas, cada uno de los cuales son moléculas lineales de DNA.
Cromosoma artificial Vector de una sola copia que puede contener insertos extremadamente largos de DNA y se utiliza ampliamente para clonar segmentos de genomas grandes.
Crónica Infección de larga duración.
Cronómetro evolutivo Una molécula, tal como el RNA ribosómico, cuya secuencia molecular puede utilizarse para medir divergencias evolutivas.
Cuarentena La práctica de restringir el desplazamiento de individuos con enfermedades altamente contagiosas, con el fin de evitar la difusión de la enfermedad.
Cuerpo basal Parte del flagelo bacteriano embebido en la membrana celular y la pared.
Cuerpo fructífero Estructura reproductora macroscópica producida por algunos hongos (p.ej. setas) y algunas *Bacteria* (p.ej. mixobacterias), que presentan distinto tamaño, forma y coloración.
Cultivo Una cepa o diferentes tipos de microorganismos que se desarrollan bajo condiciones de laboratorio.
Cultivo axénico o puro Cultivo microbiano que contiene una única clase de microorganismo.
Cultivo de enriquecimiento Método de obtención de cultivos de laboratorio de microorganismos a partir de una muestra natural.
Cultivo monofásico o en batch Cultivo microbiano que funciona como un sistema cerrado de volumen constante.
Cutáneo Relacionado con la piel.

DAPI (4,6-diamino-2-fenilindol) Colorante fluorescente inespecífico para la tinción de bacterias en muestras naturales para el cálculo del número de células.
Decloración reductora Eliminación de Cl como Cl^- de un compuesto orgánico, reduciendo el átomo de carbono de C—Cl a C—H.
Degenerativo En relación con el código genético, más de un codón puede codificar el mismo aminoácido.

Delección Eliminación de un fragmento de gen.
Delección clonal Eliminación, en el timo, de los linfocitos T autorreactivos y los no reactivos (clones inútiles).
Demanda biológica de oxígeno (DBO) Cantidad de oxígeno disuelto en el agua consumido por los microorganismos para la completa oxidación del material, tanto orgánico como inorgánico, en una muestra de agua.
Deriva antigénica Pequeños cambios en los antígenos debidos a mutaciones en el genoma del virus de la gripe.
Descontaminación Tratamiento que hace que un objeto o superficie inanimada sea manipulable sin riesgo.
Desecación Pérdida de agua.
Desinfección El proceso de eliminación de prácticamente todos los patógenos, pero no todos los microorganismos, de objetos inanimados o de superficies.
Desinfectante Agente antimicrobiano utilizado en objetos o superficies inanimados.
Desnaturalización Eliminación del plegamiento correcto de una proteína que conduce (generalmente) a la pérdida de la actividad biológica.
Desnitrificación Conversión microbiana del nitrato a nitrógeno gas en condiciones anóxicas.
Desproporción Desdoblamiento de un compuesto en dos nuevos compuestos, uno más oxidado y otro más reducido que el compuesto original.
Determinante antigénico (epítopo) La parte del antígeno que reacciona específicamente con un anticuerpo (inmunoglobulina) o un receptor de la célula T; se llama también epítopo.
Diferenciación Modificación de una célula en términos de estructura y/o función que tiene lugar durante el desarrollo.
Dioxigenasa Enzima que cataliza la incorporación de los dos átomos del O_2 en un sustrato.
Diploide En eurariotas, un organismo o célula con dos cromosomas complementarios, cada uno proviene de cada gameto haploide.
Disrupción génica Uso de técnicas genéticas para inactivar un gen mediante la inserción en su interior de un fragmento de DNA conteniendo un marcador fácilmente seleccionable. El fragmento insertado se denomina *casete, y* el proceso de inserción *mutagénesis por casete*.
Distancia evolutiva En el árbol filogenético, la suma de las distancias físicas que separan dos organismos de su antecesor común en un árbol; esta distancia es inversamente proporcional a su relación evolutiva.
Divisoma Complejo proteico implicado en procesos de división celular en procariotas.
DNA Ácido desoxirribonucleico, material hereditario de las células y de algunos virus.
DNA girasa Enzima que introduce superenrollamientos negativos en el DNA, se encuentra en la mayoría de procariotas.
DNA girasa inversa Una topoisomerasa presente en todos los procariotas hipertermófilos que introduce superenrollamiento positivo en el DNA.
DNA polimerasa Una enzima que sintetiza una nueva cadena de DNA en la dirección $5' \rightarrow 3'$ usando una cadena antiparalela de DNA como molde.
DNA sintético Molécula de DNA sintetizada químicamente en el laboratorio.
Dominio Región de una proteína que generalmente posee un plegamiento definido y una función determinada.
Donador de electrones Una sustancia que puede ceder electrones a un aceptor y que se oxida durante el proceso.
Drenaje ácido de las minas Agua ácida que contiene H_2SO_4 procedente de la oxidación microbiana de minerales de sulfuro de hierro.

Ecología Estudio de las interacciones entre los organismos en sus ambientes naturales.
Ecología microbiana Estudio de la interacción de los microorganismos entre sí y con el medio.
Ecosistema Una comunidad de organismos en su medio natural.
Ecotipo Una población de células genéticamente idénticas que comparten un medio (recurso) particular dentro de un nicho ecológico.
Edición de RNA Modificación del transcrito de RNA, diferente al procesado normal de RNA, para llegar a una molécula totalmente funcional.
Ehrlichiosis De las enfermedades transmitidas por garrapatas, causadas por ricketsias del género *Ehrlichia*.
Ehrlichiosis monolítica humana Ricketsiosis causada por *Ehrlichia chaffeensis* o *Neorickettsia sennetsu*.
Electroforesis Separación de moléculas cargadas en un campo eléctrico.
Electroforesis en gel desnaturalizante en gradiente (DGGE) Técnica electroforética que puede separar fragmentos de ácido nucleico del mismo tamaño pero de distinta secuencia.
Electroporación Se utiliza un pulso eléctrico para inducir a las células la captación de DNA libre.
Elemento transponible Un elemento genético capaz de moverse de un sitio a otro de la molécula de DNA del hospedador.
ELISA Enzimoinmunoanálisis. Un inmunoensayo que utiliza anticuerpos específicos para detectar antígenos o anticuerpos en los fluidos corporales. Los complejos de anticuerpos se visualizan mediante reacciones enzimáticas. Al añadir un sustrato al complejo enzima-anticuerpo-antígeno produce una reacción coloreada.
Enantiómero Una forma de una molécula que es la imagen especular de otra forma de la misma molécula.
Encefalopatía espongiforme transmisible Enfermedad degenerativa del cerebro causada por la infección de un prión.
Endémica Enfermedad constantemente presente, habitualmente en bajo número en la población. Comparar con *epidémica*.
Endocitosis Proceso en el que una partícula, como un virus, se introduce intacta dentro de la célula animal. La fagocitosis y la pinocitosis son dos tipos de endocitosis
Endosimbiosis Asociación permanente y estable de un tipo de célula dentro de otra célula.
Endosimbiosis primaria Adquisición de una α-proteobacteria o una cianobacteria como ancestros de la mitocondria y cloroplastos, respectivamente.
Endospora Una forma de resistencia al calor y otras condiciones ambientales, rodeada por una gruesa pared que se origina por diferenciación en algunas *Bacteria* grampositivas.
Endotoxina Fracción del lipopolisacárido de le pared celular de algunas bacterias gramnegativas, que al solubilizarse actúa como una toxina. Comparar con exotoxina.
Energía de activación Es la energía requerida para llevar al sustrato a un estado reactivo.
Energía libre Energía disponible para la realización de un trabajo (se representa con G).
Enfermedad Daño que se produce en un hospedador y que afecta a su capacidad funcional.
Enfermedad de Lyme Enfermedad emergente transmitida por las garrapatas y causada por la espiroqueta *Borrelia hurgdorferi*.

Material de uso exclusivo

Enfermedad de transmisión sexual (STD) Enfermedad cuya forma habitual de transmisión es por contacto sexual.

Enlace covalente Un tipo de enlace químico en el que dos átomos comparten electrones.

Enlace fosfodiéster Un tipo de enlace covalente que une a los nucleótidos de un polinucleótido.

Enlace glicosídico Un tipo de enlace covalente que une monosacáridos para formar un polisacárido.

Enlace peptídico Un tipo de enlace covalente entre los aminoácidos de un polipéptido.

Enlace puente de hidrógeno Unión química débil entre un átomo de hidrógeno y otro elemento más electronegativo, normalmente un átomo de oxígeno o nitrógeno.

Ensayo de reducción del acetileno Método para medir la actividad de la nitrogenasa mediante la utilización de acetileno en vez del substrato natural N_2. El acetileno se reduce a etileno o etano, en función del tipo de nitrogenasa implicada.

Enterotoxina Proteína liberada por un organismo mientras se multiplica *(véase* exotoxina*)* y que actúa sobre el intestino delgado.

Entropía Una medida del grado de desorden en un sistema. La entropía siempre aumenta en un sistema cerrado.

Envasado Proceso de almacenamiento de alimentos en un recipiente cerrado y posterior calentamiento para destruir los microorganismos vivos.

Envuelta En referencia a un virus, contienen una membrana lipoproteica que rodea el virión.

Enzima Una proteína que tiene la capacidad de acelerar (catalizar) una reacción química específica.

Enzima alostérica Una enzima que contiene dos sitios combinantes, el sitio activo (donde se une el sustrato) y el sitio alostérico (donde se une una molécula efectora).

Enzima de restricción Enzima que reconoce y rompe DNA de doble cadena en sitios específicos de la secuencia de DNA.

Enzima inmovilizada Una enzima unida a un soporte sólido sobre el que se pasa el sustrato y se convierte en producto.

Enzima unida a un soporte inmunoabsorbente (ELISA) Inmunoensayo que utiliza anticuerpos para detectar antígenos o anticuerpos de fluidos corporales.

Enzoótico Enfermedad endémica de una población animal.

Epidemia Aparición de una enfermedad en un número de personas muy elevado, en una región localizada.

Epidemia con origen común Epidemia que resulta al infectarse un gran número de personas por una misma fuente de contaminación.

Epidemia de persona a persona Epidemia que resulta del contacto entre dos personas, caracterizada por una gradual elevación y descenso del número de casos.

Epidemiología Estudio de la incidencia, distribución y control de las enfermedades infecciosas.

Epilimnion Superficie del agua menos densa y caliente de un lago estratificado.

Epítopo Porción de un antígeno que es reconocida por una inmunoglobulina o un receptor de célula T.

Epizoótico Enfermedad epidémica de las poblaciones animales.

Escabeche Proceso de acidificación de los alimentos para prevenir el crecimiento de microorganismos y su alteración.

Escalado o cambio de escala Adaptación de un proceso industrial desde las condiciones de un pequeño de laboratorio a las de una fermentación comercial a gran escala.

Escarlatina Característica erupción rojiza como resultado de la presencia de una exotoxina producida por *Streptococcus pyogenes*.

***Escherichia coli* O157:H7** Cepa enterotoxigénica de *E. coli* que se propaga por contaminación fecal de origen animal o humano en alimentos y agua.

Esferoplasto Una célula de forma esférica, sensible osmóticamente que proviene de una bacteria que ha perdido parte de la pared. Si pierde totalmente la pared, recibe el nombre de *protoplasto*.

Especie En microbiología, una colección de cepas que comparten un gran número de propiedades importantes pero difieren en una o más propiedades significativas de otras colecciones de cepas.

Especificidad Característica de la respuesta inmunitaria para interaccionar selectivamente frente antígenos individuales.

Espirilos De forma en espiral.

Espiroqueta Un procariota alargado y fuertemente curvado o helicoidal que se caracteriza por poseer filamentos axiales para su movilidad).

Esplíceosoma Un complejo de ribonucleoproteínas que cataliza la eliminación de los intrones del transcrito primario de RNA.

Espora Un término general para definir las estructuras de resistencia formadas por algunos procariotas y hongos.

Esporozoos Protozoos parásitos inmóviles.

Estéril Ausencia de cualquier organismo vivo y de virus y de sus formas de resistencia.

Esterilización La muerte o eliminación de todos los organismos vivos y sus virus de un medio de crecimiento.

Esterilizante Un agente químico que destruye todas las formas de vida.

Esterol molécula hidrofóbica de naturaleza heterocíclica que refuerza la membrana citoplasmática de las células eucarióticas y de unas pocas procarióticas.

Estroma La membrana interna que rodea el lumen de los cloroplastos.

Estromatolitos Masas microbianas laminadas, típicamente construidas por capas de organismos filamentosos y no filamentosos que pueden encontrarse fosilizadas.

Estructura cuaternaria El número y disposición de los polipéptidos individuales en la molécula final de una proteína.

Estructura primaria La secuencia precisa de las unidades monoméricas en una macromolécula portadora de información, como por ejemplo en un polipéptido.

Estructura secundaria El modo inicial de plegamiento de un polipéptido o polinucleótido, normalmente dependiente de las posibilidades de establecer puentes de hidrógeno.

Estructura terciaria El plegamiento final de un polipéptido que previamente ha adoptado su estructura secundaria.

Eucariota Una célula con un núcleo delimitado por una membrana nuclear y otros orgánulos con membranas, pertenecientes al dominio *Eukarya*.

Eukarya Todas las células eucarióticas: algas, protozoos, hongos, hongos mucosos, plantas y animales.

Euryarchaeota Un filum de *arquea* que comprende microorganismos metanógenos, halófilos extremos y el género *Thermoplasma* y algunos hipertermófilos marinos.

Evolución Cambio de una línea de descendencia a lo largo del tiempo para dar origen a la producción de una nueva especie o variedad.

Exoenzima Una enzima producido por un microorganismo que posteriormente es excretado al ambiente

Exón La secuencia codificante de un gen (lo contrario que un intrón).

Exotérmica Que libera energía.

Exotoxina Proteína liberada por un microorganismo durante el crecimiento y que posee efectos tóxicos sobre las células del

www.elsolucionario.com

hospedador.

Expresión Formación de un producto a partir de un gen dentro de la célula.

Exteína Porción de una proteína que permanece y tiene actividad biológica tras la eliminación de las inteínas.

Extremoenzima Una enzima capaz de funcionar en presencia de una o varias condiciones físicas o químicas extremas, por ejemplo a altas temperaturas o bajo pH.

Extremófilo Un organismo que crece de modo óptimo en una o más condiciones físicas o químicas extremas, como por ejemplo a alta o baja temperatura o pH.

Factor análogo de crecimiento Agente químico que por semejanza estructural bloquea la utilización de un factor de crecimiento.

Factores Nod Oligosacáridos producidos por las bacterias de los nódulos que ayudan en la interacción inicial de la simbiosis bacteria-planta.

Facultativo Adjetivo calificativo en el que un organismo es capaz de crecer, bien en presencia, bien en ausencia de un determinado factor ambiental (por ejemplo, aerobio facultativo).

Fagémido Vector de clonación que puede replicarse como plásmido o como bacteriofago.

Fago *Véase* bacteriófago.

Fagocito Tipo de célula que reconoce, ingiere y degrada patógenos.

Fagocitosis Proceso por el cual una partícula es englobada por la membrana citoplasmática e internalizada.

FAME Metil éster de ácido graso.

Familia En la clasificación biológica, un nivel intermedio de jerarquía taxonómica. Contiene uno o más géneros, cada uno con una o más especies.

Familia génica Genes relacionados por su secuencia con otros genes del mismo organismo.

Fase estacionaria El período que sigue al crecimiento exponencial cuando la velocidad de crecimiento de la población es cero.

Fase exponencial Período durante el crecimiento de una población en el que se incrementa la población de forma exponencial.

Fase lag Período anterior a la fase de crecimiento exponencial cuando las células pueden tener un metabolismo activo pero aún no crecen.

Fenotipo Las características observables de un organismo.

Fermentación Catabolismo anaeróbico en el que un compuesto orgánico sirve al mismo tiempo como donador y como aceptor de electrones y en el que el ATP se produce por fosforilación a nivel de sustrato.

Fermentación secundaria Una fermentación donde el sustrato es un producto de otra fermentación producido por otros microorganismos.

Fermentación (industrial) Utilización de la actividad microbiana a gran escala.

Fermentador Tanque en el que se realiza una fermentación industrial.

Ferredoxina Transportador de electrones de potencial de reducción muy negativo; proteína de pequeño tamaño que contiene átomos de hierro-azufre.

Ficobilina Captura de la luz por la cadena del tetrapirrol de complejo ficobiliproteínas.

Ficobilisoma Agregados de ficobiliproteínas.

Ficobiliproteína Complejo pigmentario accesorio de las cianobacterias que contiene una molécula de ficocianina o ficoeritrina acoplada a proteínas.

Fiebre Aumento en la temperatura corporal por encima de lo normal.

Fiebre del oeste del Nilo Una enfermedad neurológica producida por el virus del Oeste del Nilo que se transmite por mosquitos desde los pájaros a los humanos.

Fiebre hemorrágica con síndrome renal Enfermedad viral aguda que se caracteriza por fallo renal causada por hantavirus transmitido por roedores.

Fiebre reumática Enfermedad inflamatoria autoinmune producida por una respuesta inmunitaria frente a una infección por *Streptococcus pyogenes*.

Fijación de nitrógeno Reducción biológica de N_2 a NH_3 por la nitrogenasa.

Fijación del complemento Consumo del complemento por la reacción anticuerpo-antígeno.

Filamento intermediario Polímero filamentoso o fibroso de la proteína queratina, superenrollado en gruesas fibras, cuya función es el mantenimiento de la forma celular y de algunos orgánulos en la célula eucariota

Filamentoso Forma muy alargada de los bacilos, más largo que ancho.

Filogenia Relaciones evolutivas entre organismos.

Filotipo En el análisis de la comunidad microbiana, una secuencia única de un gen marcador filogenético.

Filtración Eliminación de las partículas en suspensión del agua mediante el paso de ésta a través de una o varias membranas o medios permeables (por ejemplo, arena, antracita o tierra de diatomeas).

Filtro HEPA (*High efficiency particulate air*) Se utiliza en laboratorios e industria para eliminar las partículas, incluyendo los microorganismos del aire que penetran en una zona determinada. A veces, sirve también para evitar la contaminación del ambiente a partir del aire extraído.

Filum Un grupo evolutivo principal en uno de los tres dominios de vida.

Fimbria Estructuras filamentosas cortas de la célula bacteriana; aunque se parece al flagelo en estructura, generalmente contiene muchas copias y no están implicadas en la movilidad. Desempeña un papel en la adhesión a superficies.

FISH Hibridación fluorescente in situ.

Fisión binaria División celular que sigue al aumentar una célula dos veces su tamaño mínimo.

Fitanil Cadena hidrocarbonada de 20 átomos de carbono, ramificada y presente en los lípidos de *arquea*.

Fitopatógeno Un microorganismo que produce enfermedad en una planta.

Flagelación polar Tiene flagelos en uno o ambos polos de la célula.

Flagelo Un apéndice largo y delgado con capacidad de rotación que se presenta en algunos procariotas y es responsable de su propulsión en medios líquidos.

Flavoproteína Proteína que contiene un derivado de la riboflavina que funciona como transportador de electrones.

Floculación Proceso de tratamiento del agua, posterior a la coagulación, que mediante una ligera agitación hace que las partículas suspendidas formen masas agregadas de mayor tamaño (flóculos).

Fluorescente Que tiene la capacidad de emitir luz de determinadas longitudes de onda cuando son activadas por otra luz con diferente longitud de onda.

Fomites Objetos inanimados que, si se contaminan con un patógeno viable, pueden transferir el patógeno al hospedador.

Forma replicativa Molécula de DNA bicatenario que es un intermediario en la replicación de virus con DNA unicatenario.

Fotofosforilación Producción de ATP mediante la fuerza motriz de protones formada por reacciones fotosintéticas.

Fosforilación a nivel de sustrato Producción de ATP por transferencia directa de una molécula de fosfato de alta energía desde un compuesto orgánico fosforilado hasta ADP.

Fosforilación oxidativa Producción de ATP a expensas de la fuerza motriz de protones generada por el transporte de electrones.

Fotoautotrofo Un organismo capaz de utilizar la luz del sol como única fuente de energía y el CO_2 como fuente de carbono.

Fotofosforilación cíclica Reacciones de síntesis de ATP por la luz en los organismos fototrofos, donde los electrones se desplazan en un ciclo cerrado, estableciendo una fuerza protón motriz.

Fotoheterotrofo Organismo que utiliza la luz como fuente de energía y compuestos orgánicos como fuente de carbono.

Fotosíntesis Utilización de la energía lumínica para la fijación de CO_2 dando material celular. *Véase también* fotosíntesis anoxigénica y fotosíntesis oxigénica.

Fotosíntesis anoxigénica Utiliza la energía lumínica para sintetizar ATP por la fotofosforilación cíclica sin la producción de O_2.

Fotosíntesis oxigénica Fotosíntesis realizada por cianobacterias, algas y plantas verdes en las que se produce O_2.

Fototaxis Movimiento de un organismo hacia la luz.

Fototrofo Un organismo que utiliza la luz como fuente de energía.

Fraccionamiento isotópico Discriminación por las enzimas de los isótopos *más pesados* de los diversos isótopos de C, S, etc., lo que lleva al enriquecimiento de isótopos más ligeros durante el metabolismo.

FtsZ Una proteína clave en la división celular que forma un anillo a lo largo del plano de división para iniciar la elongación celular.

Fuentes hidrotermales submarinas Una fuente caliente de las profundidades marinas, o un manantial caliente.

Fuerza motriz de protones Un estado energético de la membrana que deriva de la separación de la carga y los elementos del agua (H^+ frente a OH^-) a través de la membrana.

Gametos En eucariotas, las células haploides que se originan después de la meiosis.

Gel Polímero inerte, normalmente de azarosa o poliacrilamida, que se utiliza para separar macromoléculas tales como los ácidos nucleicos y proteínas en la electroforesis.

Gen Unidad de la herencia; un segmento de DNA (o RNA en algunos virus) específico para una proteína, o cadena polipeptídica, un RNA de transferencia o un RNA ribosómico.

Gen testigo Gen incorporado a un vector porque el producto que codifica resulta fácil de detectar.

Genes de la superfamilia de las inmunoglobulinas Familia de genes que están, evolutiva, estructural y funcionalmente relacionados con las inmunoglobulinas.

Generación espontánea Hipótesis que supone que los organismos pueden originarse a partir de la materia inerte.

Género Grupo taxonómico relacionado con las especies.

Genética Herencia y variación de los organismos.

Genoma El conjunto de genes contenido en una célula o un virus.

Genómica Disciplina que implica el mapeo, secuenciación y análisis de genomas.

Genotipo Constitución génica precisa de un organismo.

Glicocálix Polisacáridos bacterianos que se extienden fuera de la célula.

Glucólisis Ruta bioquímica mediante la cual se fermenta la glucosa para producir energía (ATP) y piruvato. También se denomina ruta de Embden-Meyerhof.

Gonococo *Neisseria gonorrhoeae*, diplococo gramnegativo, agente causal de la gonorrea.

Gramnegativa Tipo de célula procariótica cuya pared celular contiene relativamente poco peptidoglicano y presenta una membrana externa compuesta por lipopolisacárido, lipoproteínas y otras macromoléculas complejas.

Grampositiva Tipo de célula procariótica cuya pared celular está compuesta básicamente por peptidoglicano y carece de membrana externa.

Gremio Conjunto de poblaciones de microorganismos relacionados metabólicamente en un mismo lugar.

Grupo prostético Unión fuerte, parte no proteica de una enzima. No es lo mismo que *coenzima*.

Grupo de translocación Un sistema de transporte dependiente de energía en el que la sustancia transportada se modifica químicamente durante el proceso de transporte.

Guerra biológica El uso de agentes biológicos para incapacitar o matar a los seres humanos.

Hábitat Lugar de residencia de una población microbiana en un medio.

Halófilo Un microorganismo que requiere sal (NaCl) para crecer.

Halófilo extremo Un microorganismo que requiere grandes cantidades de sal (NaCl) para crecer, por lo general superiores al 10% y a veces próximas a la saturación.

Halorrodopsina Bomba de cloro impulsada por la luz que acumula el ion cloruro en el citoplasma.

Halotolerante Un organismo que no requiere sal (NaCl) para crecer pero que puede crecer en su presencia, en algunos casos, a niveles salinos elevados.

Haploide Organismo o célula que contiene sólo una dotación cromosómica.

Hapteno Una sustancia de bajo peso molecular que se combina con anticuerpos específicos, pero que es incapaz de desencadenar por sí misma una respuesta inmune.

Heliobacterias Procariotas fototróficos anoxigénicos que contienen bacterioclorofila *g*.

Hemaglutinación Aglutinación de los glóbulos rojos.

Hemólisis Lisis de los glóbulos rojos de la sangre.

Hemolisinas Toxinas bacterianas capaces de lisar los glóbulos rojos de la sangre.

Hepadnavirus Un virus cuyo DNA se replica mediante un intermediario de RNA.

Hepatitis Inflamación del hígado generalmente causada por un agente infeccioso.

Herpes simple Virus que causa el herpes genital y el labial debido a un resfriado.

Heterocisto Célula diferenciada de una cianobacteria que lleva a cabo la fijación de nitrógeno pero no la fotosíntesis oxigénica.

Heterodúplex DNA de doble hélice compuesta de cadenas de dos moléculas de DNA diferentes.

Heterofermentativo Relativo a bacterias del ácido láctico, capaces de originar más de un producto de fermentación.

Heterotrofo Organismo que necesita carbono orgánico como fuente de carbono; también denominado quimioorganoheterotrofo.

www.medilibros.com

Hibridación Formación de un dúplex de ácido nucleico con bandas que proceden de diferentes fuentes mediante apareamiento de bases complementarias.
Hibridación DNA-DNA Determinación experimental del parecido entre genomas mediante la medida del grado de hibridación entre el DNA de un genoma de un organismo y el de un segundo organismo.
Hibridación fluorescente *in situ* (FISH) Método que emplea un colorante fluorescente incorporado a una sonda nucleotídica específica para la identificación o rastreo de microorganismos en el ambiente.
Hibridoma La fusión de células inmortales tumorales con un linfocito para producir linfocitos inmortales.
Hidrogenasa Enzima capaz de añadir o quitar H_2, ampliamente distribuida entre los microorganismos anaerobios.
Hidrogenosoma Un orgánulo de origen endosimbiótico presente en ciertos microorganismos eucarióticos anaeróbicos que funcionan oxidando el piruvato a hidrógeno, dióxido de carbono y acetato con producción de un ATP.
Hidrólisis Ruptura de un polímero en unidades pequeñas, normalmente monómeros mediante la adición de agua.
Hipermutación somática Mutación de los genes de las inmunoglobulinas a tasas superiores a las observadas para otros genes.
Hipersensibilidad Respuesta inmune que ocasiona un daño en el hospedador, y que a veces se denomina alergia.
Hipersensibilidad inmediata Respuesta alérgica mediada por productos vasoactivos liberados por mastocitos tisulares.
Hipersensibilidad retardada Respuesta inflamatoria mediada por los linfocitos T.
Hipertermófilo Microorganismo que tiene una temperatura óptima de 80 °C o superior.
Hipolimnion Aguas frías, más densas, frecuentemente anóxicas situadas en las partes inferiores de un lago estratificado.
Histonas Proteínas básicas que protegen y compactan el DNA en eurariotas y algunas *arquea*.
HLA Antígenos leucocitarios humanos.
Homoacetógenos *Bacteria* que produce acetato como único producto de la fermentación de carbohidratos o forman $H_2 + CO_2$. También denominados acetógenos.
Homofermentativo Relativo a bacterias del ácido láctico y que originan ácido láctico como único producto final de fermentación.
Homólogos Relacionados a una secuencia, implica un ancestro genético común; se incluyen los ortólogos y parálogos.
Hongos Microorganismos eucarióticos no fototróficos con paredes celulares rígidas.
Hongos mucosos Microorganismos eucarióticos no fototróficos que carecen de pared celular y se agregan para formar cuerpos fructíferos o masas de protoplasma.
Horquilla de replicación Sitios cromosoma donde se produce la replicación y donde las enzimas que replican el DNA se unen al DNA monocatenario desenrollado.
Hospedador Organismo que alberga a un parásito.

Ictericia Exceso en la producción y liberación de bilirrubina en el hígado, debido a la destrucción de los hepatocitos. El resultado es la coloración amarillenta de la piel y los ojos.
Identificación genética Uso de técnicas de la ingeniería genética para determinar el origen del DNA en una muestra de tejido.
In silicio Uso de computadoras para llevar a cabo análisis sofisticados.
Incidencia Número de nuevos casos de enfermedad descritos en una población en un determinado período de tiempo.
Inducción Producción de un enzima en respuesta a una señal (frecuentemente la presencia del sustrato de la enzima).
Infección Multiplicación de los microorganismos en el hospedador.
Infección aguda Infección de corta duración caracterizada por un comienzo brusco.
Infección alimentaria Enfermedad causada por la ingestión de alimentos contaminados con un microorganismo patógeno vivo.
Infección crónica Infección que perdura en el tiempo.
Infección de transmisión sexual (ITS) Una infección que habitualmente se transmite por contacto sexual.
Infección nosocomial Infección adquirida en el hospital.
Infecciones emergentes Enfermedades infecciosas cuya incidencia ha aumentado recientemente o aumentará en un futuro cercano.
Infecciones oportunistas Enfermedades que se observan generalmente en aquellos individuos con problemas inmunológicos.
Infecciones reemergentes Enfermedades infecciosas que aunque están bajo control, producen nuevas epidemias.
Inflamación Respuesta del hospedador frente a una lesión o infección, que se caracteriza por eritema, hinchazón, calor y dolor.
Ingeniería genética Uso de técnicas *in vitro* para conseguir el aislamiento, la manipulación, la recombinación y la expresión del DNA, así como para desarrollar *organismos genéticamente modificados*.
Inhibición La reducción del crecimiento microbiano debido a un descenso en el número de microorganismos presentes o alteraciones en el ambiente microbiano.
Inhibición por retroalimentación Una disminución en la actividad de la primera enzima de una ruta causada por el producto final de la misma.
Inhibidor de la fusión Polipéptido sintético que se une a las glicoproteínas víricas e inhibe la fusión del virus a las membranas celulares del hospedador.
Inhibidor de la proteasa Compuesto que inhibe la proteasa vírica al unirse directamente al sitio catalítico e evita el procesamiento de la proteína vírica.
Inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa inversa (NRTI) Compuesto análogo a los nucleósidos que inhibe la transcriptasa inversa (reversa) de los virus por competición con los nucleósidos.
Iniciador Una molécula (generalmente un polinucleótido) al cual la DNA polimerasa puede unir el primer desoxirribonucleótido durante la replicación del DNA.
Inmune Capacidad de un organismo de resistir una enfermedad infecciosa.
Inmunidad Capacidad de un organismo para combatir, de forma específica, una infección.
Inmunidad activa Estado inmunitario alcanzado por la producción propia de anticuerpos. Comparado con la *inmunidad pasiva*.
Inmunidad adaptativa (inmunidad específica de antígeno) Es la capacidad adquirida de reconocer y destruir patógenos específicos o sus productos, mediante la exposición previa al patógeno o sus productos.
Inmunidad de grupo Resistencia de una población a un patógeno, como resultado de la inmunidad de una gran proporción de la población.
Inmunidad mediada por anticuerpos Inmunidad producida por la interacción directa del antígeno con los anticuerpos; también denominada *inmunidad humoral.*

www.medilibros.com

Inmunidad mediada por células Respuesta inmunitaria generada por la interacción específica antígeno-célula. También *inmunidad humoral*.

Inmunización (vacunación) Inoculación del hospedador con patógenos inactivados o atenuados, o productos de patógenos para estimular la protección inmunitaria.

Inmunodeficiencia El sistema inmunitario no funciona correctamente.

Inmunógeno Molécula capaz de desencadenar una respuesta inmune.

Inmunoglobulina (Ig) Proteína soluble, producida por los linfocitos B que interacciona con el antígeno; también se le conoce como anticuerpo.

Inmunotransferencia (*western blotting*) Efectroforesis de proteínas seguida de transferencia a una membrana y detección mediante adición de anticuerpos específicos.

INNTR Inhibidor no nucleosídico de la transcriptasa reversa.

Inóculo Material celular utilizado para iniciar un cultivo microbiano.

Inserción Fenómeno genético en el que un trozo de DNA se inserta en el medio de un gen.

Integración Proceso en el que una molécula de DNA se incorpora a otro genoma.

Integrasas Enzimas que insertan casetes en un integrón.

Integrón Elemento genético que tiene y expresa genes de casetes móviles.

Inteína Secuencia intercalada en una proteína; segmento de una proteína que puede autoescindirse.

Interacciones hidrofóbicas Fuerzas de atracción entre las moléculas debido al acercamiento de zonas no hidrofílicas de las dos moléculas.

Interferón Proteínas citocinas producidas por las células infectadas por un virus que induce señales de transducción en las células adyacentes, activando la síntesis de genes y proteínas antivirales.

Interleuquina (IL) citoquinas solubles o mediadores químioquina secretadas por los leucocitos.

Intoxicación alimentaria Enfermedad que resulta de la ingestión de alimentos que contienen toxinas microbianas.

INTR Inhibidor nucleosídico de la transcriptasa reversa.

Intrón Las secuencias no codificantes que separan los exones en un gen partido.

Intrón autoempalmante Intrón que posee actividad ribozimática y se corta a sí mismo.

Invasividad Capacidad de un patógeno para introducirse en el hospedador y diseminarse.

Ionóforo Compuesto que provoca la liberación de iones a través de las membranas.

IP Inhibidor de la proteasa.

Irradiación Exposición de los alimentos a una radiación ionizante con el propósito de inhibir el crecimiento de microorganismos, insectos o de retardar el crecimiento y/o maduración.

Isla cromosómica Región del cromosoma bacteriano de origen exterior que contiene un conjunto de genes agrupados, que confiere alguna propiedad extra, tales como la virulencia o la simbiosis, en el organismo.

Isla de patogenicidad Región del cromosoma bacteriano de origen foráneo que contiene genes de virulencia.

Isómeros Dos moléculas con la misma fórmula molecular pero que difiere estructuralmente.

Isótopos Diferentes formas del mismo elemento que contienen el mismo número de protones y electrones, pero difieren en el número de neutrones.

Korarchaeota Un filum de *arquea* hipertermófilos que se ramificó en la base del tronco de *arquea*.

Leghemoglobina Una proteína captadora de O_2 de los nódulos radicales.

Leucocidina Sustancia capaz de destruir fagotitos.

Leucocito polimorfonuclear (PMN, neutrófilo) Una clase de leucocitos con propiedades fagocíticas, citoplasma granular y núcleo multilobulado como, por ejemplo, los neutrófilos.

Leucocitos Células nucleadas que se hallan en la sangre (células blancas de la sangre).

Levaduras Hongos unicelulares.

Linfa Un líquido parecido a la sangre pero carente de eritrocitos y que fluye por un sistema circulatorio distinto (el sistema linfático) que consta de ganglios linfáticos cuya función es filtrar el material particulado (p.ej. bacterias).

Linfocito citolítico natural Linfocito especializado que reconoce y destruye células no propias o células propias infectadas.

Linfocitos Una subpoblación de células nucleadas de la sangre que participan en la respuesta inmuninaria.

Liofilización Proceso de eliminación del agua de alimentos congelados bajo condiciones de vacío.

Lípido Glicerol unido a ácidos grasos o a otras moléculas hidrofóbicas por enlace éster o éter. A menudo, también contiene otros grupos, como fosfatos.

Lipopolisacárido (LPS) Lípido que contiene polisacárido y proteína que es el compuesto mayoritario de la pared celular de las *Bacteria* Gram negativas.

Líquen Un hongo y una alga (o cianobacteria) que viven en asociación simbiótica.

Lisis Pérdida de la integridad celular y liberación del contenido citoplasmático.

Lisógeno Bacteria que contiene un profago. *Véase* fago atemperado.

Lisogenia Estado de la célula después de la infección vírica en el que el genoma del virus se replica como provirus junto con la replicación del genoma del hospedador.

Lisosoma Orgánulo que contiene enzimas digestivas para la hidrólisis de proteínas, lípidos y polisacáridos.

Listeriosis Infección alimentaria intestinal causada por *Listeria monocytogenes* que puede producir bacteriemia, septicemia y meningitis.

Lixiviación microbiana Eliminación por actividad microbiana de metales valiosos como el cobre de menas de sulfuro.

Lixiviado Solubilización y eliminación de metales de las menas minerales por ataque microbiano.

Lofotrico Penacho de flagelos en un polo de la célula.

Luminiscencia Producción de luz.

Macrófago Una clase de leucocitos de tamaño grande con capacidad fagocítica.

Macromolécula Polímero formado por monómeros unidos covalentemente.

Magnetosomas Partículas de magnetita (Fe_3O_4) que forman una estructura rodeada por una membrana lípido-proteica en las bacterias magnetotácticas y confiere magnetotaxia.

Magnetotaxis Movimiento de orientación con las líneas del campo magnético.

Malaria Enfermedad transmitida por insectos, caracterizada por episodios recurrentes de fiebre y anemia causada por el protozoo *Plasmodium* spp., habitualmente transmitida a los mamíferos a través de la picadura del mosquito *Anopheles*.

Maligno En referencia a un tumor, crecimiento que conduce a la metástasis.

www.medilibros.com

Mapa genético Ordenación de genes en un cromosoma.
Mapa de restricción Un mapa en el que se muestran los sitios de corte de las enzimas de restricción de una fracción de DNA.
Marco de lectura abierta (ORF) Una secuencia de DNA que al ser transcrita origina una proteína de composición definida. Un marco funcional es el que codifica una proteína celular.
Mastocitos Células de tejidos adyacentes a los vasos sanguíneos distribuidas por todas partes del cuerpo, que contienen gránulos con mediadores de la inflamación.
Materias primas químicas Productos químicos como el etanol que tienen un bajo valor monetario y se venden principalmente a granel.
Matriz extracelular Proteínas y polisacáridos que rodean una célula animal, y en los que dicha célula está alojada.
Medio complejo Un medio de cultivo compuesto por hidrolizados de sustancias químicas no definidas, como extractos de levadura o de carne.
Medio de cultivo Una solución acuosa de varios nutrientes que permite el crecimiento de los microorganismos.
Medio definido Un medio de cultivo del que se conoce su composición química exacta.
Medio diferencial Medio que permite la identificación de microorganismos basados en su apariencia.
Medio enriquecido Medio que permite el crecimiento de microorganismos difíciles de crecer porque contiene factores de crecimiento específicos.
Medio para propósito general Medio que soporta el crecimiento de la mayoría de aeróbicos y anaeróbicos facultativos.
Medio selectivo Medio que permite el crecimiento de unos organismos retrasando el crecimiento de otros, debido a que tiene un componente añadido.
Meiosis Proceso de división nuclear durante la gametogénesis en el que la repetición cromosómica pasa de dos (diploide) a una sola copia de cada cromosoma (haploide).
Membrana citoplasmática Barrera con permeabilidad selectiva que envuelve al citoplasma y lo separa del entorno.
Membrana externa Forma parte de la pared de las bacterias gramnegativas, se sitúa por encima del peptidoglicano y está constituida por una bicapa lipídica de fosfolípidos y lipopolisacárido y otras proteínas.
Membranas mucosas Capas de células epiteliales que interaccionan con el ambiente exterior.
Memoria inmunológica Capacidad para responder más rápida y vigorosamente a una segunda y a subsiguientes exposiciones a un antígeno inductor por producción rápida de células inmunitarias específicas o de anticuerpos.
Meningitis Inflamación de las meninges (membranas que recubren el cerebro) algunas veces causada por *Neisseria meningitidis* y caracterizada por un repentino dolor de cabeza, vómitos y rigidez de cuello, frecuentemente conduce a coma en pocas horas.
Meningococemia Enfermedad grave de evolución rápida causada por *Neisseria meningitidis* y caracterizada por septicemia, coagulación intravascular y shock.
Meningoencefalitis Invasión, inflamación y destrucción del tejido cerebral producido por la ameba *Naegleria fomlerii u* otros patógenos.
Mesófilo Un organismo que crece mejor a temperaturas entre 20 °C y 45 °C.
Metabolismo Conjunto de reacciones bioquímicas de una célula.
Metabolito primario Un metabolito que se excreta durante la fase exponencial de crecimiento.
Metabolito secundario Un metabolito que se excreta al final de la fase exponencial y en la fase estacionaria de crecimiento.
Metaboloma Todos los intermediarios metabólicos de un organismo celular.
Metagenoma Todos los genes de todas las células presentes en un ambiente en particular.
Metagenómica (genómica ambiental) Análisis genómico de DNA de una muestra ambiental sin aislar o identificar previamente los organismos individualmente.
Metanogénesis Producción biológica de metano (CH_4).
Metanógeno Procariota productor de metano.
Metanotrofia Nutrición a partir de la oxidación de metano.
Metanotrofo Un organismo capaz de oxidar metano (CH_4).
Metazoos Organismos pluricelulares.
Metilotrofia Metabolismo energético en el que grupos metilo o el metano son oxidados como donadores de electrones.
Metilotrofo Organismo capaz de oxidar compuestos orgánicos que no contiene enlaces carbono-carbono; si es capaz de oxidar CH_4, se le considera también un metanotrofo.
Micromatriz multigénica Soportes pequeños en los que se fijan genes o partes de genes distribuidos espacialmente siguiendo un perfil conocido.
MHC de clase I Proteína presentadora de antígenos presente en todas las células nucleadas de vertebrados.
MHC de clase II Proteína presentadora de antígenos presente en macrófagos, linfocitos B y células dendríticas (células presentadoras de antígeno).
Micorriza Asociación simbiótica entre un hongo y las raíces de una planta.
Micosis Enfermedades causadas por hongos.
Microaerófilo Organismo aeróbico que puede crecer sólo cuando la presión parcial del oxígeno es menor que la del aire.
Microambiente El medio inmediato que rodea una célula microbiana o un grupo de células.
Microautorradiografía (MAR) Medida de la captación de sustancias radiactivas observando las células expuestas a una emulsión fotográfica.
Microelectrodo Electrodo pequeño de cristal para medir el pH o compuestos específicos, O_2, H_2S, que se pueden introducir en un hábitat microbiano a intervalos de microescala.
Microfilamentos Polímeros filamentosos de proteína de actina que ayudan a mantener la forma de la célula eucariota.
Microorganismo Organismo microscópico constituido por una sola célula o varias, incluyendo los virus.
Microtúbulos Polímeros filamentosos de las proteína α-tubulina y β-tubulina que participan en el mantenimiento de la forma y movilidad de la célula eucariota.
Mieloma Tumor maligno de las células plasmáticas.
Mitocrondria Orgánulo respiratorio de los organismos eucarióticos.
Mitosis Proceso de división celular en las células eucariotas en el que los cromosomas se replican y se dividen en dos núcleos hijos.
Mixotrófico Estado nutricional en el que un compuesto inorgánico sirve como fuente de energía (donador de electrones) y uno o varios compuestos orgánicos sirven como fuente de carbono.
Mohos Hongos filamentosos.
Molécula Dos o más átomos unidos químicamente entre sí.
Moléculas que reconocen estructuras (PRM) una proteína unida a la membrana que reconoce una estructura molecular asociada a patógenos.
Monocitos Células blancas circulantes que contienen muchos lisosomas y pueden diferenciarse en macrófagos.

Monotrico Tiene un único flagelo polar.
Morbilidad Incidencia de una enfermedad en una población.
Morfología Forma celular.
Mortalidad Incidencia de muertes en una población.
Motivo Secuencia conservada de aminoácidos que se encuentra en todos los péptidos antigénicos que se unen a una determinada proteína del MHC.
Movimiento ameboide Un tipo de movilidad, en que el movimiento del citoplasma impulsa al organismo hacia adelante.
Mutación Cambio heredable en la secuencia de bases del genoma de un organismo.
Mutación por cambios en el marco de lectura (*frameshift*) Mutación por adición o deleción de uno o dos pares de bases (o cualquier número no múltiple de tres) en una secuencia codificadora de una molécula de DNA.
Mutación espontánea Una mutación que tiene lugar de forma «natural» sin la aplicación de agentes mutágenos tales como químicos o radiactivos.
Mutación inducida Mutación causada por agentes externos tales como agentes mutágenos o la radiación.
Mutación de falso sentido Una mutación en la que la sustitución de un par de bases (o más) da lugar a un aminoácido distinto, lo que origina una proteína disfuncional.
Mutación puntual Mutación que afecta sólo a un par o unos pocos pares de bases.
Mutación silenciosa Cambio en el DNA que no produce efectos en el fenotipo.
Mutación sin sentido Mutación en el que el codón de un aminoácido se cambia por el un codón de parada.
Mutagénesis dirigida Técnica por la que puede construirse *in vitro* un gen con una mutación específica.
Mutágenos Agentes que causan mutación.
Mutante Organismo cuyo genoma lleva una mutación.
Mutualismo Un tipo de simbiosis en el que ambos organismos de la relación se benefician.

Naranja de acridina Colorante fluorescente inespecífico utilizado para la tinción de células microbianas de muestras naturales.
Neutralización Interacción anticuerpo-antígeno que reduce o bloquea la actividad biológica del antígeno.
Neutrófilo Organismo que crece mejor a pH similares a 7.0.
Neutrófilo (leucocito polimorfonuclear, PMN) Un tipo de leucocito que tiene propiedades fagocíticas, presenta un citoplasma granular (granulocitos) y un núcleo multilobulado.
Nicho En teoría ecológica, hábitat de un organismo en el que se incluyen factores abióticos y bióticos.
Nitrificación Proceso por el que NH_3 es oxidado a NO_3^-.
Nitrogenasa Enzima capaz de reducir N_2 a NH_3 en el proceso de fijación del nitrógeno.
Nódulo radical Crecimiento en forma de tumoración en raíces de plantas que contiene bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno.
Núcleo Una estructura rodeada por una membrana que contiene los cromosomas en células eucarióticas.
Nucleocápsida Partícula vírica que consta del ácido nucleico empaquetado y la proteína.
Nucleoide Todo DNA que constituye el cromosoma de las células procarióticas *(bacteria y arquea)*.
Nucleósido Un nucleótido sin su grupo fosfato.
Nucleosoma Complejo esférico de DNA eucariótico y sus histonas.
Nucleótido Un monómero de un ácido nucleico que contiene una base nitrogenada (adenina, guanina, citosina, timina o uracilo), una molécula de fosfato y un azúcar, bien sea ribosa (en el RNA) o desoxirribosa (en el DNA).
Nucleótido regulador Un nucleótido que funciona como señal en vez de ser incorporado al DNA o RNA.
Número más probable (NMP) Dilución seriada de una muestra natural para determinar la mayor dilución que produce crecimiento.
Nutriente Una sustancia que una célula coge del ambiente con fines catabólicos o anabólicos.

Obligado Adjetivo calificativo que hace referencia a una condición ambiental que debe estar presente para que el microorganismo pueda crecer (p.ej. anaerobio obligado).
Oligonucleótido Molécula pequeña de ácido nucleico obtenida de un organismo o sintetizada químicamente.
Oligotrófico Ambiente en el que los nutrientes están en pequeña cantidad.
Oncogen Gen cuya expresión causa la formación de un tumor.
Operón Uno o más genes transcritos en un único mRNA bajo el control de un sólo sitio regulador. Sin embargo, el término se utiliza para describir una unidad de transcripción que contiene más de un gen.
Opsonización Estimulación de la fagocitosis mediante la unión específica de un anticuerpo o el complemento sobre la superficie del microorganismo invasor.
Organismo genéticamente modificado (GMO) Organismo cuyo genoma ha sido modificado utilizando métodos de la ingeniería genética. El acrónimo *GM* también se utiliza en construcciones tales como *cosechas GM y alimentos GM*.
Organismos transgénicos Plantas o animales que incorporan de forma estable DNA clonado que ha sido introducido en sus genomas.
Orgánulo Estructura del tamaño de bacterias, rodeada de una unidad de membrana y especializada en funciones metabólicas que se encuentra dentro de las células eucarióticas.
Ortólogos Genes que se encuentran en un organismo y que son similares a los de otro organismo pero que difieren por el propio proceso de especiación (*véase también* parálogos).
Osmófilo Un organismo que crece mejor en presencia de elevada concentración de un soluto, normalmente carbohidratos.
Ósmosis Difusión del agua a través de las membranas de una zona de baja concentración de soluto a una de mayor concentración.
Óxico Con oxígeno (se aplica principalmente a un medio de cultivo, hábitat o ambiente).
Oxidación Proceso en el que un compuesto cede electrones o átomos de H.
Oxigenasa Enzima que cataliza la incorporación de oxígeno del O_2 atmosférico a un compuesto orgánico o inorgánico.

Palíndromo Una secuencia nucleotídica de DNA en el que la misma secuencia se encuentra en cada hebra pero en dirección opuesta.
Pandemia Epidemia de ámbito mundial.
Papilomavirus humano Virus de transmisión sexual que causa verrugas genitales, neoplasia cervical y cáncer.
Parálogos Genes de un organismo cuya similitud es el resultado de una duplicación génica en algún punto de la evolución del organismo (*véase también* ortólogos).
Parásito Organismo capaz de multiplicarse en un hospedador y producirle daño.
Parasitismo Una relación simbiótica entre dos organismos en la que el organismo hospedador resulta dañado durante dicha interacción.

www.edilibros.com

Pared celular Capa rígida que rodea la membrana citoplasmática, confiere la forma celular y protección frente a la lisis osmótica.

Pasteurización Tratamiento térmico en el que se eliminan los microorganismos patógenos o se reduce en el número de microorganismos alterantes.

Patogenicidad Capacidad de un patógeno para causar daño en un hospedador.

Patógeno Microorganismo parásito que causa daño al hospedador.

Patógeno oportunista Organismo que causa enfermedad en ausencia de la resistencia normal del hospedador.

Penicilina biosintética Producción de una forma especial de penicilina aportando al organismo los precursores específicos de la cadena lateral.

Penicilina natural Antibiótico producido por cultivos de *Penicillium*, sin adición de precursores.

Penicilina semisintética Una penicilina obtenida a partir de compuestos producidos por fermentación microbiana y síntesis química.

Peptidoglicano Una molécula polisacarídica formada por unidades repetitivas y alternantes de acetilglucosamina y ácido acetilmurámico y péptidos cortos que forma capas adyacentes unidas a través de puentes peptídicos.

Percepción de quórum (*Quorum sensing*) Rutas reguladoras de *Bacteria* que responden a densidad de población.

Perfil de reconocimiento molecular (PRM, pattern recognition molecule) Proteína unida a la membrana que reconoce un perfil molecular asociado a un patógeno, tales como componentes específicos de la estructura superficial de un microorganismo.

Periplasma Región gelatinosa entre la capa externa de la membrana citoplasmática y la superficie interna de la membrana externa de las bacteria gramnegativas.

Peritrico Modelo de flagelación en el que los flagelos se localizan alrededor de la superficie celular.

Peroxisomas Orgánulos para deshacerse de sustancias tóxicas tales como el peróxido, alcoholes y ácidos grasos.

Peste Enfermedad epidémica transmitida por los roedores y causada por *Yersinia pestis*, y ocasionalmente transmitida a los hombres por la picadura de una pulga.

pH Valor negativo del logaritmo de la concentración de iones hidrógeno (H^+) en una solución.

Pigmentos antena Clorofilas o bacterioclorofilas que captan la luz en fotocomplejos que envían la energía al centro de reacción.

Pili Estructura similar a la fimbria relacionada con la transferencia de DNA en las células Hfr y F^+. También se llama pili sexual. *Véase* fimbria.

Pinocitosis En eucariotas, es la fagocitosis de moléculas solubles.

Pinzas de láser Instrumento para obtener cultivos axénicos mediante el cual una célula individual puede ser atrapada con un haz de láser y separarse de las células circundantes para ponerla en un medio de cultivo estéril.

Piogénico Forma pus, causa abscesos.

Pirimidina Un tipo de base nitrogenada de los ácidos nucleicos que contiene un solo anillo, citosina, timina y uracilo.

Pirita Un mineral de hierro, el FeS_2.

Pirogénico Produce fiebre.

Placa dental Conjunto de células bacterianas incluidas en una matriz de polímeros extracelulares y productos salivares, presentes en los dientes.

Plaquetas Estructuras no celulares muy abundantes en la sangre que sirven para taponar una herida.

Plasma La parte líquida de la sangre que queda al eliminar las células e inactivar los factores de la coagulación.

Plásmido Elemento genético extracromosomal que no es esencial para el crecimiento del microorganismo, y no tiene forma extracelular.

Plásmido Ti Plásmido conjugativo presente en la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* que puede transferir genes a las plantas.

Plásticos microbianos (bioplásticos) Polímeros biodegradables con propiedades similares a los plásticos sintéticos, obtenidos a partir de microorganismos.

Polar Que posee propiedades hidrofílicas y es generalmente soluble en agua.

Poli-β-hidroxibutirato (PBH) Material de reserva nutritiva presente en procariotas compuesto por un polímero de β-hidroxibutirato u otro tipo de ácido β-alcanoico (PHA).

Polímero Un compuesto químico formado por polimerización y que consta de unidades repetitivas llamadas monómeros.

Polimorfismo La existencia de múltiples alelos en un locus con una frecuencia que no puede explicarse por la presencia de mutaciones al azar recientes.

Polinucleótido Un polímero de nucleótidos unidos entre sí por enlaces fosfodiéster.

Polipéptido Un polímero de aminoácidos unidos entre sí por enlaces peptídicos.

Polisacárido Un polímero de monosacáridos unidos entre sí por enlaces glicosídicos.

Porcentaje de bases GC En el DNA (o RNA) de cualquier organismo, el porcentaje del DNA constituido por guanina y citosina (expresado como mol %GC).

Porinas Canales proteicos de la membrana externa de las bacterias gramnegativas, a través de las cuales pasan moléculas de pequeño y mediano tamaño.

Portador Individuo con una infección subclínica, que puede propagar una enfermedad.

Postulados de Koch Criterios descritos por Koch, para determinar si un determinado microorganismo causa una enfermedad.

Potable Que puede ser consumido por la población.

Potencial de reducción La tendencia intrínseca (medida en voltios) de una sustancia para donar electrones.

Precipitación Reacción entre un anticuerpo y un antígeno soluble que da lugar a un complejo visible e insoluble.

Prevalencia La proporción o porcentaje de individuos de una población que tienen una enfermedad.

Prión Un agente infeccioso cuya forma intracelular puede no contener ácido nucleico.

Probiótico Microorganismos vivos que administrados en el hospedador, le confieren efectos beneficiosos.

Procariota Célula que carece de un núcleo delimitado por una membrana nuclear y de otros orgánulos.

Procesamiento de RNA Conversión de un RNA precursor a su forma madura.

Proclorofito Un procariota fototrofo oxigénico que contiene clorofila *a* y *b* pero carecen de ficobilinas.

Productor primario Un organismo que sintetiza nueva materia orgánica a partir del CO_2. *Véase* autótrofo.

Profago El estado del genoma de un virus atemperado cuando se replica en sincronía con el genoma del hospedador, está integrado en el genoma del hospedador. *Véase* provirus.

Profiláctico Tratamiento, normalmente inmunológico o quimioterapeútico para proteger un individuo de una futura infección por un microorganismo patógeno.

Profundidades marinas Aguas marinas por debajo de los 1.000 m.

Promotor Un sitio en el DNA al cual puede unirse la RNA polimerasa y comenzar la transcripción.

Prosteca Una proyección de citoplasma rodeado de pared celular que a menudo forma un apéndice distintivo.

Proteasa Una enzima que degrada proteínas por hidrólisis.

Proteína Un polipéptido o grupo de polipéptidos que forman una molécula con una función biológica específica.

Proteína activadora Una proteína reguladora que se une a sitios específicos del DNA y activa la transcripción; implicada en el control positivo.

Proteína cinasa sensora Uno de los miembros de un sistema de dos componentes; una proteína que se autofosforila en respuesta a una señal externa y después transfiere el grupo fosforilo a una proteína reguladora de respuesta *(véase* proteína reguladora de la respuesta).

Proteína de choque térmico Proteínas inducidas por las elevadas temperaturas o otros estrés con efecto protector, especialmente replegando las proteínas parcialmente desnaturalizadas o degradándolas.

Proteína de corte y empalme (*protein splicing*) Eliminación de determinadas partes de una proteína.

Proteína de fluorescencia verde (GFP, Green fluorescent protein) Proteína que emite fluorescencia verde y se utiliza en análisis genéticos.

Proteína de fusión proteína que es el resultado de la fusión de dos proteínas diferentes mediante la unión de sus secuencias codificantes en un solo gen.

Proteína reguladora de la respuesta Uno de los miembros de un sistema de dos componentes; una proteína que es fosforilada por una cinasa sensora y actúa como reguladora, a menudo uniéndose al DNA *(véase* proteína cinasa sensora).

Proteína represora Una proteína reguladora que se une a sitios específicos del DNA y bloquea la transcripción; implicada en el control negativo.

Proteínas del MHC clase I Proteínas presentadoras de antígeno que se expresan en todas las células nucleadas de los vertebrados.

Proteínas del MHC clase II Proteínas presentadoras de antígeno, expresadas fundamentalmente en macrófagos, células B y otras células presentadoras de antígeno (como las células dendríticas).

Proteínas tardías Proteínas sintetizadas después de la infección vírica y de la replicación del genoma del virus.

Proteínas tempranas Proteínas sintetizadas inmediatamente después de la infección por un virus y antes de la replicación del genoma vírico.

Proteína unicelular Proteínas de los microorganismos utilizadas para la alimentación o como suplemento alimentario.

Proteobacteria Un grupo grande de *Bacteria* gramnegativas relacionadas filogenéticamente.

Proteoma El conjunto de proteínas de una célula, tejido u organismo en un momento dado.

Proteómica Estudio global en el ámbito estructural y funcional de todas las proteínas de un organismo.

Proteorrodopsina Proteína sensible a la luz en algunos miembros del dominio *Bacteria* que cataliza la formación de ATP.

Protista Microorganismo eucariótico unicelular, puede ser flagelado o no, fototrofo o no, muchos carecen de pared; también denominados protozoos.

Protoplasma Contenido celular completo, membrana citoplasmática, citoplasma, y núcleo/nucleoide de una célula.

Protoplasto Una célula a la que se le ha eliminado la pared celular y sólo es viable en un medio osmótico adecuado.

Provirus (profago) Genoma de un virus atemperado cuando se replica a la vez que el cromosoma del hospedador, y a menudo integrado en él.

Proyecto de Base de Datos del Ribosoma (RDP) Una gran base de datos a la que puede accederse electrónicamente y que contiene secuencias del RNA de la subunidad pequeña del ribosoma y se utilizan en estudios de comparación de secuencias del RNA ribosómico.

Pseudomonas Miembro del género bacteriano *Pseudomonas,* un gran grupo de bacterias gramnegativas con metabolismo obligadamente respiratorio (nunca fermentativo).

Psicrófilo Organismo con una temperatura óptima de crecimiento de 15 °C o menor y una temperatura máxima de crecimiento inferior a 20 °C.

Psicrotolerante (psicrótrofo) Organismo capaz de crecer a bajas temperaturas pero cuya temperatura óptima de crecimiento está por encima de 20 °C.

Puente de hidrógeno Un enlace químico débil entre un átomo de hidrógeno y un segundo elemento más electronegativo, normalmente un átomo de oxígeno o de nitrógeno.

Purina Tipo de base nitrogenada de los ácidos nucleicos que tiene dos anillos: la adenina y la guanina.

Quimiocina Proteína pequeña, soluble, producida por diferentes células y encargada de modular las reacciones inflamatorias y la inmunidad a través de sus efectos en las células diana.

Quimiolitotrofo Organismo que obtiene su energía de la oxidación de compuestos inorgánicos.

Quimioorganotrofo Un organismo que obtiene su energía de la oxidación de compuestos orgánicos.

Quimiósmosis Uso de gradientes iónicos, especialmente gradientes de protones, a través de la membrana, para generar ATP.

Quimiostato Aparato que permite el cultivo continuo de microorganismos en el que se pueden controlar independientemente la velocidad de crecimiento y el número de células.

Quimiotaxis Movimiento de un organismo hacia (positivo) o alejándose de (negativo) un gradiente de un compuesto químico.

Quimioterapia Tratamiento de las enfermedades infecciosas con agentes químicos o antibióticos.

Quinasa Una enzima que añade un grupo fosforil, normalmente desde el ATP a un compuestos.

Quinolonas Compuestos antibacterianos sintéticos que interaccionan con la DNA girasa e impiden el superenrollamiento del DNA bacteriano.

Quiste Forma infecciosa de un protozoo parásito que se recubre de una delgada pared resistente de naturaleza física y química.

Quitina Un polímero de N-acetil-D-glucosamina que se encuentra habitualmente en las paredes celulares de hongos y algas.

Rabia Enfermedad neurológica generalmente mortal causada por el virus de la rabia, transmitida por la mordedura o la saliva de un carnívoro infectado.

Radioinmunoensayo (RIA) Ensayo inmunológico que utiliza anticuerpos o antígenos radiactivos para detectar antígenos o anticuerpos.

Radioisótopo Un isótopo de un elemento que sufre una caída espontánea con la liberación de partículas radiactivas.

Reacción anabólica (anabolismo) Los procesos bioquímicos implicados en la síntesis de los constituyentes celulares a partir de moléculas sencillas con gasto energético, generalmente.

www.medilibros.com

Reacción catabólica (catabolismo) Procesos bioquímicos implicados en la ruptura de compuestos orgánicos o inorgánicos, que conducen a la producción de energía utilizable por la célula (normalmente ATP).
Reacción endergónica Reacción química que requiere la aportación de energía.
Reacción exergónica Reacción química que libera energía.
Reacción de oxidación y reducción (redox) Pareja de reacciones en la que una cede electrones (oxida) y el otro par los recibe (reduce).
Reacción de Stickland Fermentación de un par de aminoácidos en la que uno de ellos sirve como donador de electrones y el segundo como aceptor.
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) Método usado para amplificar una secuencia específica de DNA *in vitro por* repetidos ciclos de síntesis usando cebadores específicos y DNA polimerasa.
Recalcitrante Resistente al ataque microbiano.
Receptor de célula T (TCR) Receptor proteico de la superficie de los linfocitos T que reconoce específicamente al antígeno.
Recombinación Proceso por el que parte o todas las moléculas de DNA de dos fuentes separadas se intercambian o se juntan en una unidad.
Recuento en placa Método de recuento de viables donde el número de colonias crecidas sobre el medio de cultivo sólido sirve para medir la cantidad de microorganismos.
Redox *Véase* reacción de oxidación y reducción.
Reducción Un proceso en el que un compuesto acepta electrones.
Regiones determinantes de la complementariedad (CDRs) Variaciones en la secuencia de aminoácidos que tienen lugar en las regiones variables de las Igs o los TCRs en las que ocurren la mayoría de los contactos moleculares con el antígeno (también conocidas como regiones hipervariables).
Regiones hipervariables Variaciones en la secuencia de aminoácidos que tienen lugar en las regiones variables de las Igs o los TCRs en las que ocurren la mayoría de los contactos moleculares con el antígeno (también conocidas como regiones determinantes de la complementariedad).
Regulación Procesos que controlan la síntesis de proteínas, tales como la inducción o la represión.
Regulón Conjunto de genes u operones que se transcriben por separado pero están sujetos a un control coordinado por la misma proteína reguladora (represor o activador).
Reloj molecular Un gen, tal como el RNA ribosómico, cuya secuencia de DNA puede ser utilizada para comparar el tiempo de divergencia evolutiva.
Replicación Síntesis de DNA utilizando DNA como molde o templado.
Replicación por círculo rodante Mecanismo que utilizan algunos plásmidos y virus para replicar DNA circular, que se inicia con un corte de cadena sencilla y el desenrrollamiento de una de las cadenas para utilizar la otra, aún circular, como molde para la síntesis de DNA.
Replicación semiconservativa Síntesis de DNA que origina nuevas dobles hélices, cada una formada por una cadena parental y otra de nueva síntesis.
Represión Previene la síntesis de una enzima en respuesta a una señal.
Reservorio Sitios en los que permanecen los agentes infecciosos viables y a partir de los cuales puede ocurrir una infección.
Resistencia a los antibióticos (o antimicrobianos) La capacidad adquirida de un microorganismo para crecer en presencia de un antibiótico, al que habitualmente el microorganismo es sensible.
Resolución En microbiología, la capacidad de distinguir dos objetos como distintos y separados cuando se observa al microscopio.
Respiración Proceso en el que un compuesto es oxidado con O_2 (o un sustituto del O_2), que funciona como aceptor terminal de electrones, y que normalmente se acompaña de la producción de ATP por fosforilación oxidativa.
Respiración anaeróbica Forma de respiración en ausencia de oxígeno donde se reducen aceptores de electrones alternativos, tales como SO_4^{2-} o NO_3^-.
Respuesta al choque por calor La respuesta a las elevadas temperaturas incluye la síntesis de proteínas de choque caliente así como otros cambios en la expresión génica.
Respuesta estricta (*stringent*) Un control global regulador que se activa cuando hay deficiencia o ausencia de aminoácidos o energía.
Respuesta primaria de anticuerpos Anticuerpos fabricados tras la primera exposición al antígeno; la mayoría pertenecen a la clase Ig M.
Respuesta secundaria de anticuerpos Anticuerpos generados tras la segunda o posterior exposición al antígeno; la mayoría son de la clase Ig G.
Retículo endoplasmático Una serie de membranas internas presentes en las células eucariotas.
Retrovirus Virus cuyo genoma RNA tiene un DNA intermediario como parte de su ciclo replicativo.
Reversión Alteración del DNA que revierte (restituye) los efectos de una mutación anterior.
RIA Radioinmunoanálisis.
Ribosoma Una partícula citoplásmica compuesta de RNA ribosómico y proteína, la cual es parte central de la maquinaria sintetizadora de proteínas de la célula.
Ribotipado Una técnica para identificar microorganismos a partir del análisis de los fragmentos de DNA generados por digestión de los genes que codifican su rRNA 16S con enzimas de restricción.
Ribozima Una molécula de RNA que puede catalizar reacciones químicas.
Rickettsia Parásito intracelular estricto que produce una importante variedad de enfermedades como el tifus, la fiebre de las montañas rocosas y ehrliquiosis.
Rizosfera Región inmediatamente adyacente a las raíces de las plantas.
RNA Ácido ribonucleico, implicado en la síntesis de proteínas *como* RNA mensajero, RNA de transferencia y RNA ribosómico.
RNA de transferencia (tRNA) Una molécula adaptadora utilizada en la traducción que tiene especificidad por un determinado aminoácido y por uno o más codones.
RNA mensajero (mRNA) Una molécula de RNA que contiene la información necesaria para codificar para una proteína.
RNA polimerasa Una enzima que sintetiza RNA en la dirección 5′ → 3′ usando una cadena antiparalela de DNA como templado.
RNA replicasa Un enzima que produce RNA a partir de un molde de RNA.
RNA ribosómico (rRNA) Tipos de RNA encontrados en el ribosoma; algunos participan activamente en el proceso de la síntesis de proteínas.
rRNA 16S Un polinucleótido grande (1500 bases) que funciona como parte de la subunidad pequeña del ribosoma de pro-

www.elsevier.com

cariotas y de cuya secuencia puede obtenerse información evolutiva; el correlativo eucariótico es el rRNA 18S.

RubisCO Acrónimo para la ribulosa bifosfato carboxilasa-oxidasa, enzima clave del ciclo de Calvin.

Rumen El primer compartimento del estómago de los rumiantes en el que tiene lugar la digestión de la celulosa.

Ruta del acetil-coA Ruta de fijación autotrófica del CO_2 muy extendida entre anaerobios estrictos tal como los metanógenos, acetógenos y bacterias reductoras de sulfato.

Salmonelosis Enterocolitis causada por alguno de los 1400 serotipos de *Salmonella* spp.

Salud pública La salud de la población en conjunto.

Secuenciar En relación con los ácidos nucleicos, deducir el orden de los nucleótidos del DNA o RNA.

Secuencia consenso Una secuencia de ácidos nucleicos en el que las bases se encuentran habitualmente en una determinada posición cuando se comparan experimentalmente diferentes secuencias.

Secuencia de inserción (IS) Es el elemento transponible más sencillo, que sólo contienen los genes implicados en la transposición.

Secuencia Shine-Dalgarno Secuencia de bases de una molécula de RNA mensajero que determina dónde se unirá el ribosoma para iniciar la traducción.

Secuencia señal Secuencia especial del N-terminal de aproximadamente 20 aminoácidos que indica que una proteína debe ser transportada a través de la membrana citoplasmática.

Secuencias firma Oligonucleótidos cortos de secuencia definida que forman parte de la secuencia del SSU rRNA y que caracterizan organismos específicos o grupos de organismos filogenéticamente relacionados; útiles para la construcción de sondas.

Selección Disposición de los organismos bajo condiciones que favorecen el crecimiento de un determinado genotipo.

Selección clonal Los linfocitos T y B producen copias de sí mismos cuando son estimulados por un antígeno.

Selección negativa En la maduración de los linfocitos T, los que reconocen antígenos propios en el timo son eliminados *(véase* delección clonal).

Selección positiva En la maduración de los linfocitos T, los que en el timo interaccionan con el MHC propio estimulan su crecimiento y desarrollo.

Sensibilidad En inmunología, la cantidad más pequeña de antígeno que puede ser detectada.

Septicemia Infección de la sangre por microorganismos.

Serología Estudio *in vitro* de las reacciones antígeno-anticuerpo.

Sesgo en el enriquecimiento Problema relacionado con el cultivo de enriquecimiento, donde los resultados se desvían por el aislamiento de especies minoritarias en detrimento de organismos de mayor abundancia y significado ecológico en un hábitat.

Setas Hongos filamentosos que producen cuerpos fructíferos macroscópicos, frecuentemente comestibles.

Sideróforos Agentes quelantes de hierro que pueden unir hierro presente en muy bajas concentraciones.

Sífilis congénita Sífilis contraída por un recién nacido a partir de su madre durante el parto.

Simbiosis Relación entre dos organismos.

Síndrome del choque tóxico (TSS) Choque sistémico agudo que se produce como resultado de la respuesta del sistema inmunitario a la exotoxina producida por *Staphylococcus aureus*.

Síndrome pulmonar por hantavirus (HPS) Enfermedad vírica aguda, emergente, caracterizada por pneumonía y transmitida por roedores.

Sintrofia Proceso en el que dos o más microorganismos cooperan en la degradación de una sustancia que no pueden degradar por sí solos.

Sistema binomial El sistema propuesto por Linneo para denominar a un organismo vivo según el cual a cada organismo se le da un nombre genérico y un epíteto de especie.

Sistema de distribución Cañerías, depósitos de almacenamiento, tanques y otros elementos empleados para distribuir o almacenar el agua potable.

Sistema de dos componentes Un sistema regulador que contiene una proteína quinasa sensora y una proteína reguladora de la respuesta *(véase* proteína sensora y proteína reguladora de la respuesta).

Sistemática El estudio de la diversidad de los organismos y la relación entre ellos; incluye la taxonomía y la filogenia.

Sistémica No localizado en una parte concreta del cuerpo; infección diseminada a través del cuerpo.

Sitio activo La parte de una enzima que está directamente implicada en la unión con el sustrato

Solutos compatibles Sustancias orgánicas (o iones potasio) acumuladas en el citoplasma de organismos para mantener la osmolaridad en aquellas células que crecen en ambientes con elevada concentración de sal o azúcares.

Sonda *Véase* sonda de ácido nucleico.

Sonda de ácido nucleico Oligonucleótido, normalmente de 10 a 20 bases de longitud, complementario a la secuencia de bases de una secuencia de ácido nucleico en un gen diana o ARN.

Sonda filogenética Oligonucleótido de secuencia complementaria a una secuencia firma de RNA ribosomal, a veces marcado con fluorescencia mediante su unión a un fluoróforo.

Subunidad pequeña de RNA (SSU) RNA ribosómico de la subunidad 30S de *bacteria o arquea*, la 40S de *Eukarya*, que contienen 16S y 18S RNA ribosómico, respectivamente.

Suero La porción líquida de la sangre que resulta de la eliminación de los factores de la coagulación y las células.

Sulfatara Emisor volcánico rico en azufre que genera un ambiente ácido y habitado por *arqueas* hipertermófilas.

Superantígeno Una molécula de un patógeno que desencadena una inadecuada y potente respuesta inmunitaria, por estimulación de un número superior a lo normal de células T.

Supresor Una mutación que restaura el fenotipo salvaje sin alterar la mutación original, normalmente produciendo otra mutación en otro gen.

Talasemia Condición genética que confiere resistencia a la malaria pero causa una reducción en la eficiencia de los glóbulos rojos por la alteración de una enzima.

Taxia Movimiento dirigido hacia un estímulo.

Taxonomía La ciencia de la identificación, clasificación y nomenclatura.

T-DNA Segmento del plásmido Ti de la bacteria *Agrobacterium* que se transfiere a las células vegetales.

Técnica aséptica Conjunto de manipulaciones utilizadas para evitar contaminaciones durante el manejo de objetos estériles o de cultivos microbianos con el fin de mantener la esterilidad.

Telomerasa Complejo enzimático que replica el DNA en los extremos de los cromosomas eucarióticos.

Temperaturas cardinales Temperaturas mínima, óptima y máxima que permiten el crecimiento de un organismo determinado.

Terapia génica Tratamiento de una enfermedad causada por la disfunción de un gen, que consiste en la introducción de una copia correcta de dicho gen.

www.elsolucionario.net

Termófilo Organismo cuya temperatura óptima de crecimiento está entre 45 °C y 80 °C.

Termosoma Chaperonina inducida por choque térmico que repliega proteínas parcialmente desnaturalizadas por la temperatura en *arquea* hipertermófilos.

Terapia antirretroviral muy activa (HAART, highly active antiretroviral therapy) Tratamiento del la infección del VIH con dos o más drogas antirretrovirales a la vez, para evitar la aparición de desarrollo de resistencia al tratamiento.

Test de la tuberculina Prueba que se realiza en la piel para detectar si ha existido una infección previa con *Mycobaterium tubercolisis*.

Tétanos Enfermedad que produce una rápida parálisis de los músculos, causado por una toxina producida por *Clostridium tetani*.

Tetraciclinas Una clase de antibióticos que contienen el anillo de naftaceno de cuatro átomos.

Tiempo de generación El tiempo necesario para que una población de células microbianas duplique su número.

Tifus Enfermedad transmitida por los piojos, causada por *Rickettsia prowazekii*, provoca fiebre, dolor de cabeza, debilidad, daño en el sistema nervioso central y otros órganos.

Tilacoides Sistemas de sacos membranosos fotosintéticos presentes en el citoplasma de las cianobacterias y en los cloroplastos.

Timo Principal órgano linfático responsable del desarrollo de las células T.

Tinción de Gram Técnica de tinción diferencial en el que las células se tiñen bien de rosa (gramnegativos), bien de azul (grampositivos), en función de sus características estructurales de la pared.

Título En un contexto inmunológico, cantidad de anticuerpo presente en una solución.

Tolerancia Incapacidad para producir una respuesta inmune contra antígenos específicos.

Tos ferina (*Pertrussis*) Enfermedad del tracto respiratorio superior causada por *Bordetella pertussis*, caracterizada por una tos intensa y persistente.

Toxicidad Patogenicidad causada por las toxinas producidas por un patógeno.

Toxicidad selectiva Capacidad de un compuesto para inhibir o matar microorganismos patógenos sin provocar efectos adversos en el hospedador.

Toxina Sustancia microbiana capaz de inducir daño en el hospedador.

Toxoide Toxina modificada atenuada, es más pequeña que la toxina normal, mantiene la capacidad de inducir la formación de anticuerpos pero carece de toxicidad.

Tracto respiratorio inferior Tráquea, bronquios y pulmones.

Tracto respiratorio superior Nasofaringe, cavidad oral y garganta.

Traducción Síntesis de proteínas utilizando la información genética presente en un RNA mensajero.

Traducción inversa Proceso mental que consiste en utilizar una tabla de codones y la secuencia de una proteína con el fin de obtener la posible secuencia del mRNA o el gen que codificó dicha proteína.

Transcripción Síntesis de RNA usando un DNA como molde.

Transcripción inversa El proceso de copia en el DNA de la información contenida en el RNA.

Transcrito primario Una molécula de RNA no procesado que es el producto directo de la trascripción.

Transcriptoma El RNA mensajero producido por un organismo en unas determinadas condiciones ambientales.

Transducción Transferencia de genes del huésped de una célula a a otra por medio de un virus.

Transfección La transformación de una célula procariota por DNA o RNA de un virus. Se utiliza también para describir el proceso de transformación genética en las células eucariotas.

Transferencia horizontal de genes transferencia de información genética entre organismos opuesta a la herencia vertical a partir de los organismos progenitores.

Transferencia lateral de genes Sinónimo de transferencia horizontal de genes.

Transferencia Northern Procedimiento de hibridación en el que el RNA está en el gel y la sonda es el DNA o RNA. Compárese con *transferencia Southern* y *transferencia Western*.

Transferencia Southern Un procedimiento de hibridación en el que el DNA está en el gel y la sonda es el RNA o DNA. Compárese con *transferencia Northern* y *transferencia Western*.

Transferencia Western *Véase* inmunotransferencia.

Transformación Transferencia de genes bacterianos que implica DNA libre. Un proceso por el que una célula normal se convierte en una célula cancerosa.

Translocación de grupo Mecanismo de transporte dependiente de energía, en el cual la molécula transportada es modificada químicamente durante el transporte.

Transportador ABC (casete de unión de ATP) Un sistema transportador de membrana que comprende tres proteínas, una que hidroliza ATP, otra que une al sustrato y otra que actúa como canal de transporte a través de la membrana.

Transporte activo Proceso de transporte dependiente de energía de sustancias desde fuera hacia el interior o viceversa, en el que las sustancias transportadas no cambian químicamente.

Transporte inverso de electrones Movimiento de electrones, con consumo de energía, contra el gradiente termodinámico, produciendo un reductor fuerte a partir de un donador de electrones débil.

Transposasa Enzima que cataliza la inserción de segmentos de DNA en otras moléculas de DNA.

Transposón Tipo de elemento transponible que lleva genes adicionales a los implicados en la transposición.

Transpeptidación Formación de puentes peptídicos entre las unidades de ácido acetil murámico durante la síntesis de peptidoglicano.

Transversión Mutación en la que una base pirimidínica es sustituida por una purina o viceversa.

Tratamiento primario de aguas residuales Separación física de los contaminantes de las aguas residuales, normalmente por decantación y sedimentación.

Tratamiento secundario aeróbico de aguas residuales Reacciones metabólicas llevadas a cabo por microorganismos en condiciones óxicas para tratar las aguas residuales que contienen bajos niveles de materia orgánica.

Tratamiento secundario anóxico de aguas residuales Reacciones metabólicas digestivas y fermentativas en condiciones anóxicas para el tratamiento de las aguas residuales que contienen elevados niveles de materia orgánica insoluble.

Tratamiento terciario de aguas residuales Procesos físico-químicos a los que se someten las aguas residuales para reducir los niveles de nutrientes inorgánicos.

Tubo de infección En la formación de nódulos radicales, el tubo de celulosa a través del cual las células de *Rhizobium* se desplazan hasta alcanzar e infectar las células de la raíz.

Turbidez Medida de las partículas suspendidas en el agua.

www.medilibros.com

Unión covalente Enlace químico no iónico en el que se comparten electrones entre los dos átomos.

Vacunación (inmunización) Inoculación en el hospedador de patógenos inactivos o productos del patógeno para estimular la protección inmunitaria.
Vacuna Patógeno inactivado o un producto inocuo del patógeno para estimular la respuesta inmunitaria.
Vacuna de DNA Vacuna que utiliza el DNA de un patógeno para provocar una respuesta inmunitaria.
Vacuna polivalente Vacuna que inmuniza contra más de una enfermedad.
Vacuola Pequeño espacio en el interior de la célula que contiene un fluido y está rodeada por una membrana. A diferencia de una vesícula, la vacuola no es rígida.
Vector Agente vivo que transfiere un patógeno *(véase* el otro uso de la palabra en el Capítulo 31).
Vector de clonación Elemento genético en el que los genes pueden replicarse y recombinarse.
Vector de expresión Vector de clonación que contiene las secuencias reguladoras necesarias para permitir la transcripción y la traducción de genes clonados.
Vector de integración Vector de clonación que se integra en el cromosoma de un hospedador.
Vector de secreción Vector de DNA en el que el producto proteico no sólo se expresa sino que se excreta fuera de la célula.
Vector lanzadera Vector de clonación que puede replicarse en dos o más hospedadores distintos.
Vehículo Fuente inanimada de patógenos que infecta a gran número de individuos. Los alimentos y el agua son vehículos comunes.
Vesículas de gas Estructuras citoplasmáticas llenas de gas y limitadas por proteínas que permiten la flotabilidad de las células.
Vía de la serina Una serie de reacciones en las que algunos metilotrofos asimilan el formaldehído como material celular mediante la vía del aminoácido serina.
Vía de las pentosas fosfato Principal ruta metabólica para la producción y catabolismo de las pentosas (carbohidratos de C_5).
Vía lisogénica Una serie de pasos después de la infección vírica que conducen al estado de lisogenia en el que el genoma del virus se replica como provirus junto con el genoma del hospedador.
Vía lítica Una serie de pasos después de la infección vírica que conducen a la replicación y destrucción (lisis) de la célula hospedadora.
Viable Capaz de reproducirse.
Vida con RNA Una forma de vida carente de DNA y proteína que pudo haber existido en la Tierra primitiva y en la que el RNA servía a la vez de material genético y catalítico.
Vigilancia Observación, reconocimiento y declaración de las enfermedades cuando aparecen.
Virión Partícula vírica infecciosa; genoma de ácido nucleico rodeado por una cubierta proteica y, en algunos casos, otras capas de material.
Viroide RNA monocatenario pequeño y circular que causa algunas enfermedades en plantas.
Virulencia Grado de patogenicidad que es capaz de producir un determinado patógeno.
Virus Elemento genético que contiene RNA o DNA rodeado por una cápsida proteica.
Virus atemperado Un virus cuyo genoma es capaz de replicarse junto con el de su hospedador y no causa muerte celular en un estado denominado lisogenia.
Virus auxiliador Virus que proporciona algunos de los componentes necesarios para un virus defectivo.
Virus de cadena negativa Virus con un genoma monocatenario que tiene el sentido opuesto (es complementario) al mRNA vírico.
Virus de cadena positiva Virus con un genoma monocatenario que tiene la misma complementariedad que el mRNA vírico.
Virus defectivo Virus que depende de otro virus, el virus auxiliador, para proporcionarle algunos de sus componentes.
Virus latente Virus presente en la célula, pero que no causa efectos detectables.
Virus virulento Un virus que lisa o mata la célula hospedadora después de la infección; un virus no atemperado.

Xenobiótico Producto totalmente sintético que no se da en la naturaleza.
Xerófilo Organismo que es capaz de vivir, o que vive mejor, en ambientes muy secos.

Zigoto En eucariotas, es la unión de dos células haploides (gametos) para dar una única célula diploide.
Zoonosis Enfermedad que ocurre primordialmente en los animales, pero puede ser transmitida a las personas.

www.medilibros.com

www.medilibros.com

Créditos de las fotografías

Las siguientes fotos aparecen en el texto sin créditos:

Figura 1-6 NASA
Figura 1-20 Yuri Arcurs/Shutterstock
Figura 26-6a Klagyi/Shutterstock
Figura 26-6b Puchan/Shutterstock
Figura 26-6c Karen Lau/Shutterstock
Capítulo 1 Foto de inicio del capítulo: D. E. Caldwell
Capítulo 2 Foto de inicio del capítulo: Gernot Arp, Christian Boeker, y Carl Zeis, Jena
Capítulo 3 Foto de inicio del capítulo: Brent Selinger, Pearson Benjamin Cummings
Capítulo 4 Foto de inicio del capítulo: Nicholas Blackburn
Capítulo 5 Foto de inicio del capítulo: James A. Shapiro, University of Chicago
Capítulo 6 Foto de inicio del capítulo: John Gosink y James T. Staley
Capítulo 7 Foto de inicio del capítulo: G. Murti/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 8 Foto de inicio del capítulo: SciMAT/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 9 Foto de inicio del capítulo: Timothy C. Johnston
Capítulo 10 Foto de inicio del capítulo: Jack Parker
Capítulo 11 Foto de inicio del capítulo: Peter T. Borgia
Capítulo 12 Foto de inicio del capítulo: Jason A. Kahana y Pamela A. Silver
Capítulo 13 Foto de inicio del capítulo: CAMR/A. Barry Dowsett / Photo Researchers, Inc.
Capítulo 14 Foto de inicio del capítulo: B. Boonyaratanakornkit & D.S. Clark, G. Vrdoljak
Capítulo 15 Foto de inicio del capítulo: M Huttel
Capítulo 16 Foto de inicio del capítulo: Richard W. Castenholz, University of Oregon
Capítulo 17 Foto de inicio del capítulo: Francisco Rodriguez-Valera
Capítulo 18 Foto de inicio del capítulo: F. Forsdyke
Capítulo 19 Foto de inicio del capítulo: CDC / PHIL
Capítulo 20 Foto de inicio del capítulo: Norbert Pfennig
Capítulo 21 Foto de inicio del capítulo: Dr. Dennis Kunkel/Visuals Unlimited
Capítulo 22 Foto de inicio del capítulo: Alex T. Nielsen
Capítulo 23 Foto de inicio del capítulo: SciMAT/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 24 Foto de inicio del capítulo: Dennis Kunkel/Dennis Kunkel Microscopy
Capítulo 25 Foto de inicio del capítulo: M. T. Madigan
Capítulo 26 Foto de inicio del capítulo: Dr. Linda Stannard, UCT/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 27 Foto de inicio del capítulo: CNRI/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 28 Foto de inicio del capítulo: Steve Gschmeissner/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 29 Foto de inicio del capítulo: Dr. Gopal Murti/PhototakeUSA.com
Capítulo 30 Foto de inicio del capítulo: SPL/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 31 Foto de inicio del capítulo: Steve Gschmeissner/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 32 Foto de inicio del capítulo: SPL/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 33 Foto de inicio del capítulo: Dennis Kunkel/Dennis Kunkel Microscopy
Capítulo 34 Foto de inicio del capítulo: Dennis Kunkel/Dennis Kunkel Microscopy
Capítulo 35 Foto de inicio del capítulo: LSHTM/Photo Researchers, Inc.
Capítulo 36 Foto de inicio del capítulo: Mark L. Tamplin
Capítulo 37 Foto de inicio del capítulo: SPL/Photo Researchers, Inc.

www.elibros.com

www.medilibros.com

Índice analítico

Abacavir (Abacavir), 888
Abceso, 941, 1062
  cultivo de una muestra de abceso, 1008
Abecuosa, 90
Abomasum, 790
Aborto espontáneo, 932
Abundancia de especies, 745, 746
Abuso de drogas, intravenoso, 1053
Acanthamoeba polyphaga, 628
Acantilados blancos de Dover, 589
Acaricida, 1126
Ácaros, 1126
Acaryochloris, 516. 761
Aceptor de electrones, 129-130, 152
  compuestos halogenados como, 705-706
  orgánico, 705
  respiración anaerobia, 144, 690, 702
  terminal, 134
Aceptor final, 215
Aceptor orgánico de electrones, 705
Aceptor terminal de electrones, 134
Acetaldehído, 135
Acetato, 485, 486, 549, 574, 686, 707, 911
  conversión a metano, 549, 700-701, 771
  descomposición anóxica, 771
  fuente de carbono y energía, 505
  metanogénesis, 700-701
  oxidación, 697, 704
    bacteria sulfato reductora, 696
  producto de fermentación, 464, 498, 680, 681, 684, 685, 688, 771, 772
  rumen, 790, 791
Acetato cinasa, 679
Acetato de celulosa, 788
Acetil- CoA, 132, 133, 574, 679, 680, 683, 684, 710, 716, 717, 718
  carboxilación, 656, 657
  ciclo del ácido cítrico, 143, 144
  síntesis, 712-713
Acetil-ACP, 149
Acetilasas, 892
Acetilcolina, 925
Acetileno, 56, 681
Acetilfosfato, 133, 679, 695
Acetitomaculum ruminis, 697
Aceto acetil-CoA, 149
Acetoanaerobium noterae, 697
Acetobacter, 442, 459, 722, 836, 837
Acetobacter aceti, 460
Acetobacter diazotrophicus, 670
Acetobacterium, 508, 681
Acetobacterium wieringae, 697
Acetobacterium woodii, 697
Acetogénesis, 528, 697-698, 718, 759, 771, 772
  hábitats acetogénicos, 773
  termes, 772
Acetogenium kivui, 697
Acetoína, 495, 683
Acetona, 680
Acetosiringona, 802
Acholeplasma, 501
Achromatium, 46, 448, 449
Achromatium oxaliferum, 75
Achromobacter, 1163
Achromobacter xylosoxidans, 452
Aciclovir, 888, 1105
Acidaminococcus fermentans, 681
Acidez, 180-182
  barrera a la infección, 931
  conservación de los alimentos, 1164
Acidianus, 558, 559, 658
Acidianus convivator, 618
Acidianus infernus, 560, 568
Acidithiobacillus, 181, 670, 776-777
Acidithiobacillus ferrooxidans, 448, 449, 551, 663-664, 665, 778, 779, 780, 781, 782
Acidithiobacillus thiooxidans, 783
Ácido 6-aminopenicilánico, 821, 884
Ácido alcohol resistencia, 505, 506
Ácido anhídrico, 58
Ácido antranílico, 814
Ácido ascórbico, producción comercial, 459, 837
Ácido carboxílico, 58
Ácido cítrico
  estructura, 838
  producción comercial, 837-838
  quelante del hierro, 838
Ácido desoxirribonucleico. *Véase* DNA
Ácido D-Glutámico, 86-88
Ácido diaminopimélico (DAP), 86, 88
Ácido dipicolínico, 101, 104, 500, 867
Ácido esteárico, 91
Ácido fólico, 121, 148, 698
Ácido fosfoglicérico (PGA), 575, 655, 702
Ácido fosfonofórmico (Foscarnet), 889
Ácido glucónico acid, producción comercial, 837
Ácido hialurónico, 922
Ácido hipocloroso, 941
Ácido inosínico, 148
Ácido isobutírico, 499
Ácido isovalérico, 499
Ácido itacónico, producción comercial, 837
Ácido láctico, producción comercial, 837
Ácido láurico, 91
Ácido lipoico, 121
Ácido lipoteicoico, 89, 917
Ácido málico, 831
Ácido micólico, 504, 505, 1083, 1084-1085
Ácido mirístico, 91
Ácido N-acetilmurámico, 86, 88, 89, 93, 159
Ácido N-acetiltalosaminurónico, 93
Ácido nalidíxico, 197, 880, 882
Ácido nicotínico, 121
Ácido nitroso, 319
Ácido oleico, 806
Ácido orótico, 148
Ácido palmítico, 91, 806
Ácido palmitoleico, 63
Ácido *p*-aminobenzoico, 121, 881
Ácido pantoténico, 121, 700
Ácido peroxiacético, 875, 877
Ácido *p*-hidroxibenzoico, 802
Ácido prefénico, 814
Ácido propiónico, 504, 685
Ácido ribonucleico. *Véase* RNA
Ácido silícico, 624-625
Ácido sórbico, 1165
Ácido sulfúrico, formado por las bacterias del azufre, 660
Ácido tartárico, 14
Ácido teicoico, 88-89
Ácido teichoranica, modelo para, 551
Acidobacteria. 521
Acidobacterium capsulatum, 521
Acidófilo, 44, 49, 181, 189, 778, 827
  extremo, 539
  obligado, 181, 189
Ácidos biliares, 911
Ácidos grasos, 717-718
  análisis FAME, 426-427
  cadena impar de átomos de carbono, 149
  cadena larga, 529
  cadena ramificada, 149
  de fosfolípidos, 717
  efectos de las elevadas presiones, 765
  estructura, 62
  insaturado, 149, 177, 180
  oxidación, 485, 487, 717
  poliinsaturados, 177
  ramificados, 149
  saturado, 177, 180
  síntesis, 149
  tipos, en *Bacteria*, 426
  volátiles, 790
Ácidos líquenicos, 799
Ácidos nucleicos, 4, 39, 57-58, 59, 60
  estructura, 63-64
  hibridización. *Véase* Hibridación por enlaces de hidrógeno, 57
  más (positiva)-cadena, 285-286, 608
  menos (negativo)-cadena, 285-286
  secuencia de aminoácidos, similitudes, 395
  síntesis, 148, 890
Acidosis, 791
Acidothiobacillus ferrooxidans, 664, 722
Acidothiobacillus thiooxidans, 448
Acidovorax facilis, 452
Aciduliprofundum, 554-556
Acil-homoserina lactonas, 255, 469
Acineto, 514
Acinetobacter, 95, 327, 442, 462, 905, 906, 1011, 1163
  resistencia antimicrobiana, 896
Acné, 906, 1095
Aconitato, 143, 681
Acontecimientos naturales anormales, contribución de la emergencia de patógenos, 1066
Acoplamiento interrumpido, 335
ACP. *Véase* Proteína transportadora de acilo
Acridina, 318
Acrilato, 679, 777
Actina, 578
  proteína procariótica similar a, 157
Actinobacteria, 503-511, 905, 909, 910
  filamento, 507-511
  Mycobacterium, 504-506
Actinomicetes filamentosos, 507-511
Actinomicetos (actinobacteria), 507-511, 713
  espora, 756
  fijación de nitrógeno, 508
Actinomicina, 814, 880, 883
Actinomyces, 507, 905, 907
Actinoplanes, 508
Activador de plasminógeno, 861
Actividad del agua
  alimentos, 187, 1162, 1163, 1181
  crecimiento, 182-184
  definición, 189
  endosporas, 867
  suelo, 182, 756
Actividad microbiana, en la naturaleza, 721
Adaptación, 258
  microbiana, 1065
Adaptador, DNA, 349
Adenil ciclasa, 927
Adenilato ciclasa, 261
Adenililación, 151
Adenina, 63, 193, 195
Adenosín desaminasa, 859
Adenosín fosfosulfato reductasa, 661, 695

Adenosina difosfato (ADP), 679
Adenosina difosfoglucosa (ADPG), 146, 147
Adenosina fosfosulfato (APS), 680, 694
Adenosina trifosfato. *Véase* ATP
Adenovirus, 295, 371, 629, 634-635, 1026, 1090
  genoma, 634-635
Adhesión, 915-918, 920
  de la molécula-1 intercelular (ICAM-1), 1091
Adición de la cola, 239
Adición enzimática de CCA, 216
ADP-ribosilación, 924
Aerobactina, 918, 1066
Aerobio, 43, 185, 189
  facultativo, 185, 186
  hábitat, 184
  obligado, 185, 186
  técnicas de cultivo para, 185-186
Aeromonas, 442, 1011, 1163
Aeropyrum, 559
Aeropyrum pernix, 380
Aerotaxia, 113, 114, 258
Afinidad de la unión del antígeno, 954
Aflatoxina, 1137
África, enfermedades infecciosas en, 1059
Agammaglobulinemia, 969
Agar, 18, 19, 124, 602, 713
Agar anaerobio, 1005
Agar chocolate, 1005, 1008
Agar citrato de Simmons, 1012
Agar eosina-metileno azul (EMB), 1006, 1011
Agar Hektoen, 1008
Agar MacConkey, 1005, 1006, 1007
Agar para enterobacterias, 1006
Agar *Salmonella-Shigella*, 1007
Agar sangre, 1004, 1005, 1007
Agar semisólido superpuesto, ensayo de virus en placa, 280
Agar sulfito de bismuto, 1007
Agar Thayer-Martin, 1005, 1008
Agarasa, 713
Agaricus, 601
Agaricus bisporus, 840
Agarosa (Agarose), 346
Agente alquilante, 319
Agente antimicrobiano. 873, 808. *Véase también* Eficacia de los antibióticos, 877-878
  efecto en el crecimiento, 873
  medición de la actividad antimicrobiana, 874-875
  sintéticos, 880-882
  tipos, 874
  toxicidad selectiva, 873
  uso externo, 875-878
  utilizados *in vivo*, 878-887
Agente bactericida, 866, 873, 874, 899
Agente bacteriolítico, 873, 874, 899
Agente bacteriostático, 866, 873, 874
Agente específico de terminación de la cadena, 352
Agente fotoprotector, 646
Agente fungicida, 873, 899
  biodegradación, 786-787
Agente fungistático, 873, 899
Agente intercalante, 318
Agente quimioterapéutico, 866, 881, 887-890
Agente reductor, 185, 487
Agente similar al virus Norwalk, 1063
Agente solidificante, medio de cultivo, 18, 19-20
Agente viricida, 873, 899
Agente virustático, 873, 899
Agentes antigripales, 889
Agentes *bacteriolíticos*, 874
Agentes infecciosos, 9, 11
Agitador, 815, 816
  mezclador, 815
Aglutinación directa, 1024
Agmantina, 679
Agricultura
  microbiología, 8, 23
  plantas transgénicas, 860-861
  uso de antibióticos en, 893
Agrobacterium, 310, 442, 670, 801-802
Agrobacterium rhizogenes, 801
Agrobacterium tumefaciens, 801, 860
Agromyces, 508
Agua, 754
  acabada, 1150, 1159
  de bebida segura, 1144
  en la fotosíntesis oxigénica, 652
  enlace de hidrógeno, 57
  estructura, 56
  molécula, 56
  muy caliente, 795
  naturaleza cohesiva, 60
  no tratada (pura), 1148, 1159
  permeabilidad de las membranas a, 82
  polaridad, 56, 58-59
  potable, 1149, 1159
    agua como fuente de enfermedades, 1151
  potable (agua de bebida), 1143, 1144
    enfermedades transmitidas a través del agua , 1151, 1152
    estándares, 752
    microbiología, 23
    potabilización, 1149-1150
  pura (no tratada), 1149, 1159
  separación (hidrógeno y oxígeno), 652
  solvente biológico, 59-60
Agua subterránea, microbiología de la subsuperficie profunda, 757, 758-759
Tierra primigenia, 408
Aguas de recreación, enfermedades transmitidas por el agua, 1151
Aguas residuales, 1145-1149, 1159. *Véase también* Tratamiento de aguas residuales
  domésticas, 1146
  industriales, 1145, 1146
  urbanas, 1145
Aire acondicionado, 876, 1156
Aireador, 815, 816
Aislamiento, 721
  de bacterias reductoras del azufre, 487
  en cultivo axénico (puro), 726-727
Alanina
  código genético, 212
  enantiómeros, 66
  estructura, 65
  fermentación, 679, 684
  síntesis, 147
Alantoína, 679
Alarmonas, 262-263
Alcaligenes, 310, 442, 670
Alcalinidad, 180-182
Alcalófilo, 44, 50, 181, 189, 827
Alcanotos, 748
Alcohol(s), 58, 679, 813. *Véase también* Etanol
  antiséptico, 876
  deshidrogenasa, 120
  desinfectantes, 70, 876
  esterilizantes, 876
  producto de fermentación, 771
Aldehído, 58
Aldolasa, 135, 681
Aldrina, 787
Ale, un tipo de fermentación cerveza, 832
Alelo, 430, 437
Alérgeno, 976
Alergia, 956, 976-978, 1136
Alfavirus, 1067
Algas, 37, 51, 582, 601-604, 605
  béntica, 752
  blancas (como la nieve), 176
  colonial, 604
  de las nieves, 176
  doradas, 587
  filamentosas, 602, 603, 604
  líquen. *Véase* Líquen
  marrones, 587
  microfosil, 407, 408
  pardo-doradas, 587, 588
  producción de petróleo, 786
  psicrofílico, 176
  rojas, 577, 582, 587, 601, 602-603
  similares a *Chlorella*, 627
  solutos compatibles, 183
  unicelular, 601-604
  verdes, 175, 176-177, 577, 582, 603-604, 627
Alginato liasa, 849, 850
Aliamina, 880
Alicyclobacillus, 497
Alicyclobacillus acidocaldarius, 498
Aliivibrio fischeri, 183, 468, 796-798
Aliivibrio, 442
Alimento
  actividad de agua, 182, 1162, 1164, 1181
  alteración, 9, 185, 869, 1162-1163, 1180
  congelado y desecado, 1164
  congelado, 10, 1163, 1164
  conservación química, 1165-1166
  conservación, 311, 1163-1166
  contenido de humedad, 1162
  de microorganismos, 838-839
  desecado, 1164
  en lata, 1172
  enlatado, 10, 1164, 1181
  ensayo con sondas de ácido nucleico, 1036-1037
  esterilización por radiación, 871
  fermentado, 1166-1168
  irradiado, 1166, 1177
  no perecedero (estable), 1162
  perecedero, 1162-1181
  pH, 1164
  procesamiento del alimento de forma aséptica, 1165-1166
  salado, 541, 1164
  semiperecederos, 1162, 1181
  transgénico, 857-858
Alimentos deshidratados, 1164
Alimentos en contacto con desinfectantes, 877
Alimentos estables (no perecederos), 1162, 1181
Alimentos fermentados, 1166-1168
Alimentos salados, 541, 1164
Alimentos semiperecederos, 1162, 1181
Alineamiento de secuencias, 419-420
Aliso, 807
Allochromatium, 444
Allochromatium vinosum, 443
Allochromatium warmingii, 432
Allomyces, 597
Almacenamiento de polímero, 133, 655, 748
Almacenamiento de productos nitrogenados, 518
Almacenamiento en frío de los alimentos, 1163
Almidón, 61, 133, 146, 655
  conversión a jarabes ricos en fructosa, 826
  degradación, 713-716, 791
Ahuis, 670
Alnus glutinosa, 808
Aloficocianina, 646
Alostería, 150
2-Alquil-acetato, 679
2-Alquil-acetil-fosfato, 679
2-Alquil-CoA, 679
3-Alquil-piruvato, 679
Alteración de los alimentos, 9, 185, 485, 597, 869, 1162-1163, 1180
Alternaria, 1163
Alúmina, 1150
Aluminio, drenaje ácido de minas, 779-780
Alvéolados, 577, 581, 582, 585-587
Alveolos, 585
Amanita, 594, 601
Amantadina, 888, 1094
Ambiente
  aguas dulces, 752-754
  anóxico de aguas dulces, 752, 753
  de la planta, 757
  efecto en el crecimiento, 172-188
  extremo, 175-180, 514, 827
    tolerancia, 45
  hospitalario, 1051, 1054
  microambientes, 747-749

www.medicos.com

óxico, 748, 766
ambiente acuático (aguas dulces), 754
Ambientes fríos, 175-178
Ambientes termales, 178
Ambientes terrestres, 754-757
Ambivirus, 287
Amebiasis, 1032, 1060, 1157-1159
Amebocitos, 829
Amebozoo, 581, 589-592
Amenia
falciforme, 1131
perniciosa, 823, 977
América, enfermedades infecciosas en, 1059
Ames, Bruce, 322
Amikacina, 880, 885
Amilalcohol, 14
Amilasa, 713, 714, 827
aplicaciones industriales, 826
producción comercial, 826
Amilopectina, 863
Amilosa, 863
Aminoácido, 58, 122
aromático, síntesis, 150, 151, 814
captación, 544
enantiómeros, 66-67
esqueleto carbonado, 147-148
estructura, 66
familias, 66, 147
fermentación, 498-499, 679, 684
grupo amino, 147
grupo R, 65
industria alimentaria, 825
limitación, respuesta severa a, 262-263
no estándar, 220
no polar, 65
producción comercial, 824
secuencia de ácido nucleico similitudes, 395
síntesis, 147-148
sitio de unión, 215
Aminoacil-AMP, 217
Aminoacil-tRNA sintetasa, 215-217, 221, 223
γ-Aminobutirato, 679
Aminoglicósido, 815, 885, 899
modo de acción, 885
resistencia, 892
Aminopterina, 1021
2-Aminopurina, 319
Aminotransferasa, 147
Ammonifex, 534
Amoeba, 583, 589
anaerobia, 1158
moho mucoso, 591
Amoeba proteus, 590
Amonificación, 774
Amonio
anhidro, 775
ciclo del nitrógeno, 774-775
donador de electrones, 666
efecto desconectado, 674
fijación de nitrógeno, 259, 806
fuente de energía, 144
fuente de nitrógeno, 119, 147, 669
monooxigenasa, 447, 666, 667, 736
nitrito como aceptor de electrones, 667
oxidación, 446, 447, 455, 663, 666, 667-669
producción en la desnitrificación, 692
Amoxicilina, 1097, 1129
AMP cíclico (cAMP), 273
agregación de mohos mucosos, 590
estructura, 260
represión por catabolito, 261
tos ferina, 1081
toxina colérica, 927
Amphibacillus, 497
Ampicilina, 822, 884, 898
resistencia, 350
Amplificación de genes, 821
Amprenavir, 888
Anabaena, 512, 513, 514, 670
Anabaena azollae, 808
Anabaena flosaquae, 99
Anaerobacter, 497
Anaerobio, 43, 185-186, 189
aerotolerante, 185, 189, 494
ameba, 1158
cultivo, 185-188, 1009
estricto, 185, 189, 508, 557, 668, 669, 690
hábitat, 185
intestinal, 909
obligado, 185-186, 189, 508, 557, 668, 690
rumen, 790
Anaeroplasma, 501
Anafilatoxinas, 960
Anafilaxis, 976
Análisis bayesiano, 421
Análisis de drogas, ELISA, 1029
Análisis de la comunidad, 732
FISH, 730-732
microbiana, 425, 435
PCR, 732-735
genómica ambiental, 401, 735-736
reacción de la polimerasa en, 732-735
sondas de ácidos nucleicos, 732
transcripción inversa *in situ*, 731
Análisis de la secuencias del genoma total, 431
Análisis de la secuencias multigénicas, 431, 434
Análisis de secuencias, 732
Análisis evolutivo, 417-421
aspectos teóricos, 417-418
métodos analíticos, 419-421
Análisis fenotípico, 426-427
Análisis filogenéticos, 431-432, 434
alineamiento de secuencias, 419-420
genes empleados en, 417
obtención de secuencias de DNA, 419
Análisis genómico, 382
Análisis genotípico, 428-431
Análogo de base, 318-319
Análogo del pirofosfato, 888
Análogo dideoxinucleótido, 352
Análogo nucleósido, 888, 890, 1112
Análogos de bases nucleotídicas, 318, 319
Análogos de los ácidos nucleicos, 881, 882, 890
Análogos de nucleótidos, 888
Anamox, 448, 668-669, 675, 775
Anamoxoma, 668
Ancalomicrobium, 497
Ancalomicrobium adetum, 478
Ancestro común. *Véase* Ancestro universal
Ancestro universal, 7, 42, 422
último ancestro común universal, 410, 412, 421
Ancyclobacter, 472, 475
Ancyclobacter aquaticus, 473
Anemia falciforme, 1131, 1140
Anemia perniciosa, 823, 977
Anergia, 997, 998, 1001
Anergia clonal, 997, 1001
anHDK genes, 674
Anfocetina B, 511
Anfotericina, 890
Anginas, 1019, 1038, 1078-1079
Angiococcus, 482
Anhidrasa carbónica, 120
Anillo β-lactámico, 821
Anillo C, 107
cultivo, 185-188, 1009
Anillo de base, 32
Anillo FtsZ, 157, 159
Anillo L, 107
Anillo MS, 107, 108
Anillo P, 107
Anillo pirrólico, 138
Animal transgénico, 855-857
en investigación médica, 856
Animálculos, 13
Animales con intestino ciego, 792-793
Anoxia, 718
Ansamicina, 814
Antártica *Dry Valleys*, 604
Antibiograma, 1015, 1039
Antibiótico, 338, 822, 882-887, 899. *Véase también* Compuestos específicos
aislamiento y caracterización, 818-821
amplio espectro, 822, 841, 883, 886, 899
aumento del rendimiento, 820
biopelícula (biofilm), 173, 750, 751
búsqueda de nuevos antibióticos, 818-820, 896-899
combinado con compuestos que inhiben antibióticos resistencia, 898
efecto en las mitocondrias y los cloroplastos, 576
efecto sobre la microbiota intestinal, 911
efecto sobre la RNA polimerasa, 883
espectro estrecho, 883
inhibidores de la síntesis de proteínas, 220
macrólido, 886
modo de acción, 884
natural, 883
péptido, 67
producción, 496, 510-511, 885-887
producción anual mundial, utilización y uso, 881
producción comercial, 510, 813-814
producción industrial, 821-823
Antibiótico β-lactámico, 841, 883-885, 896, 899
producción comercial, 821-822
Antibiótico aromático, 890
Antibiótico de amplio espectro, 822, 841, 883, 886, 899
Antibiótico de estrecho espectro de acción, 883
Antibiótico macrólido, 886
Antibiótico peptídico, 67
Antibiótico semisintético, 885
Anticodón, 213, 215, 219, 223
Anticonceptivos orales, 1102
Anticuerpo, 937, 945, 946-947, 961, 966, 980, 990-993, 1001. *Véase también* Inmunoglobulina (Ig)
activación del complemento, 959-961
auto-reactivos, 1025
control genético, 956
detección, 1029-1031, 1034
diversidad, 991, 992-993
especificidad, 947
fluorescente. *Véase* Test con anticuerpos fluorescentes
inmunidad, 953-962
inmunidad adaptativa y, 968-969
monoclonal. *Véase* Anticuerpos monoclonal
natural, 1024
otros tipos, 955-957
planticuerpo, 863
policlonal, 1020-1021, 1039
producción, 942, 957-959
reacción antígeno-anticuerpo, 959-961, 1021-1024
título, 958, 972, 1018-1020, 1039
unión del antígeno, 947
Anticuerpo monoclonal, 1020-1021, 1039
diagnóstico clínico, 1021
híbridomas, 1020-1021
Inmunodiagnóstico, 1018-1021
producción, 1020-1021
uso terapéutico, 1021
Anticuerpos monoclonales específicos de tumor, 1021
Antígeno, 366, 495, 946-951, 960, 966, 980
diversidad de receptores, 957
heterólogo, 947
homólogo, 947
superantígeno, 975, 979
Antígeno H, 466, 920, 1019
Antígeno hemaglutinina filamentosa, 1082
Antígeno K, 465
Antígeno leucocito humano (HLA), 987
complejo HLA, 987
Antígeno M1, 275
Antígeno O, 466, 920, 1019
Antígeno protector, 921, 1066, 1070
Antígeno *Rh*, 1024
Antígeno tumor, 1021
Antígeno Vi, 466, 920
Antígenos leucocitos humanos, 948, 987
Antígenos propios, 995
Antihistaminas, 977

www.edilibros.com

Antiportador sodio-protón, 84, 545
Antiportador, 83
Antiséptico, 876, 877, 899
Antisuero, 953, 972
  hiperinmune, 972
  policlonal, 1020
Antitoxina, 972, 1022
  de la difteria, 1081
Antranilato sintasa, 270
Añil, modificación genética en la producción de, 854-855
Apareamiento, 195
Apareamiento (codón-anticodón), 387
APC. *Véase* Células presentadoras de antígeno
Apéndices bacterianos, 74, 477-481, 520
Apertura numérica, 30
Apicomplexans, 577, 583, 585, 587
Apicoplasto, 587
Apilamiento de lixiviación, 781, 782
Aplicación de la ciencias biológicas
  microbiología como, 3
Apoptosis, 951, 996
APS. *Véase* Adenosina fosfosulfato
APS cinasa, 694
APS reductasa, 661, 695
Aquachelina, 119
Aquaporinas, 81
Aquaspirillum, 442, 472
Aquaspirillum autotrophicum, 452
Aquaspirillum serpens, 94
Aquifex, 45, 48, 411, 412, 422, 441, 534, 568, 657
Aquifex aeolicus, 381, 534
  genoma, 381
Aquifex pyrophilus, 452, 533
Arabidopsis. 390, 396, 397
Arabidopsis thaliana, 390
Arachnia, 508
Árbol filogenético, 4, 41, 42, 420, 733
  eucariótico, 580-582
  sin raíz y con raíz, 420
  universal, 420-422, 437
Árbol, micorrizas, 799
Arbuscular mycorrhizae, 598, 799
Arbúsculos, 595
Archaea, 38, 42, 227-232, 406, 421-423, 437
  acidófilo, 181
  análisis filogenéticos de comunidades naturales, 50
  árbol filogenético, 42, 49
  características compartidas con *Bacteria*, 231-232
  cromosomas, 228-229
  distribución génica, 385
  diversidad, 50-51
  evolución, 41, 42, 567-569
  filogenia, 421-423, 539-540
  flagelos, 107
  halófilos extremos, 541-546
  hipertermófilos, 178, 179, 552-556
  lípidos, 410
  mar abierto, 763
  membrana citoplasmática, 78-79, 80
  metabolismo, 412, 540
  metabolismo energético, 540
  metanógenos, 546-550
  morfología celular, 159
Nanoarchaeum. *Véase* Nitrificación en *Nanoarchaeum*, 563
  pared celular, 89, 93-94, 410
  propiedades fenotípicas, 423
  replicación, 228
  respuesta al choque térmico (calor), 264-265
  RNA plimerasa, 207
  secuencias intermedias, 230
  semejanzas con *Eukarya*, 227, 415
  sin pared celular, 550-551
  síntesis de proteínas, 230
  sistema genético, 338-339
  sondas filogenéticas, 424
  traducción, 230, 241
  transcripción, 229
    control de, 259
  transferencia de genes, 338-339
  virus, 617-619
Archaeoglobales, 553-554
Archaeoglobus, 486, 533, 539, 557, 558, 559, 694
Archaeoglobus fulgidus, 553
  genoma, 380
Archangium, 482
Arcillas, 755
Arcobacter, 448
Arcobacter nitrofigilis, 488
Área
  costera, 760, 762
  superficial, 77
Arena, 755
Arenavirus, 296, 1067
Arginina
  cianoficina, 513
  código genético, 212
  dihidrolasa, 513
  estructura, 65
  fermentación, 679, 685
  síntesis, 147, 249
2-Aril-acetil-CoA, 679
2-Aril-acetil-fosfato, 679
3-Aril-piruvato, 679
Armas biológicas, 1067-1068
  candidatos, 1067-1068
  características, 1067
  dispersión, 1070
  prevención y respuesta, 1070
  y tóxicos convención (1972), 1070
Arrozales, 773
Arsenato, 704
Arsénico, 782, 783
  compuesto, aceptor de electrones, 704
Artemisinina, 1131
Arthrobacter, 452, 503-504, 508
Arthrobacter crystallopoietes, 87, 503
Arthrobacter globiformis, 504
Arthrospira, 512
Artritis, 493, 1095
  del líquido sinovial, 517
  reumatoide, 977
Ascocarpo, 599
Ascomicetos, 594, 598-601
Ascospora, 596
Ashbya gossypii, 824
Asimilación de compuestos de un carbono, 712-713
Asparagina, 807
  código genético, 212
  estructura, 65
  síntesis, 147
Aspartamo, 824, 841
Aspartato
  estructura, 65
  fermentación, 679
  industria alimentaria, 825
  síntesis, 148
  síntesis de pirimidina, 148
  síntesis de purina, 147
Aspartocinasa, 824
Aspergillus, 14, 594, 821, 1136, 1138, 1163, 1168
Aspergillus flavus, 1137
Aspergillus fumigatus, 594
Aspergillus nidulans, 313, 390
Aspergillus niger, 838, 870
Aspergilosis, 1138
Asteriolampra, 588
Asteroleplasma, 501
Asticcacaulis, 478
Asticcacaulis biprosthecum, 478
Astrovirus, 1179
Atenuación, 270-272, 933
Atenuador, 270
Atmósfera
  acumulación de oxígeno, 410, 411-413
  Tierra primitiva, 408
ATP, 43, 64, 132, 152. *Véase también* Mitocondria
  energía libre de hidrólisis, 132
  estructura, 64, 132
  fijación de nitrógeno, 671
  producción
    bacterias del azufre, 660
    bacterias nitrificantes, 667
    bacterias oxidadoras del hidrógeno, 659-660
    bacterias oxidadoras del hierro, 664
    bacterias sulfato reductoras, 693-696
    células primitivas, 411
    descarboxilación de ácidos orgánicos, 687
    fermentación, 134-137, 678, 680
    fosforilación oxidativa, 142
    fotosíntesis oxigénica, 652-654
    fotosíntesis, 641, 647-652
    fuerza motriz de protones, 142, 145
    glicólisis, 134-137
    halófilos extremos, 545
    homoacetógenos, 696
    metanógenos, 548, 697, 698, 700-701
    quimiolitotrofia, 658-659
    respiración, 137
    sintrofía, 689-690
    sistema de transporte de electrones, 137, 139
  síntasa, 137, 141-142, 145, 152, 387, 649, 650
    (reversible de), 142
  sulfurilasa, 695
  uso
    activación de aminoácidos, 216
    ciclo de Calvin, 654-656
    glicólisis, 134
    fijación de nitrógeno, 671
    proteína plegadora, 222
ATPasa. *Véase* ATP sintasa
ATP-unión casete. *Véase* Sistema de transporte ABC
Atrayente, 112, 113, 257, 258
  sitio *att*, 293, 330
  sitio *attR*, 616
Atrazina, 787
ATV, 618
Aumento, 29, 30
Aureobasidium pullulans, 760
Aureomicina. *Véase* Clortetraciclina
Auripigmentum, 705
Autoanticuerpo, 977, 978, 980
Autoclave, 124, 868, 899
Autoempalme, 238, 239-240
Autoensamblaje, virus, 277, 609
Autofluorescente, 32, 700
Autofosforilación, 253
Autoinducción, 469, 490
Autoinductor, 255, 272
Autoinmunidad, 995
Autolisina, 159, 160, 326
Autolisis, 160, 189
Autotrofia, 641
  bacterias anamox, 668-669
  bacterias del hidrógeno, 659
  bacterias verdes del azufre, 523
  en *Archaea*, 540
  metanógenos, 701
Autótrofo, 21, 44, 118, 144, 152, 641, 675, 697-698
  Archaea, 540
  evolución, 411
  fijación del dióxido de carbono, 654-658
  fotosintesis anoxigénica y, 650
  quimiolitotrófico, 662
Auxótrofos para la histidina, 313
Auxotrofo, 313-314, 342
Avances tecnológicos, contribución a la emergencia de patógenos, 1061-1064
Avery, Oswald, 24, 326
Avidez, inmunoglobulina, 956
Axonema, 579
Azidotimidina (AZT), 888, 1112, 1113
Azitromicina, 886, 1102, 1104
Azoarcus, 706
Azol, 880, 890
Azolla, 515, 807
Azolla pinnata, 808
Azomonas, 461, 670
Azorhizobium, 670, 803
Azorhizobium caulinodans, 804, 807
Azospirillum, 442, 460, 472
Azospirillum lipoferum, 472, 670
Azotobacter, 45, 442, 459-460, 670, 721, 722, 774
Azotobacter chroococcum, 21, 461
Azotobacter vinelandii, 460, 671
AZT. *Véase* Azidotimidina (AZT)
Azúcar (carbohidrato), 59
  biosíntesis, 146-147

www.edicionesdiaz.com

captación, 84
diversidad, vía de las pentosas fosfato, 715-716
enantiómeros, 66
estereoisómeros, 61
estructura, 60
fermentación, 314, 680, 683
fosforilado, 84
metabolismo, 146
Azufre
aceptor de electrones, 553-554, 556, 558
compuestos orgánicos de azufre, 777
desproporcionado, 696, 775
donador de electrones, 558
elemental. *Véase* Azufre elemental
equilibrio global, 776
fraccionamiento de isótopos estables, estudios, 739, 740
oxidación, 556, 557, 659-666, 746, 776
a sulfato, 661
bioquímica y energética, 660, 661
reducción, 696
requerimientos celulares, 119
Azufre elemental, 97, 133, 660-662
aceptor de electrones, 555, 642
donador de electrones, 651, 654, 660, 661, 776
Azul de metileno, 30

***Bacillus*, 13, 46, 100-105, 181, 272, 327, 496-497, 722, 733, 774, 883, 1010, 1011, 1118, 1140, 1163**
esporulación, 265
Bacillus anthracis, 16, 94, 310, 359, 380, 498, 882, 916, 921, 1026, 1045, 1062, 1066, 1067, 1070, 1140
Bacillus brevis, 94
Bacillus Calmette-Guerin (BCG) vacuna, 1085
Bacillus cereus, 31, 498, 728, 733, 921, 926, 927, 1169, 1179
Bacillus circulans, 498
Bacillus coagulans, 498
Bacillus globigii, 346
Bacillus licheniformis, 498, 818, 827
Bacillus macerans, 498
Bacillus megaterium, 101, 425, 498, 733, 940
Bacillus polymyxa, 670, 722, 818
Bacillus schlegelii, 452
Bacillus sphaericus, 498
Bacillus subtilis, 36, 87, 89, 210, 269, 272, 325, 326, 346, 379, 498, 714, 733, 819, 870, 893, 1017
bacteriófago G, 628
esporulación, 101
formación de la endospora, 265
genoma, 381, 382
hospedador de clonaje, 364
Bacillus thuringiensis, 498, 862
Bacilos formadores de endósporas, 496-500
Bacilos gramnegativos, aerobios facultativos, 463
Bacilos grampositivos, formadores de endosporas, 496-500
Bacitracina, 496, 818, 880
Bacteremia, 918, 933, 1005, 1039
Bacteria (Dominio), 38, 42, 231, 406, 421, 437
análisis filogenético de las comunidades naturales, 50
árbol filogenético, 42, 45
biomasa, 8
características compartidas de *Archaea* y, 231-232
clases de ácidos grasos, 426
distribución de genes, 385
diversidad, 45-48
en relación con la mitocondria y los cloroplastos, 575-577
evolución, 41, 42
filogenia, 421-423, 441-443
fósil, 408
lípidos, 410
mar abierto, 763
metabolismo, 412
modelo de regulación del desarrollo, 265-267
pared celular, 410
propiedades fenotípicas, 423
semejanzas con *Eukarya*, 415
sondas filogenéticas, 424
traducción, 241
virus, 608-617
Bacteria celulolítica, 771
Bacteria con prosteca. *Véase* Bacterias pedunculadas
Bacteria del ácido acético, 459-460, 1164
producción de vinagre, 836
suboxidantes, 459
Bacteria donadora (macho), 608
Bacteria gramnegativa, 31, 85, 88
membrana externa, 90-92
movilidad por deslizamiento, 110
pared celular, 86, 87, 88, 91, 92
sistema de transporte ABC, 85
transpeptidación, 160
Bacteria luminiscente, 468-469
Bacteria pectinolítica, 528
Bacterias carboxidotróficas, 452
Bacterias comedoras de carne, 1079
Bacterias con gemas, 477-481
características, 477
Planctomyces, 519
Bacterias con vaina, 475-476
Bacterias de forma bacilar, 3, 74, 75
Bacterias del ácido láctico, 46, 120, 137, 493, 1102, 1162, 1167
cultivo de enriquecimiento, 722
diferenciación, 494
heterofermentativas, 494, 495, 536, 681
homofermentativas, 494, 495, 496, 504, 536, 681, 682
Bacterias del ácido propiónico, 504, 508, 685, 723, 1167
Bacterias del azufre, 659
cultivo de enriquecimiento, 1164
energética, 660
sin color, 659, 662
Bacterias del fosfito, 659
Bacterias del hidrógeno. *Véase* Bacterias oxidadoras del hidrógeno
autotrofía en, 659
cultivo de enriquecimiento, 721
Bacterias del hierro, 659
Bacterias desnitrificantes, 706, 708
Bacterias entéricas, 463-467, 680, 1006
características, 463
identificación, 464-465
pruebas clave de diagnóstico, 465
tipos de fermentación, 463, 681
Bacterias filamentosas, 74, 75
Bacterias fusiformes, 90
Bacterias grampositivas, 31, 45, 46, 85, 422, 441, 492-511, 906, 910, 911
de bajo contenido GC, 442, 492
de elevado contenido GC (Actinobacterias), 442, 503-511, 905, 910
filamentosas, 507-511
formadoras de endosporas, 496-500
no formadoras de esporas, 492-496
pared celular, 86, 87, 88, 90, 92
síntesis, 159-160
sin pared celular, 501-503
sistema de transporte ABC, 85
transpeptidación, 160
Bacterias incoloras del azufre, 660, 662
Bacterias nitrificantes, 446-448, 490, 659, 663, 666-668, 731, 749
características, 447
cultivo de enriquecimiento, 448, 722
ecología, 448
energética, 666
fuentes hidrotermales, 793, 795
metabolismo del carbono, 667
Bacterias oxidadoras de ácidos grasos, producción de hidrógeno, 689, 690, 771
Bacterias oxidadoras de amonio, 447, 666
Bacterias oxidadoras de azufre, 448-451, 776
características, 448
cultivo, 449
fuentes hidrotermales, 793, 795
Bacterias oxidadoras de manganeso, 475
fuentes hidrotermales, 793, 796
Bacterias oxidadoras de metano, 447
Bacterias oxidadoras de nitrito, 447, 667
Bacterias oxidadoras de sulfhídrico, 760
Bacterias oxidadoras del hidrógeno, 451-453, 659-660
características, 452
ecología, 452
fisiología, 452
fuentes hidrotermales, 793, 795
metabolismo energético, 452
Bacterias oxidadoras del hierro, 448-451, 663-665, 777-779
a pH neutro, 664
acidofílicas, 663-666
energía a partir del hierro ferroso, 664-665
fototrofos anoxigénicos, 665
fuentes hidrotermales, 793, 795
Bacterias pedunculadas, 477, 479-480
Planctomyces, 519-520
Bacterias reductoras de clorato, 704
Bacterias reductoras de nitrato, 708
Bacterias reductoras del azufre, 485-488, 490
características, 486
Bacterias rojas del azufre, 97, 444-445, 446, 490
composición isotópica del carbono, 739
cultivo de enriquecimiento, 721
Bacterias rojas, 2, 643, 648-649, 652. *Véase también Proteobacterias*
aceptor de electrones TMAO, 705
aparato fotosintético, 647, 650
azufre. *Véase* Bacterias rojas del azufre
centro de reacción, 649
no del azufre, 445-446, 490, 722
Bacterias sulfato reductoras, 485-488, 490, 693-695, 706, 708, 723-725, 747, 760, 771
acetato oxidadoras, 486, 695
aislamiento, 487
análisis filochips, 734-735
autotrófico, 698
bioquímica, 694-695
características, 486
ciclo del azufre, 776
desproporcionadas, 696
energética, 694-695
fisiología, 485-487
fraccionamiento isotópico del azufre, estudios, 739-740
fuentes hidrotermales, 795
lactato oxidación, 736, 737
metabolismo del metano, 773
no oxidadores de acetato, 486
oxidación de fosfito, 696
subsuperficie profunda, 758
transformación del mercurio, 783
Bacterias verdes del azufre, 47, 441, 523-526, 536, 643, 644, 645, 648
características, 524
composición isotópica del carbono, 739
consorcio, 525
cultivo de enriquecimiento, 721
ecología, 524-525
flujo de electrones, 654
pigmentos, 524-525
Bacterias verdes no del azufre, 47, 427, 441, 531-532, 643, 645, 648

www.libreriauniversitaria

Bacteriocina, 311
Bacterioclorofila, 443, 524, 641-645, 675
  estructura, 643
Bacterioclorofila *c*, 524, 532, 643, 644
Bacterioclorofila c_s, 643
Bacterioclorofila *d*, 524, 643, 644
Bacterioclorofila *e*, 524, 644
Bacterioclorofila *g*, 500, 643
Bacteriocloropfila *a*, 114, 524, 531, 642, 644, 648, 807
Bacteriófago, 24, 302, 402, 608, 638
  atemperado, 292-295
  cadena sencilla de DNA, 610-613
    DNA filamentoso, 612-613
  como modelo, 287
  controles de transcripción, 370
  conversión fágica, 330
  doble cadena de DNA, 613-617
  ensayo en placa, 280
  Escherichia coli, 608
  factores de virulencia, 1066
  fago β, 330, 924, 1081
  generalidades, 287
  ingeniería genética, 287
  marino, 763
  MS2, 608-609
  RNA, 608-610
  T7, 373
  transponible, 615-617
  virulento, 290-292
Bacteriófago e^{15}, 330
Bacteriófago φX174, 277, 290
  ciclo de replicación, 293
  genoma, 379, 620
  mapa genético, 610
  transcripción y traducción, 612
Bacteriófago f1, 612
Bacteriófago fd, 612
Bacteriofago filamentoso, 612
Bacteriófago Lambda, 277, 287, 292-295
  fagos modificados, 371
  genoma, 292-293
  integración, 293, 294
  interruptor genético, 294
  lambda dgal, 329
  lisis vs. lisogenización, 294, 329-330
  replicación, 293
  transducción, 329-330
  vector de clonación, 371-373, 374
  vía lítica, 293
Bacteriófago M13, 290, 612
  mutagénesis dirigida, 360
  vector de clonación, 364, 373-375
Bacteriófago MS2, 290, 608-609
Bacteriófago Mu, 287, 340, 615-617
  crecimiento lítico, 617
  integración, 617
  mapa genético, 616
  rango de hospedadores, 616
  región G invertible, 616
  replicación, 616-617
  represor, 617
Bacteriófago P1, 293, 305, 329
Bacteriófago P22, 329
Bacteriófago T2, 284, 287
Bacteriófago T3, 284, 290
Bacteriófago T4, 277, 279, 284, 287, 290-292, 613
  proteínas medias, 291
  proteínas tardías, 291
  proteínas tempranas, 291
  replicación, 290-292
  transcripción, traducción, y regulación, 290-292
Bacteriófago T4, 290
  virus, 287
Bacteriófago T6, 284
Bacteriófago T7, 284, 290
  mapa genético, 614
  replicación, 613-615
Bacteriófago transponible, 615-617
Bacteriófago-β, 330, 924, 1081
Bacteriofeofitina, 648, 649
Bacteriología, Cohn y, 13
Bacterionema, 508
Bacteriorrodopsina, 545, 569, 762
Bacteriorubertina, 545
Bacteriovorax, 475
Bacteriuria, 1006
Bacteroide, 805, 807
Bacteroides, 521, 681, 904, 909, 1008
Bacteroidetes, 909, 910
Bactoprenol, 160
Baculovirus, 371
Balanceo (codón-anticodón), 213, 223
Balantidium coli, 585
Balas mágicas, 880
BalI, 346
Baltimore, David, 25, 285
*BamH*1, 350
Banda de precipitado, 1023
Barófilo, 44, 764-766
  extremo, 764
Barófilos extremos, 764, 766
Barotolerante, 764, 766
Barro amarillo, 664
Basal, 581, 605
Basalto, 758
Base nitrogenada, 63
Basidio, 594, 596, 601
Basidiocarpo, 601
Basidiomicetes, 593, 596, 601
Basidiospora, 595, 596, 601
Basófilos, 939
Baterias rojas halofílicas, 523
Batrachochytrium dendrobatidis, 597
Bazo, 938, 957, 967, 997
bch genes, 650
Bdelloplasto, 474
Bdellovibrio, 442, 474-475
Bdellovibrio bacteriovorus, 380, 474
Beadle, George, 24
Bebida alcohólica, 10, 459, 829-836, 1162
Bebida destilada, 136, 833
Beggiatoa, 75, 448, 449-450, 451, 660, 662, 776, 794
Beggiatoa mirabilis, 13
Behring, Emil von, 24
Beijerinck, Martinus, 21-22, 24, 460, 472, 619, 721
Beijerinckia, 442, 460, 461, 670
Beijerinckia indica, 461
Benceno, 707, 710
  epóxido, 710
  monooxigenasa, 710
Bencenodiol, 710
Benzilpenicilina. *Véase* Penicilina G
Benzoato, 681, 706, 707, 741
  donador de electrones, 706
  fermentación, 772
  sódico, 1165
Benzoil-CoA, 707
Berg, Paul, 25
Bermson, Solomon, 25
Beta oxidación, 717
Beta-2 microglobulina (β2*m*), 948
BglII, 346
Biblioteca de DNA o genoteca, 349, 365, 376
Biblioteca metagenómica (genoteca), 853
Bicapa fosfolipídica, 78
Bicapa lipídica, 567
Bicapa lipídica. *Véase* Bicapa de fosfolípidos, membrana lipídica, vida celular y, 410
Bifenil clorado (PCB), 786
Bifenilos policlorados (PCBs), 786, 787
Bifidobacterium, 508, 905, 910
Bifitanil, 80
Biodegradación
  de herbicida, 786
    resistencia, 861
  polímeros sintéticos, 788-789
  xenobióticos, 786-789
Biodisponibilidad, 787
Biodiversidad, 721, 747
  en hábitats microbianos, 745-746
  genómica ambiental, 735
  mediante enriquecimiento y aislamiento, 721-725
Bioenergética, 125-126
Biofuel, 8, 9
Biogeoquímica, 746, 766
Bioinformática, 305, 382, 397, 403
Biología
  molecular, 24
  sintética, 856
Bioluminiscencia, 468-469, 490
  regulación, 256
Biomarcadores, 7
Biomasa, 8
Biomineralización, 705
Biopelícula (*biofilms*), 95, 173, 189, 749-752, 766, 877
  control, 752
  en las tuberías, 752
  estructura, 749
  etapas de la formación, 750-751
Biopolímeros, 789
Bioquímica microbiana, 23
Bioreactor, 1147
Biorremediación, 8, 10, 704, 757, 780-789
Biosfera, microbiana
  diversificación y, 412-413
Biosíntesis, 146-149
  ácidos grasos y lípidos, 148-149
  aminoácidos, 147-148
  azúcares y polisacáridos, 146-147
  ciclo del ácido cítrico, 143
  nucleótidos, 148
Biotecnología, 8, 11, 24, 812, 844, 864. *Véase también* Ingeniería genética
  microbiana, 812
  de plantas, 802, 862-863
    producción de vacunas, 863
  generalidades, 844
  microbiana. *Véase* Biotecnología
  utilización de termófilos, 179-180
Bioterrorismo, 1067, 1070
Biotina, 121
Biotransformación, 460, 812, 825-826, 841. *Véase* Bioconversión
1,3-Bisfosfoglicerato, 137, 680, 681
Bisulfito, 1165
BLAST (Basic local alignment search tool), 355, 419
Blastobacter, 477
Blastocladiella emersonii, 579
Blastomicosis, 978, 1038, 1138
Blastomyces dermatitidis, 1038, 1138
Bloom
  bacterias rojas del azufre, 444, 445
  cianobacterias, 514
    vesículas de gas, 98, 99
  halófilos extremos, 541, 543
Boca, *Paramecium*, 585. *Véase también* Cavidad oral
BOD. *Véase* Demanda bioquímica de oxigeno
Bolsas periodontales, 909
Bomba de protones, 703
Bomba de sodio, 700
Bordetella, 399, 442
Bordetella bronchiseptica, 399
Bordetella pertussis, 95, 399, 921, 971, 1046, 1077, 1082-1083
Borrelia, 527, 528, 907
Borrelia burgdorferi, 119, 529, 1019, 1032, 1046, 1062, 1065, 1127-1128
  genoma, 379, 380
  plásmidos, 308
Borrelia recurrentis, 528
Borreliosis, 527
Borrellea hafzelii, 1127
Borrellia garinii, 1127
Botryococcus braunii, 786
Botrytis, 1163
Botulismo, 499, 921, 924, 932, 1042, 1045, 1057, 1067, 1172-1173, 1181
  incidencia en Estados Unidos, 1172
  infantil, 930, 1172, 1173
Boyer, Herbert, 25
Brachyspira, 527
Bradyrhizobium, 442, 670, 774, 803
Bradyrhizobium elkanii, 804
Bradyrhizobium japonicum, 380, 382, 803, 804
Brandy, 830, 833, 839
Branhamella, 462, 1007
BRE (Elemento de reconocimiento B), 229
Brenner, Sydney, 25
Brevibacterium, 508

www.pdfdigest.com

Brevibacterium albidum, 346
Brevibacterium flavum, 825
Brevinema, 527
Brevundimonas diminuta, 457
Brevundimonas vesicularis, 457
Brocadia, 774, 775
Brocadia anammoxidans, 520, 668, 669
Brock, Thomas, 25, 535
Bromometano, 453
Bromoperoxidasa, 120
5-Bromouracilo, 319, 882
Bromuro de etidio, 319, 346
Brote, 1043, 1061, 1073
  setas, 840, 841
Brucella, 442, 1019, 1032
Brucella abortus, 918, 932, 1067
Brucella melitensis, 1045
Brucelosis, 978, 1019, 1045, 1055, 1057, 1067
*Bsu*RI, 346
Bubón, 1134, 1135
Buchnera aphidicola, 380, 382
Bunyaviridae, 1120
Bunyavirus, 296, 1032, 1048
Burkholderia, 442, 456
Burkholderia cepacia, 456, 457, 458, 788
Burkholderia mallei, 457, 1067
Burkholderia pseudomallei, 457, 1067
Burnet, F. Macfarlane, 25
Butanol, 498, 680, 684
Butirato, 499, 680, 684, 697, 911
  fermentación, 772
  producción en el rumen, 790, 791
  producto de la fermentación, 498, 679, 680, 684, 688-689, 771
Butiril-CoA, 680, 684
Butirilfosfato, 680
Butyrivibrio, 508
Butyrivibrio fibrisolvens, 792

C gen, 991
Caballo, digestión, 797-793
Cabeza, virión, 284
Cabina de seguridad biológica, 870
Cadaverina, 499, 685
Cadena avanzada, 201-202, 223
Cadena J, 955, 956
Cadena ligera, inmunoglobulina, 990
  dominio variable, 954, 957
  unión al antígeno, 990
Cadena negativa, 638
Cadena pesada, inmunoglobulina, 954, 990-991
  dominio constante, 954, 955
  dominio variable, 954, 956
  unión antígeno, 991
Cadena positiva, 638
  en virus RNA, 285-286, 302, 608, 620-622
Cadena retrasada, 201-203, 223, 611
Cadenas antiparalelas de DNA, 223
Cadmio, 783
Caenorhabditis elegans, 243, 390, 858
Caída de dientes. *Véase* Caries dental
Caja *Pribnow*, 209, 241
Calamar-*Aliivibrio* simbiosis, 796-798
Calcio, 119
Calciviridae, 108
Caldivirga, 559
Caldo de tioglicolato, 185
Calentamiento global, 769
Calidad del agua, 1143-1145
California, 1048
Calor específico, alto, 60
Calothrix, 512
Calvin, Melvin, 654
Cámara de contaje de Petroff-Hausser, 167
Cámara de recuento, 167
Cambio antigénico, 625, 638, 1092, 1093, 1115
Cambio de clase, 958, 993
Cambio genético, lambda, 293-294
cAMP. *Véase*AMP cíclico
Campylobacter, 442, 472, 475, 486, 489, 696, 705, 869, 1007, 1038, 1096, 1163, 1177-1178
Campylobacter coli, 1177
Campylobacter enteritis, 1062
Campylobacter fetus, 1177
Campylobacter jejuni, 895, 1062, 1152, 1166, 1169, 1177
Canal torácico, 939
Cáncer
  cervical, 974, 1038, 1046, 1105, 1106
  de pecho, 859
  de vulva, 974
  HPV y, 974
  tratamiento con anticuerpos monoclonales, 1021
  vaginal, 974
  virus y, 297
Candicidina, 814
Candida, 834, 891, 905, 906, 915, 1032, 1038, 1055, 1063, 1163
Candida albicans, 580, 599, 895, 911, 1013, 1019, 1025, 1055, 1100, 1107, 1138
Candidiasis, 1038, 1063, 1138
  vulvovaginal, 1100
CAP. *Véase* Proteína activadora de catabolito
CAP sitio de unión, 260
Capa, 132, 562
  abundante, 807
  de ozono, 413, 423
  S, 94
  superficial paracristalina. *Véase* Capa-S
  tipo, 436
  viscosa, 95, 916, 917, 933
Capacidad biosintética, requerimientos nutritionales, 121-122
Capacidades autocrinas, 999
Capnocytophaga, 905, 909
Caproato, 91, 499
  producción en el rumen, 792
  producto de la fermentación, 680
Caproil-CoA, 680
Cápsida, virus, 276-277, 302, 628, 635
Capsómeros, 277, 302
Cápsula, 95, 916, 917, 933, 942, 1078, 1080
  de ácido poli-D-glutámico, 1066
Captadoras de luz (antena) clorofilas, 644, 645
Carbamil fosfato, 513, 680
Carbapénem, 880
Carbenicilina, 884
Carbohidrato. *Véase también* Polisacárido
  estructura, 60
  fermentación por clostridios, 498
  tipos de fermentación, 1013
Carbonato, 144
  minerales, 542
  respiración, 691
Carbono
  disulfuro, 777
  en la naturaleza, 119
  en las células, 57, 118
  estudios de fraccionamiento de isótopos estables, 739
  nutriente, 43-44
  para el ciclo redox, 769
  polímeros de reserva, 96
  reservorio, 769-770
Carboxisoma, 449, 490, 656, 675
Carbunco, 16, 18, 359, 882, 921, 931, 1045, 1057, 1062, 1067, 1070-1072
  armamentístico, 1072
  armas, 1070-1072
  biología y crecimiento, 1070
  cutáneo, 1071
  gastrointestinal, 1071
  infección y patogénesis, 1070
  pulmonar, 1071
  vacunación, 971, 1072
Carcinogénesis, mutagénesis y, 322-323
Carcinógeno, 297
  test de Ames, 322
CARD-FISH, 731-732
Carditis, 1095
Carga microbiana, 866, 867
Carga vírica, 1114
  sida, 1111, 1112
Caries dental, 752, 907-908, 930, 932, 933
α-Caroteno, 515
β-Caroteno, 515, 646
γ-Caroteno, 646
Carotenoide, 187, 443, 482, 484, 506, 523, 524, 545, 588, 642, 645-647, 650, 675, 941
  estructura, 646
  glicosido, 484
Carreras, movilidad, 111, 112, 257, 258
Carsonella ruddii, 380, 382
Casette, 376, 399
  de mutagénesis, 361-362, 376
  mecanismo de conjugación en levaduras, 600
Casos esporádicos, 1043
Caspofungina, 890
Casuarina, 670
cat gen, 374
Catalasa, 120, 187-188, 497, 578
Catálisis, 127-128
  arcillas como superficie catalítica, 408
Catecol, 710
Catecol 1,2-dioxigenasa, 710
Catecol dioxetano, 710
Catecol dioxigenasa, 710
Caulobacter, 182, 397, 442, 477, 480-481
  ciclo de vida, 266-267
  diferenciación, 266-267
Caulobacter crescentus, 158, 380
Cavidad oral, 1077, 710
  microbiota normal, 905-909
cDNA. *Véase* DNA Complementario
Ceanothus, 670
Cebador, 223, 235, 352, 376, 732, 733
Cebador de oligonucleotido mutagénesis dirigida, 361
  técnica de la PCR, 355, 429
Cebador de RNA, 611
  replicación, 201-206
  transcripción inversa, 298
Cefalosporina, 822, 880, 883
  estructura, 884
  modo de acción, 883
  producción comercial, 818
Cefamicina, 883
Cefixima, 1104
Ceftriaxona, 885, 894, 1015, 1104, 1129
Cegueri fluvial, 471
Cellulomonas, 508
Celobiosa, 714, 771
Célula, 3-5
  ancestro universal, 7
  características, 4
  como maquinaria codificadora, 5
  como maquinaria química, 5
  compartimentalización, 520
  composición química, 4
  estructura, 35-37
  estructuras principales, 3
  origen, 567, 568
    codificación molecular, 409
    el mundo del RNA, 408-410
    energía, 411
    fuente de carbono, 410
    metabolismo, 410-412
    origen del DNA como material, 409
    primer eucariota, 410
    síntesis de proteínas, 408
  sistema abierto, 4
  tasas de crecimiento, relación superficie-volumen, 76-77
Célula asesina natural, 951-952, 961
Célula diana, 950
Célula donadora, conjugación, 331
Célula falciforme (con forma de hoz), 1131
Célula Hfr, 342
Célula hospedadora, 276, 302
Célula madre, 936, 938, 980
Célula permisiva, 283
Célula plasmática, 937, 939, 976
Célula receptora, conjugación, 331
Célula viable, 164, 168, 189
Células B, 937, 939, 942, 945, 961, 966, 967, 980
  activación, 952, 997

www.medilibros.com

anticuerpos monoclonales, 1020-1021
auto-reactivos, 997
interacciones entre las células B-T, 957
producción de anticuerpos, 957-959
tolerancia inmunitaria, 997
Células blancas de la sangre. *Véase* Leucocitos
Células con pedúnculo, 591
Células de la sangre rojas. *Véase* Eritrocitos
Células de mamíferos, hospedador de clonaje, 364, 371
Células de memoria, 958
células B de memoria, 961, 998
Células dendríticas, 932, 935, 966
Células en masa, hongos mucosos, 590
Células epiteliales ciliadas, 932
Células epiteliales, 904
Células hija, 155
Células hospedadoras no permisivas, SV40, 630
Células inflamatorias, 943
Células nadadoras, 158, 266, 475, 480, 519, 521
Células NK. *Véase* Células naturalmente asesinas
Células permisivas del hospedador, SV40, 630
Células plamáticas, 937, 939, 958, 968
Células precursoras de mieloides, 937, 938, 939
Células precursoras linfoides, 937
Células presentadoras de antígeno (APC), 939, 948-950, 953, 961, 966, 997, 998
producción de anticuerpos, 957
Células T, 937, 938, 945, 961, 966, 980
activación, 979, 997-999
anergia, 997
autorreactivas, 995, 997
CD4, 950, 951, 1026, 1027, 1108
CD8, 950, 951, 1026, 1027
citotóxica. *Véase* Células T citotóxicas
desarrollo
selección negativa, 996, 997
selección positiva, 996-997
hipersensibilidad retardada, 977
identificación de antígenos foráneos, 949
infección por HIV, 1108
presentación del antígeno, 948-951, 966
tolerancia, 995-996, 1001
vírgenes o no comprometidas, 997, 998
Células T citotóxicas, 951, 967, 987
Células T cooperadoras, 951, 952-953, 961, 968, 988, 997, 1108, 1109
Células T efectoras, 951
Células tumorales, activación de macrófagos, 952
Celulasa, 713, 790, 827
Celulosa, 61, 773
degradación, 522-523, 593, 713-714, 771, 792
producción bacteriana, 459
Centro de pausa de la transcripción, 270
Centro de reacción, 644, 645, 649, 652, 653, 675
bacterias púrpuras, 648-649, 650
Centro Nacional para las Enfermedades Infecciosas (NCID), Sistema de vigilancia de las enfermedades infecciosas, notificación y seguimiento, 1058
Centrómero, 235-237, 375
Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC), 1058-1059, 1070, 1073
Cepa atenuada, 919, 971
Cepa F′, 329
Cepa F⁺, 332
Cepa Hfr, 333
cruzamientos genéticos, 335
formación y comportamiento, 333-336
Cepa mutadora, 321, 342
Cepa sobreproductora, 824
Cepa tipo salvaje, 312, 321, 342
Cepas de tuberculosis multirresistentes, 1085
Cepas nefritogénicas, 1079
Cepas R, 326
Cepas S, 326
Cephalosporium, 818, 885
Cephalosporium acremonium, 822
Cercozoanos, 581, 582, 589
Cerdos, geneticamente modificados, 857
Cerebrosidos, 521
Cervecero, 832-836, 841
cerveza casera, 834-835
Cerveza, 136, 459, 812, 832, 833, 839
casera, 34-35
preparación de cerveza casera, 833-834
rubia (tipo *lager*), 832
Cervicitis, 517
2-Ceto-3-deoxiglucónico ácido-6-fosfato. *Véase* KDGP
2-Ceto-butirato, 679
3-Ceto-acil-CoA, 679
Cetodeoxioctonato (KDO), 90
α-Cetoglutarato, 148, 259, 656, 674
α-Cetoglutarato deshidrogenasa, 455
CFA. *Véase* Factor antigénico de la colonización
Chamaesiphon, 512
Chancro, 1103
Chancroide, 921, 1057, 1100
Chang, Annie, 25
Chaperona. *Véase* Chaperona molecular
Chaperona molecular, 221-222, 264, 847
Chaperonina, 221-222, 223, 566, 581
che genes, 383
Chico amarillo, 778
Chimenea
de las fuentes hidrotermales, 564, 795-796
fuentes termales submarinas, 564, 795, 796
Chips de sílice, 391-393
Chlamydia, 48, 441, 516-519, 1044, 1046
características, 517
ciclo de vida, 517
ciclo infectivo, 518
propiedades moleculares y metabólicas, 517
transferencia horizontal de genes, 397
Chlamydia pneumoniae, 516
Chlamydia psittaci, 516, 517, 1046, 1067, 1077
Chlamydia trachomatis, 516-517, 1007, 1008, 1036, 1038, 1046, 1057, 1062, 1100, 1102, 1104
genoma, 380, 397
Chlamydomonas, 603, 642
Chlamydomonas nivalis, 176
Chlorella vulgaris, 386
Chlorobaculum, 524, 670
Chlorobaculum tepidum, 380
Chlorobium, 47, 523-526, 644, 656, 665, 670
Chlorobium clathratiforme, 524
Chlorobium limicola, 524, 651, 724
Chlorobium phaeobacteroides, 525
Chlorochromatium aggregatum, 525
Chloroflexus, 47, 407, 412, 442, 531-532, 644, 652, 657, 706, 738
Chloroflexus aurantiacus, 74, 532
Chlorogloeopsis, 512
Chloroherpeton, 524
Chloronema, 532
Chondromyces, 482
Chondromyces crocatus, 483, 484
Choque anafiláctico, 977
Choque séptico, 944, 1005
Chromatium, 22, 46, 442, 444, 449, 665, 670
Chromatium okenii, 444, 651, 724
Chromobacterium, 442, 462
Chromobacterium violaceum, 462
Chroococcidiopsis, 512, 604
Cianobacterias, 2, 7, 33, 46, 422, 511, 536, 599, 670
cianoficina, 513-514
clasificación, 511-512
composición isotópica del carbono, 739
cultivo de enriquecimiemto, 721
ecología, 514-515
endofita, 515
endolítica, 604
estructura, 511-512
evolución de la fotosíntesis oxigénica, 410, 412, 654
fijación de nitrógeno, 513, 807
filamentos sin heterocistes, 511, 513, 514
filamentosa, 47, 511, 512, 513
movimiento deslizante, 110-111
filogenia, 514
fisiología, 514
géneros y agrupación, 512
heterocisto, 513
liquen. *Véase* Neurotoxina de liquen, 515
movilidad por deslizamiento, 110
oxígeno en la atmósfera, 6, 7
solutos compatibles, 183
unicelular, 511
vesículas de gas, 98, 99, 513
Cianoficina, 513-514
Cianuro, 142, 672
Ciclo de Calvin, 449, 541, 575, 605, 654-655, 659, 675
bacterias del azufre, 662, 663
bacterias nitrificantes, 667
enzimas, 654-655
estoiquiometría, 655-656
Ciclo de crecimiento, población, 163-166
Ciclo de las pentosas reductivo. *Véase* Ciclo de Calvin
Ciclo de vida
Caulobacter, 480, 481
celular, 5
Chlamydia, 518
fago atemperado, 292
Hyphomicrobium, 479
mixobacterias que forman cuerpos fructíferos, 481-485
moho, 593
Plasmodium vivax, 1129
Saccharomyces cerevisiae, 599
Ciclo del ácido cíclico inverso, 523, 534, 540, 656-658, 675
Ciclo del ácido cítrico, 142-144, 152, 574, 705, 707
metabolismo de los ácidos orgánicos, 716-717
modificado por la oxidación del acetato, 695
Ciclo del azufre, 776-777
Ciclo del carbono, 769-770
Ciclo del Glioxilato, 716, 718, 719
Ciclo del hierro, 777-780
Ciclo del mercurio, 783-784
Ciclo del nitrógeno, 774-775
Ciclo NAD/NADH, 132
Ciclo progagación, 779
Ciclo Q, 141
Ciclo redo
azufre, 775
carbono, 770
hierro, 777
mercurio, 783
Ciclo ribulosa monofosfato, 453
Cicloheximida, 880, 883
modo de acción, 220
producción comercial, 818
Ciclos biogeoquímicos, 746-747
Cicloserina, 818, 880
Cidofovir, 888, 889
Ciego (intestino), 793, 910
Ciénagas, 755
Ciencia biológica básica, microbiología como, 2-3
Ciliados, 422, 576, 585-586, 605
endosimbiontes de, 585
rumen, 585, 792
Cilindro protoplasmático, espiroquetas, 526-529

www.medilibros.com

Cilios, 585, 931
  eucariota, 579
Cinasa sensora, 253, 257
Cinetocoro, 235
Cinetoplástidos, 584
Cinetoplasto, 584
Ciprofloxacina, 197, 880, 882, 1072
Circulina, 496
Circulo de dos micras, 370
Cirrosis, 1097, 1098, 1099, 1114
cis,cis-Muconato, 710
Cisteína, 69
  código genético, 212
  estructura, 66
  fermentación, 679
  industria aliemntaria, 824
  síntesis, 149
Cisto, 1159
  Azotobacter, 461
  Cryptosporidium, 1155, 1156
  Entamoeba, 1158
  Giardia, 1154
  mixobacteria, 484
Cistrón, 337-338, 342
Citocina, 889, 937, 942, 943
Citocromo, 138, 139, 141, 648, 649, 651, 652, 711
Citocromo *a*, 544, 664, 667
Citocromo *aa*3, 667
Citocromo *b*, 544, 702, 705
Citocromo *c*, 138, 140, 544, 651, 661, 664, 665, 660, 709
Citocromo *c*2, 649, 650
Citocromo *c*3, 695, 703
Citocromo *c* oxidasa, 120
Citocromo oxidasa, 388
Citoesqueleto, 37, 578, 605
Citoesqueleto celular, 578
Citología bacteriana, 23
Citomegalovirus, 632, 1038, 1107
  humana, 277
Citómetro de fluorescencia, 1027
Citoplasma, 4, 5, 37
  halófilo, 544
Citosina, 56, 63, 64, 193, 194
Citotoxina, 919, 921
Citrato, 143
  fermentación, 679, 681
  liasa, 656, 657
  metabolismo, 716
  sintasa, 656
Citrobacter, 464, 465, 1010
Citrobacter freundii, 670
Citromicrobium, 762
Cladística, 421, 437
Cladograma, 421
Cladosporium, 1163
Clamidiosis aviaria, 517
Clarificantes, 831
Claritromicina, 886
Clasificación, 435
  cianobacterias, 511
  de Baltimore, 285, 297
  espiroquetas, 526
  metanotrofos, 453-456
  virus animal, 295
Clindamicina, 511, 880, 1015
Clofazimina, 1086
Clonaje, 348-349, 634
  aislamiento y fragmentación del DNA, 349
  en plantas, 860-861
  encontrar el clon deseado, 365-368
  detección de proteínas por anticuerpos, 366-367
  expresión de genes foráneos en el hospedador, 366
  sondas de ácidos nucleicos para un gen, 367
gen humano de la insulina, 848
genes de mamíferos en bacterias, 371, 844-848
inserción de un fragmento de DNA en un vector de clonaje, 349
molecular, 305, 375, 732
pasos, 349
secuenciación de genomas, 354-356
shotgun, 305, 349, 354, 376
técnicas avanzadas, 364-375
termofílico, 854
transferencia de DNA a un, 349, 364
Clonaje al azar, 305, 349, 354, 376
Clonaje de un gen. *Véase* Clonaje de un grupo de genes, 305
Clonaje molecular. *Véase* Complejidad molecular en la clonación inmunogenicidad, 946
Clones (linfocitos), 966, 980, 995
Cloración, 1145, 1149, 1150, 1154
Cloramina, 1150, 1159
Cloranfenicol, 880, 883, 1015, 1087, 1124
  modo de acción, 220
  producción, 511
  producción comercial, 818
  resistencia, 892
  síntesis, 814
Cloraracniofitos, 589
Clorato, 703, 704
Clordane, 788
Cloro, 875, 1145, 1159
  potabilización del agua, 1149, 1150
  residual, 1150
Clorobacteno, 646
3-Clorobenzoato, 705
Clorofenoles, 706
Clorofila, 575, 602, 642-645, 675
  antena, 644
  centro de reacción, 644
  distribucion en el noroeste océano Atlántico, 760
  espectro de absorción, 642, 643
  estructura, 642
  fotosistema I y fotosistema II, 652
Clorofila *a*, 513, 515, 516, 588, 602, 603, 642, 647, 651, 652, 760, 761, 762
Clorofila *b*, 515, 516, 603, 642, 760, 761
Clorofila *c*, 588
Clorofila *d*, 515, 516, 760
Clorofila P680, 652
Clorofila P700, 652
Clorofitos. *Véase* Algas verdes
Cloroformo, 788
Clorometano, 453
Cloroplastos, 37, 51, 575-577, 602, 603, 605, 643-644, 652
  DNA, 199, 576
  efectos da los antibióticos, 576
  endosimbiosis secundaria, 577, 582
  endosimbiosis tertiaria, 577
  estructura, 575
  evolución, 413-414, 422
  filogenia, 576
  genoma, 385-386
  ribosoma, 576
Cloroquina, 1130
Clorosoma, 524, 536, 644, 645, 675
Clortetraciclina, 511, 822, 886
Clortrimazol, 890
Cloruro, 82
  de polivinilo, 789
Clostridios, 713
Clostridium, 46, 185, 310, 429, 496, 498-500, 670, 680, 683, 684, 697, 713, 723-733, 774, 904, 910, 911, 1008, 1010, 1042, 1051, 1118, 1140, 1163, 1165
Clostridium aceticum, 102, 499, 680, 697
Clostridium acetobutylicum, 499, 680, 684
*Clostridium aciduric*i, 499
Clostridium bifermentans, 497, 499
Clostridium botulinum, 499, 870, 921, 924, 925, 930, 932, 1045, 1066, 1067, 1068, 1140, 1171, 1172
Clostridium butyricum, 499, 680
Clostridium cadaveris, 497
Clostridium cellobioparum, 499
Clostridium difficile, 911, 913, 1140
Clostridium formicaceticum, 499, 697
Clostridium histolyticum, 499, 733
Clostridium kluyveri, 499, 680, 685
Clostridium lochheadii, 792
Clostridium methylpentosum, 499
Clostridium pascui, 100
Clostridium pasteurianum, 22, 498, 499, 671, 723
Clostridium perfringens, 499, 717, 921, 923, 926, 927, 1009, 1067, 1140, 1169, 1171
Clostridium propionicum, 499, 680
Clostridium putrefaciens, 499
Clostridium septicum, 1025
Clostridium sporogenes, 497, 498-499, 684
Clostridium tetani, 499, 870, 919, 921, 924, 926, 932, 971, 1009, 1045, 1139, 1140
Clostridium tetanomorphum, 499, 723
Clostridium thermocellum, 499
Coagulación, 1150, 1159
  de la fibrina, 922, 940, 1095
Coagulasa, 310, 921, 922, 1066, 1095
Cobalamina. *Véase* Vitamina B_{12}
Cobalto, 120, 700, 783
Cobre, 120, 782, 783
  recuperación por lixiviado, 781, 782
Coccidioides immitis, 1038, 1077, 1138
Coccidioidomicosis, 178, 1038
Coccidiomicosis, 1057, 1107
Coccidios, 587
Coccidiosis, 587
Coccobacilos, 462
Coco, 74
Cocos formadores de endósporas, 496, 499
Cocos gramnegativos, 469
Cocos grampositivos, características, 492-493
Código genético, 213-214, 224
  balanceo, 213
  degenerativo, 213, 315, 316
  Mycoplasma, 214
  universal, 214
Código universal, 214
Codón, 192, 213-214, 215, 218, 219, 223
  de inicio, 213-214, 217, 355
  de parada, 213-214, 221, 223, 315, 355
  de uso, 370, 846
Coenzima, 120, 128, 131, 132, 152, 553
Coenzima A, 132-133
Coenzima B (CoB), 699, 700
Coenzima F420, 699, 700
Coenzima F430, 699, 700, 708
Coenzima M, 698, 700
Coenzima Q, 132, 141
Coevolución, hospedador y parásito, 1051
Cohen, Stanley, 25
Cohn, Ferdinand, 13, 24, 46
Col ácida o chucrut, 10, 1162, 1167, 1168
Cola poli-A, mRNA, 238-239, 424
Cola, virus, 284
Colagenasa, 921, 922
Colección de cultivos, 436, 437
Cólera, 20, 467, 752, 921, 930, 932, 1019, 1045, 1049, 1057, 1062, 1065, 1152-1154
  aves de corral, 15
  aviar, 15
  biología, 1152
  diagnóstico, 1153
  epidemiología, 1152
  patogénesis, 1153
  tratamiento, 1154
Colesterol, 79
Colicina, 311
Colifonte, 1143-1144, 1159
Colina, 694
Colitis, 911, 1062
Colitosa, 90
Colon, 910
Colonia, 123, 124
  aislamiento de una colonia, 16, 17
  rugosa, 314
Colonización, 903, 915, 918, 933
Colorante, tinciones 727-730. *Véase también* Tinciones específicas
  anticuerpos fluorescentes, 756
  cápsula, 95
  colorantes genéticos, 730-731

www.elibros.com

endospora, 105
filogenético, 730, 756
muestras naturales, 728-730
negativo, 35
para el microscopio, 30-31
microscopio electrónico, 35
microscopio láser confocal, 35
procedimientos, 30, 31
proteína de fluorescencia verde, 729
tinción de viabilidad, 728-729
tinción de células, 30
tinción fluorescente, 728
utilización de anticuerpos, 729
utilización de DAPI, 728
Columna de Winogradsky, 723-725, 742
Combustible fósil, 783
Combustión espontánea, 550
Comensalismo, 745, 766
Cometabolismo, 788
Comité Internacional de Sistemática de Procariotas (ICSP), 437
International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology (IJSEM), 437
Commamonas, 456
Commamonas acidovorans, 457
Commamonas testosteroni, 457
Comparación de genomas, 355
Compartimentalización, 4
Competencia, 326-327
Competencia entre los microorganismos, 729, 749
Competencia-proteína específica, 326-327
Complejo C3B, 961
Complejo C3BP, 961
Complejo calcio-ácido dipicolínico, 101
Complejo citocromo (Hmc), 705
Complejo citocromo *bc*1, 139, 141, 649, 650
Complejo citocromo *bf*, 653
Complejo citocromo oxidasa, 387
Complejo de ataque de membrana (MAC), 959
Complejo de Golgi, 577
Complejo de iniciación, 217
Complejo enterotoxina, 921
Complejo enzima-sustrato, 127
Complejo enzimático metil reductasa, 700
Complejo HLA, 987
Complejo *Hmc*, 695
Complejo lipoproteína, 91
Complejo Mycobacterium avium (MAC), 1086
Complejo NADH deshidrogenasa, 387
Complejo origen de reconocimiento (ORC), 228
Complejo P870, 652
Complejo proteico principal de histocompatibilidad (MHC), 948-949, 961, 966, 980, 986, 987-989, 1001
clase I, 948-952, 962, 966, 976, 986, 987-988, 1001, 1132
clase II, 948-952, 962, 966, 976, 979, 986, 987, 989, 1001, 1132
correptores CD4 y CD8, 949, 950
estructura, 948
estructura proteica, 988-989
funciones, 948-949
genética, 948, 988, 989
presentación de antígeno, 948-951, 966
TCR-péptido-complejo MHC, 993
variaciones estructurales, 989
Complejo silenciador inducido por RNA (RISC), 243
Complejo succinato deshidrogenasa, 141
Complementación, 336-338
Complemento, 959-961, 968-969
no dependiente de la activación por anticuerpo, 961
Componente de secreción, inmunoglobulina A, 956
Comportamiento humano, contribución a la emergencia de patógenos, 1064
Comptonia, 670
Compuesto, 177
de amonio cuaternario, 876
fenólico, 876, 877
inicial, 896
recalcitrante, 787
Compuestos aromáticos, 710-711, 772
degradación anóxica, 706-709
metabolismo, 681, 710
Compuestos de azufre orgánicos, 777
Compuestos de cloro, 876
Compuestos de metales pesados, 875
Compuestos de metil metanogénesis, 700-701
Compuestos de tres carbonos, utilización, 716
Compuestos inorgánicos, metabolismo, 43
Compuestos orgánicos, 56, 57
metabolismo energético, 43
Tierra primigenia, 409
Compuestos químicos inorgánicos, 144, 446, 658
Compuestos ricos en energía, 134-135, 678, 679
Comunidad, 6, 740
microbiana natural, 425
análisis filogenéticos, 50
Comunidades microbianas, 721, 746
Concatámero, 638
Concentración mínima inhibitoria (MIC), 874-875, 892, 899, 1014-1015
Concepto de especie, 432-435
biológica, 432
geanológico, 432-433
Conceptos ecológicos, 745-746
Condiciones anóxicas, 748, 762, 766
Condiciones isotónicas, 89
Conejo
australiano y el virus de mixoma, 1050
digestión, 792
Congelación, 177
Conidio
hongo, 592-595, 605
streptomicetos, 507
Conidióforos, 599
Conjugación, bacteria, 96, 309, 323, 325, 331-336, 342
detección experimental, 335
mapa genético, 305
mobilización cromosómica, 333-3335
transferencia de DNA, 331-333
Conjugación, in *Archaea*, 338-339
Conjuntivitis, 517, 1062
Conservación de la energía en *Archaea*, 540
fermentación y respiración, 134
membrana citoplasmática, 81
Conservación química de los alimentos, 1165
Conservas en lata, 1172
Consideraciones globales sobre la salud, 1059-1061
Consorcio, 525, 536, 708
Contacto, 5
Contaminación fecal, 1143, 1151
Contaminante, 123
Contención biológica, 1017-1018
Contenido de GC, 195
Control de la traducción, 269
Control de las células muertas, 739
Control de los mosquitos, 1055, 1131
Control del crecimiento. *Véase también* Esterilización química, 873-878
hongos, 890-891
procesos industriales, 876
virus, 887-891
Control global, 260-264
respuesta severa, 261-263
Control negativo, 249-251, 272
Control positivo, 251-253, 272
Control químico del crecimiento, 873-878
Control transcripcional negativo, 249-251
positivo, 251-253
Conversión fágica, 330, 924
Cooperación
entre microorganismos, 749
metabólica, 749
Copias silenciosas de genes, 599
Copolímero, 789
Corineformes, 503-504
Corismato, 147, 814
Coronavirus, 295, 620, 1068, 1090
Corpúsculos de Negri, 1119
Corrección de errores, DNA polimerasa III, 205, 206
Correceptor CCR5, 932, 1108, 1109
Correceptores, 949, 950
Correpresor, 250
Corrinoide, 700
proteína, 700
Corrosión, 752
Corte, 197
Cortes ultrafinos, 35
Córtex, endospora, 101
Corticosteroides, 825, 826
Cortisona, producción comercial, 826
Corynebacterium, 503, 508, 905, 906, 1163
Corynebacterium diphtheriae, 242, 330, 503, 921, 923-924, 932, 1046, 1051, 1066, 1077, 1080-1081
Cósmido, 372
Coulson, Alan, 25
Covelita, 781
Coxiella burnetii, 470, 471, 1077, 1067, 1126
Crecimiento
características celulares, 4
celular. *Véase* Crecimiento colonial, 605
control de, 155
críptico, 164
de la población, 161-167
ciclo de crecimiento, 163-165
definición, 155, 184
diaúxico, 260
disponibilidad de agua, 182-184
efecto de la temperatura, 172-180
efecto de los agentes antimicrobianos, 873-874
efecto del pH, 180-182
en la naturaleza, 747-748
endospora, 100
exponencial, 161-162, 189
influencias ambientales, 172-188
intercalar, pared celular, 477-478
límite superior para, 178-179
medición, 167-172
metabolitos primarios y secundarios, 813
microbiano. *Véase* Crecimiento
nutrientes (alimentos), 1162-1163
oxígeno, 184-186
parámetros, 162, 163
patógeno, 917-918
población, 161-165
polar, pared celular, 477
síntesis de peptidoglicano, 156, 158, 159, 160
temperaturas extremas, 175-180
Cremallera de leucina, 248
Crenarchaeota, 50, 423, 540, 556-564, 570, 794
hábitats, 556-558, 763
metabolismo energético, 556
nitrificación, 563-564
no termófilas, 563-564
virus, 617
Crescentina, 158-159
Crick, Francis, 23, 25, 326
Crioprotector, 177
Criptococcosis, 1107, 1138
Criptosporidiosis, 1057, 1107, 1152, 1155
Crisofitos, 588
Cristispira, 528

www.edicionesdiaz.com

Criterios estándar del agua, bebida, 752
Cromatina, 234
Cromatofore, 648
Cromatografía líquida de elevada presión, 394
Cromatografía líquida, alta presión (HPLC), 394
Cromo, 120
Cromoblastomicosis, 1138
Cromona, 39, 198-199, 223
Archaea, 227-228
artificial, 373-374, 375-376
bacteriano (BAC), 374, 375, 853
de levadura (YAC), 373-375, 376
bacteriano, 39, 40-41, 305-308, 325
dominios superenrollados, 196, 197
duplicación, division celular vs., 204
eucariota, 40, 198, 232-234
humanos artificiales (HACs), 375
procariota, 39-40, 198, 199, 305-306, 326
Cronómero, evolutivo, 419
Crotonato, 679, 689
CRP, 260
crt genes, 650
Cryptococcus, 1063
Cryptococcus neoformans, 1013, 1025, 1107, 1138
Cryptosporidium, 1063, 1065, 1150, 1153
Cryptosporidium parvum, 390, 1067, 1154, 1169, 1179
CtrA, 266, 267
ctx genes, 927
Cuajar, 790
Cuantos, 641
Cuarentena, 1057, 1073
Cubierta refrigerante, 815, 816
Cuerpo basal, flagelo, 107, 583
Cuerpo elemental, 517, 518
Cuerpo fructífero, 52
de mixobacterias, 481-484
características, 482
ciclo de la vida, 483-484
hongos (setas), 594, 601, 839, 840
mohos mucosos, 590-592
movimiento deslizante en mixobacterias, 481-483, 485
Cuerpo parabasal, 583
Cuerpo parasporal, 497
Cuerpo reticulado, 517, 518
Cuerpos de inclusión, 633
Culebrilla, 631
Culex quinquefasciatus, 1133
Cultivo
aeróbico/anaeróbico, 185-186
anaerobios, 1009
axénico (puro), 13, 16, 17, 18, 20, 123-124, 152
consorcio de bacterias verdes, 525-526
continuo, 165-167
discontinuo batch, 163, 164, 165
enriquecimiento. *Véase* Cultivo de enriquecimiento
Cultivo celular permanente de líneas celulares, 280
cultivo células primarias, 280
ensayo con virus, 1036
hospedador de virus, 280
Cultivo de enriquecimiento, 21, 445, 721, 722, 723, 742, 1004
bacterias nitrificantes, 447, 448
bacterias oxidadoras del hidrógeno, 451-452
bacterias sulfato reductoras, 487
cytofagas, 522
Hyphomicrobium, 478, 479
metanotrofos, 455
mixobacterias que forman cuerpos fructíferos, 483
Cultivo de heces, 1007
Cultivo discontinuo, 163, 164, 165, 189
Cultivo monocapa, 280
Cultivo primario de células, 280
Cultivo puro, 13, 17, 19-20, 123-124, 152, 721, 725-726
Cultivos de órganos (crecimiento virus), 280
Cultivos genéticamente modificados (GM crop), 861, 863
Curva de crecimiento, 163, 164
de una sola etapa, 283
Curva estándar, medición de la turbidez, 171-172
Cutícula o cubierta de la espora, 101
Cyanidiales, 602
Cyanidioschyzon, 602
Cyanidioschyzon merolae, 602
Cyanidium, 602
Cyanothece, 512
Cyclospora cayetanensis, 1169, 1179
Ciclosporiasis, 1057, 1179
Cylindrospermum, 512
Cystobacter, 482
Cytophaga, 110, 442, 522-523, 713, 722
Cytophaga columnaris, 523
Cytophaga hutchinsonii, 522, 714
Cytophaga psychrophila, 523

2,4-D, 787
D gen, 991
D'Hérelle, Felix, 24
DAHP sintetasa, 150, 151
D-Alanina, 86, 88, 89, 160
D-Aminoiácido, 67
DAP. *Véase* Ácido diaminopimélico
DAPI, 32, 168, 742
tinción fluorescente, 728
Dapsona, 1086
Daptomicina, 880, 886
Darwin, Charles, 426
dATP, 200
dCTP, 200
DDT, 787, 1056
Dechloromonas, 442
Decoración aeróbica, 788
Declorinación aeróbica, 788
reductiva, 692, 705-706, 788
Dedos de zinc, 248
DEET, 1126, 1129, 1134
Defensa del hospedador. *Véase también* Sistema inmunitario; inmunidad
anatómica, 930
dieta, 930
edad, 929
específica, 932
estrés, 930
inespecífica, 932
resistencia natural, 931
Defensa, biopelículas (biofilms), 751
Defensinas, 920, 984
Deferribacter, 441, 535
Degranulación, 213, 939, 951, 976
Dehalobacter, 706
Dehalobacterium, 706
Dehalococcoides, 706
Dehalorespiración, 705
Dehidroemetina, 1158
Deinococcus, 48, 441, 530
Deinococcus radiodurans, 48, 321, 347, 380, 530, 870
Delavirdina, 1112
Delbrück, Max, 24
Deleción, 316, 530. *Véase también* Microdeleción clonal, 997, 1001
Delong, Edward, 23
Deltavirus, 1098
Demanda bioquímica de (BOD), 754, 766, 1146, 1148, 1159
Demetilasa, 258
Demografía, contribución a emergencia de patógenos, 1064
Densidad celular, quimiostato, 166
Densidad óptica, 171, 173
3-Deoxi-7-fosfoarabinoheptulosonato, 814
Deoxiribonucleasa, 1065
Deoxiribonucleotido, 200
Deoxirribosa, 60, 63, 146, 147, 193, 207
Deriva antigénica, 625, 638, 1092, 1093, 1114
Dermatitis, 1152
por contacto, 977
Dermatophilus, 508
Dermocarpa, 512
Dermocarpella, 512
Derxia, 461
Derxia gummosa, 461
Desacoplador, 142
Desagüe de aguas residuales, 754
Desaminación oxidativa, 388
Desarrollo de la cepa, 821
Desarrollo económico, contribución de la emergencia de patógenos, 1064
Desarrollo industrial, contribución a la emergencia de patógenos, 1064-1065
Desasimilación de sulfato o bacteria sulfato, 485, 487
Descarboxilación de ácidos orgánicos, 686
metabolismo, 716-717
Descarboxilasa, 1010
Descloración reductiva, 691, 705-706, 718, 788
Descomponedores de lactato, 792
Descomposición
anóxica, 678, 770, 771, 772
compuestos aromáticos, 710
ciclo del carbono, 770, 771
Descontaminación, 866, 899
Desensibilización, 977
Desgaste (erosión), 755, 756
Desinfección, 876, 899
por radiación ultravioleta, 1149, 1150
esterilización, 869
mutagénesis, 319
Desinfectante, 70, 866, 875-877, 899
no en contacto con los alimentos, 876
Desnaturalización, 69-70, 866
DNA, 195, 566
proteínas, 69-70, 221
Desnitrificación, 424, 691-693, 718
ciclo del nitrógeno, 775
Desorden del complejo inmunitario, 979
Desplazamiento en masa, 466
Myxococcus, 483
Desproporciocal, azufre, 696
Destilación, 833
Desulfacinum, 486
Desulfarculus, 486
Desulfitobacterium, 497, 706
Desulfobacter, 486, 670, 695, 776
Desulfobacter postgatei, 487
Desulfobacterium, 486
Desulfobacula, 486
Desulfobotulus, 486
Desulfobulbus, 485, 486
Desulfobulbus propionicus, 487
Desulfococcus, 486
Desulfofustis, 486
Desulfomicrobium, 486
Desulfomonas, 485
Desulfomonile, 486, 705, 788
Desulfonema, 486
Desulfonema limicola, 487
Desulforhabdus, 486
Desulforhopalus, 486
Desulfosarcina, 486
Desulfosarcina variabilis, 487
Desulfotignum phosphitoxidans, 696
Desulfotomaculum, 485, 486, 497, 670, 705, 723
Desulfotomaculum orientis, 697
Desulfovibrio, 328, 442, 485, 486, 487, 670, 695, 723, 776
Desulfovibrio desulfuricans, 487
Desulfovibrio gigas, 705
Desulfovibrio oxyclinae, 487
Desulfovibrio sulfodismutans, 695
Desulfurella, 486
Desulfuración, 776
Desulfurococcales, 561-563
Desulfurococcus, 539, 559, 562
Desulfurococcus saccharovorans, 562
Desulfuromonas, 442, 486, 723, 776
Desulfuromonas acetoxidans, 74, 487, 696

Detección de anticuerpos, 1034
Detector de luz, 856
Detergente catiónico, 876
Determinante
  antigénico, 947, 962
  conformacional, 947
  lineal, 947
Deuteromicetos, 595
Dextranasa, 713
Dextrano, 713, 908, 909
  degradación. 714
  producción comercial, 495
Dextransucrasa, 715, 908
dGTP, 200
Diabetes, 11
  infantil (juvenil), 977, 978
Diagnóstico microbiológico, 1004
Diaponeurosporeno, 646
Diarrea del viajero, 1175
Diatomea, 175, 587, 588
Diazinón, 787
Dicloroetileno, 706
Diclorometano, 788
Dicloruro de mercurio, 877
Dictyostelium, 391, 591
Dictyostelium discoideum, 390, 579, 580, 591, 592
Dicumarol, 142
Didanosina, 888
Dideoxicitidina, 1112
Dideoxiinosina, 888, 1112
Dientes, anatomía, 906
Dieta, susceptibilidad a las enfermedades infecciosas, 930
Diferenciación, 4-5
  celular, 105
2,3-Difosfoglicerato cíclico, 553, 566
Difteria, 242, 921, 924, 932, 1019, 1046, 1051, 1056, 1066, 1080-1081
Difusión, 81
Digestor de lodos (fangos), 1147
Digliceról tetraéter, 80
β-1,4-Diglucosa, 714
Dihidrouridina, 215
Dihidroxiacetona fosfato, 135
Dihidroxi-indol, 855
Diloxanida furoato, 1158
Dilución
  de punto final, 282
  seriada, 168, 170, 726
Dímero, 248
  de pirimidina, 320
  de proteína, 247
Dimethyl sulfuro, 453, 549, 704, 705, 777
Dimetil carbonato, 453
Dimetil disulfuro, 777
Dimetil éter, 453
Dimetil guanosina, 215
Dimetil sulfóxido (DMSO), 177, 453, 704, 705, 777
Dimetilamina, 453, 549
Dimetilsulfoniopropionato, 184, 777
Dineína, 579
Dinitrofenol, 142
Dinitrogenasa, 670, 673-674
  reductasa, 670, 671, 673-674
Dinobryon, 588
Dinoflagelado, 577, 585, 586
  tóxico, 586
Dióxido de azufre, 694, 1165
  sulfitos en el vino, 831
Dióxido de carbono, 549, 770
  aceptor de electrones, 690, 697
  acetogénesis, 697, 698
  agujeros en el queso suizo, 504, 685
  atmosférico, 769
  del ciclo del ácido cítrico, 142-144
  en la fotosíntesis, 641
  fuente de carbono, 146
  producción en el rumen, 789, 790
  producto de la fermentación, 137, 463, 464, 493, 678, 681, 682-683, 771
  reducción a metano, 700
  síntesis de purina, 148
Dióxido de nitrógeno, 669, 691
Dioxigenasa, 709, 788
  secuencial, 710
Dipéptido, 67
Diploide, 40, 234
Diplomónada, 51, 422, 423, 581, 582
Diplopteno, 79
Diptericina, 984
Diritromicina, 886
Disacárido, 61, 714-715
Disentería, 666, 586, 590, 921, 1158. *Véase también* Amebiana y bacilar, 1045
  amebiana, 590
  bacilar, 466, 1045
  porcina, 527
Diseño de drogas por computación, 897-898
Disinfección, 866, 899
  agua, 1150
Disminución de nutrientes, respuesta estricta, 261
Disparador de partículas, 860
Dispersión del aire, contribución de la emergencia de patógenos, 1064
Disrupción génica, 362, 376
Distrofia muscular de Duchenne, 859
Diversidad catabólica, 144-146
Diversidad de la región-N, 992
Diversidad de plantas, 800
Diversidad fisiológica, 43-45
Diversidad genética
  morfología y, 730
  virus, 402
Diversidad metabólica, 43-45, 640-719, 745. *Véase también* Autotrofía; Quimiolitotrofía; Quimioorganotrofía; Fijación de nitrógeno; Fototrofo
  evidencia molecular de la diversificación, 412
Diversidad microbiana, 43-52
  consecuencias para la biosfera terrestre, 412-413
  diversidad ecuariótica, 51-52
  diversidad fisiológica, 43-45
  diversidad procariótica, 45-48, 435
Divinil clorofila *a*, 515
División celular
  bacterias pedunculadas y con gemas, 477-479
  Caulobacter, 480, 481
  duplicación del cromosoma vs., 204
  eukariótico, 234
  evolución, 159
  proteínas Fts y, 156-157
  síntesis del peptidoglicano, 159-161
División por fractura, 503
Divisoma, 156, 157, 189
DL_{50}, 919
DMSO. *Véase* Dimetil sulfóxido
DMSO-TMAO reductasa, 120
DNA, 3, 4, 58, 59, 63, 290, 294, 613-615, 631-632. *Véase también* Transcripción amplificadora, 356-360
  cadenas antiparalelas, 194, 195, 223
  cadenas complementarias, 193, 194
  circular, 196, 198, 203, 294, 360, 610, 612, 617
  circular covalentemente cerrado, 576
  cloroplasto, 198, 575
  complementariedad, 392, 393, 845
  concatemérico, 290, 294, 614, 615, 632
  contenido GC content. *Véase contenido* GC en gel electroforesis, 346, 348, 352
  desenrollar, 207
  desnaturalización, 195, 565
  detectado en hábitats naturales, 401
  determinación de la secuencia, 347
  vectores de clonación para, 373, 374
  doble hélice, 192, 193-196
  efecto de la temperatura, 195
  en *Archaea*, 228
  enlaces de puente de hidrógeno, 57, 64, 193, 194, 195
  estructura, 64, 193-199
    primaria, 64
    secundaria, 195
    tallo-bucle, 195
  eucariota, 40, 233
  extremos cohesivos, 294
  extremos romos, 349
  fusión, 195
  glucosilado, 284, 291
  herramientas para la manipulación, 345-351
  hipertermofilos, 566-567
  interacción, 195
  interacciones con las proteínas, 193
  lineal, 198, 232, 290, 529, 616
    replicación de, 235-237
  macromolécula de la información, 192
  marcado con ^{15}O, 740
  metilación, 284, 346
  mitocondria, 198, 576
  móvil, 339-341, 397-398
  mutaciones. *Véase* Mutación
    de muesca, 324
    organización en las células microbianas, 39-41
  origen del material genético, 409
  palindrómico, 345
  permitación circular, 290
  procariota, 39-40
  radiación ionizante, 869
  recombinante, 349
  relajado, 196, 198
  repeticiones cortas invertidas en los extremos, 339
  repeticiones invertidas, 195, 210, 340
  repeticiones largas en el extremo, 298
  repeticiones terminales, 613
  replicación. *Véase* Análisis de enzimas de restricción en la replicación, 346
  secuencia de bases, 193
  secuencias repetidas, 195
  sintético, 316, 356, 360, 845
  superenrollada, 196-198, 308
  surco mayor, 194, 247
  surco menor, 194
  tamaño de, 194
  tándem de número variable, repeticiones, 358-359
  terminales repetidas, 290
DnaA, 201, 266, 267
DnaB, 201
DNA bacteriofago, 610-613
DnaC, 184, 201
DNA casette, 376, 399
DNA chips (microarrays, matriz multigénica), 391-393
DNA complementario (cDNA), 392, 393, 845, 847
  genoteca, 846
DNA de doble cadena
  replicativo, 373
DNA de transferencia (T-DNA), 801-802
DNA diagnóstico, 1035-1039
DNA doblado, 195
DNA endonucleasa, 311
DNA girasa, 202, 223, 227, 880, 882, 893
  φX174, 610
  inhibición, 882
  inversa, 566, 569
DNA ligasa, 202
  φX174, 610
DNA lineal, 288, 290, 615
DNA móvil, 339-341, 397-398
DNA polimerasa, 120, 199, 200, 223, 352, 356, 361
  φX174, 610
  actividad de corrección de pruebas, 205, 206, 357
  aplicaciones industriales, 826
  codifica PBCV-1, 628
  familias estructurales, 228
  Pfu, 325, 357
  Taq, 180, 357
DNA polimerasa I, 200, 202, 611
DNA polimerasa III, 200, 202, 205, 206, 611
DNA recombinante, 348-349
DNA sintético, 316, 356, 360, 845
  procedimiento de síntesis en fase sólida, 356

www.edilibros.com

DNA superenrollado, 196-197, 227, 308
negativo, 196
positivo, 196
DNA–DNA hibridación, 428-430, 432, 438
dnaQ gen, 323
DNase I humana, 849
DNase I, 850
Doble enlace, 56, 149
conjugado, 646
Doble hélice, 192, 193-196
Dogma central de la biología molecular, 192, 275
Domagk, Gerhard, 24, 881
Dominio (proteína), 68, 962, 986, 1001
Dominio (taxonomía), 38, 42, 421, 437, 580
características, 423
Dominio de unión nucleótido, 395
Dominio superenrollado, cromosoma, 196, 197
Dominios de unión a metales, 395
Donador de electrones, 129-130, 152, 651
fuente de energía, 130
inorgánico, 658
metanogénesis, 701
primario, 131
Dos componentes del sistema regulatorio, 253-255, 273
Dosis de inmunógeno, 946
Dosis de radiación absorbida, 870
Dosis letal, 870
Doxiciclina, 1102, 1104, 1126, 1129
Dracunculiasis, 1059
Drenaje de minas ácidas, 535, 551, 664, 779-780
Droga inmunosupresiva, 930
Droga sulfa, 881, 895
Droga, interferencia con la división celular, 157
Drogas antimicrobianas sintéticas, 880-882
Drogas antirinovirus, 1091
Drogas antivirales, 887-890, 1091, 1092
Drosomicina, 948
Drosophila, 390
genoma, 389
dTTP, 200
Dulbecco, Renato, 25
Dunaliella, 183, 542-543, 603
Duodeno, 910
Duplicación de genes, 396, 397

Ecología microbiana, 6, 23, 72, 742, 745-747
métodos, 721
molecular, 50
Ecología molecular microbiana, 50
EcoRI metilasa, 346
*Eco*RI, 345, 346, 350
Ecosistema, 6, 745, 746-747, 766
flujo de energía, 747
marino, 759-765
Ecotipo, 433, 438, 761
Ectoína, 183, 184
Ectomicorrizas, 595, 799
Ectothiorhodospira, 183, 442, 443-445, 543, 670
Ectothiorhodospira mobilis, 443, 444
Edad, susceptibilidad a las enfermedades infecciosas, 929
Edema, 943
Edición del RNA, 387, 388, 403
Edwardsiella, 465, 1010
Efavirenz, 1112
Efecto de la glucosa, 260
Efecto Pasteur, 136
Efector, 150, 250, 253
Eficiencia de la siembra, 281
Efluente de aguas, 1145, 1146, 1148, 1159
residuales, 450
Ehrlich, 24, 880
Ehrlichia, 422, 470, 471, 1123
Ehrlichia chaffeensis, 1123, 1124, 1125
Ehrlichiosis, 470, 1057, 1123-1124
18S rRNA, 417, 418, 730
granulocítica humana, 1124
monocítica humana (HME), 1124, 1125
Eikenella, 905
Eimeria, 587
Ejes de simetría, 278
El mundo del RNA, 240, 388, 408-409
Electroforesis. *Véase* Gel de electroforesis
Electroforesis en gel, 376
de campo pulsado, 1176
DNA, 346, 347, 352
en gradiente desnaturalizante (DGGE), 732-734, 742
poliacrilamida en dos dimensiones, 394
Electroporación, 327, 350, 365
Elefantiasis, 471
Elemento transponible, 199, 339-341, 342, 398, 615
bacteriófago Mu. *Véase* bacteriófago MU transposasa, 339-341, 617, 639
Elementos electronegativos, 56
Elementos genéticos, 192, 198-199, 224
no cromosómicos, 198-199
Elementos traza, 783, 917. *Véase también* Micronutrientes
Elevada presión, efectos moleculares de, 765
Elevada temperatura ambiental, 178-180
Elevado rendimiento de una cepa, 821
ELISA, 1021, 1028-1033
directa, 1028, 1029, 1030
hepatitis, 1099
indirecta, 1029-1032
Elongación RNA, 880
Elvitegravir, 1112
EMB agar. *Véase* Agar eosina-metileno azul
Embarazo, rubéola, 1088-1089
Enanismo, 765
Enantiómero. *Véase* Estereoisómero
Encapsidación, 298
Encefalitis, 1057, 1060, 1063, 1067
alérgica, 977, 978
bovina espongiforme, 1056, 1064
California, 1048
equina de Venezuela, 1063
japonesa, 1044
Encefalomielitis, 1063
sarampión, 1088
Encefalopatía bovina esongiforme, 300, 1180
espongiforme transmisible, 301
Encephalitozoon, 580, 581, 598
genoma de, 598
Encephalitozoon cuniculi, 390, 391
Endocarditis, 1062
Endoflagelos (flagelos periplasmáticos), 526
Endomicorrizas, 595, 598, 799
Endonucleasas de restricción, 232
Endorribonucleasa secuencia-específica, 239
Endosimbiosis, 42, 403, 414, 438, 575-577, 605
primaria, 576-577, 581, 605
secundaria, 577, 581, 582, 602, 605
terciaria, 577
Endóspora, 100-104
activación, 100
células vegetativas vs., 100-105
central, 100
contenido de agua, 867
crecimiento, 100
desarrollo, 265
estructura, 100-101
formación, 100, 102-103
germinación, 100
longevidad, 102-103
resistencia al calor, 13, 100, 105, 868
subterminal, 100
terminal, 91, 100
tinción, 100
Endotoxina, 91, 466, 844, 919, 928-929, 933
Energía, 125
activación, 126, 152
almacenamiento a largo término, 133
células primitivas, 411
de formación, 125-126
de mantenimiento, 133
flujo en el ecosistema, 746
libre, 125, 152
cambio del estánder vs., presente, 126
de formación, 125
opciones metabólicas para, 44
oxidación del azufre, 661
Enfermedad, 904, 933
biopelículas (biofilms) y, 173
hongos, 595
prión, 300-302
viroide, 299-300
Enfermedad autoinmunitaria, 974, 975, 976, 977, 1025, 1079
Enfermedad cíclica, 1048, 1051-1052
Enfermedad Creutzfeldt-Jakob, 300
nueva variante (nvCJD), 1060
variante (vCJD), 1064
Enfermedad de Addison, 977
Enfermedad de Chagas, 1032, 1044, 1059
Enfermedad de Hansen. *Véase* Lepra
Enfermedad de Hashimoto, 977, 978
Enfermedad de Huntington, 859
Enfermedad de la columna, 523
Enfermedad de Lyme, 119, 379, 527, 529, 1019, 1046, 1057, 1062, 1065, 1126-1129
detección, 1128
erupción, 1127, 1128
incidencia y geografía, 1127
patogénesis, 1126-1129
prevención, 1129
transmisión, 1128
tratamiento, 1129
Enfermedad de mildiu de la patata, 587
Enfermedad de Newcastle, 850
Enfermedad de achaparramiento del maíz, 503
Enfermedad del agua fría, 523
Enfermedad del letargo, 503
Enfermedad del mal de las vacas. *Véase* Encefalopatía espongiforme bovina
Enfermedad del mosaico del tabaco, 21
Enfermedad del olmo alemán, 595
Enfermedad del sueño, 1044
africana, 391, 584
Enfermedad diarreica, 310, 466, 489, 917, 1044, 1051, 1152, 1154-1155
diarrea del viajero, 1175
Enfermedad emergente, 1061-1067, 1073
reconocimiento e intervención, 1066
Enfermedad endémica, 1043, 1073
viral, 1092
Enfermedad enzoótica, 1118, 1140
Enfermedad epizoótica, 1118, 1140
Enfermedad estreptocócica, 1057, 1077-1080
diagnóstico, 1079
Enfermedad genética, 859
hospedador comprometido, 930
Enfermedad infantil, en adultos, 1057
Enfermedad infecciosa por priones, 302
Enfermedad inflamación pélvica, 1038, 1100, 1104
Enfermedad inmunitaria, 974-980
Enfermedad lechosa, 497
Enfermedad meningocócica, 972, 1057
Enfermedad notificable, 1057, 1058
Enfermedad periodontal, 909
Enfermedad pertinaz de los cítricos, 503

www.freelibros.com

Enfermedad por clamidias, 516-517, 518, 1103-1106
Enfermedad por contacto directo, 1046
Enfermedad por priones esporádica, 301
Enfermedad por ricketsias, 1019, 1122-1126
control, 1126
diagnóstico, 1125, 1126
Enfermedad priónica heredada, 302
Enfermedad reemergente, 1061-1067, 1073
Enfermedad transmitida por alimentos, 1049, 1056, 1065, 1168-1181
muestras microbiológicas, 1168-1173
Enfermedad transmitida por animales, 1118-1122
Enfermedad transmitida por artrópodos, 1122-1136
Enfermedad transmitida por el agua, 1049, 1056, 1144, 1151-1159
amebiasis, 1157-1158
brotes, 1151
cólera, 1152-1154
criptosporidiosis, 1155-1156
en países en vías de desarrollo, 1151, 1152
fiebre tifoidea, 1157
fuentes, 1151-1152
giardiasis, 1154-1155
legionelosis (enfermedad de los legionarios), 1156-1157
virus, 1157
Enfermedad transmitida por piojos, 528, 1124
Enfermedad Tsutsugamushi, 1126
Enfermedad vírica fiebre aftosa o glosopeda, 620
Enfermedades de transmisión sexual (STD).*Véase también* Enfermedades específicas
Enfermedades estafilocócicas, 1094
Enfermedades infecciosas, 9, 10, 873
América y África, 1059-1060
ciclos, 1052
emergente, 1061-1067, 1073
fases clínicas, 1043-1045
inmunidad, 969-974
inmunoensayo, 1018-1020
tasas de muerte en Estados Unidos, 8-9
teoría microbiana de la enfermedad, 16-18
Enfermedades microbianas de persona a persona
transmisión por contacto directo, 1094-1100
transmisión por el aire, 1076-1094
transmitidas de persona a persona, 1046
transmitidas sexualmente, 1100-1114
Enfermedades transmitidas por el suelo, 1136-1140
Enfermedades transmitidas por un vector, 1046
Enfurvirtida, 888, 889, 1112
Engarce, 480
Enlace covalente, 56
Enlace de hidrógeno, 56, 57
agua, 58
DNA, 59, 63, 193-194, 195
proteína, 58, 67-68
Enlace disulfuro, 68, 69
Enlace fosfato, rico en energía, 132
Enlace fosfodiéster, 64
Enlace glicosídico, 61
orientación alfa, 61
orientación beta, 61
Enlace peptídico, 56, 65, 67, 69
Enlace químico. *Véase* Enlace
Enlaces, 56-57
covalente, 56
cruzados tetrapeptídicos, pared celular, 88
disulfuro, 69
doble, 56, 149
fuerza, 56-57
glicosídico, 61
hidrógeno. *Véase* Puente de hidrógeno
iónicos, 57
modelos moleculares en biología, 56
moleculares biológicos, perfiles, 57
peptídicos, 65, 66, 67
triple, 56
Enlatado, 10, 1164, 1181
al autoclave, 1164
Enolasa, 135
Enriquecimiento, 721
Ensamblaje, genoma, 354
Ensayo de aglutinación de perlas de látex, 1024, 1025
Ensayo de coliformes mediante filtros de membrana, 1143
sonda de ácidos nucleicos, 1037
Ensayo de dilución del antibiótico, 1014-1015
Ensayo de Limulus, 929
estructura y función, 928
lisado de amebocitos, endotoxina, 929
Yersinia pestis, 1134-1135
Ensayo en placa, virus, 280
Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima. *Véase* ELISA
Ensayo químico, 736-739
Ensilado, 178
*ent*A gen, 1170-1171
Entamoeba, 581, 590
Entamoeba histolytica, 391, 586, 590, 1158
Entamoebas, 422
Enteritis, 489, 1063
Enterobacter, 465-466, 680, 723, 905, 1006, 1007, 1010, 1011, 1055, 1143
Enterobacter aerogenes, 467, 683
Enterobacteria, 910
Enterobacteriaceae, 1011
Enterobactina, 119, 120
Enterococcus, 494, 495, 905, 910, 1038, 1055
Enterococcus faecacium, 878
Enterococcus faecalis, 495, 1006
resistencia a los antimicrobianos, 895
Enterocolitis, inducida por *Salmonella*, 1174
Enterotoxina, 311, 465, 919, 920, 921, 926-928, 933, 1066, 1095
A, 1096, 1170
colérica, 927, 1153
Entidades subvíricas, 299-302, 627
Entomoplasma, 501
Entricitabina, 888
env gen, 297, 637
Enviropig™, 858
Envuelta, 638
Enzima, 5, 67, 126-128, 152
activa en frío, 177
alostérico, 150, 152
barófilo, 764
catálisis, 127
coenzimas con metales traza, 119-120
constitutiva, 246
de modificación, 345-347, 376, 630
de restricción, 284, 345-347, 349, 350, 351, 376
análisis de DNA, 346
PBCV-1 codifica, 627
secuencia de reconocimiento, 345
del hígado, test de Ames, 322
destrucción del oxígeno tóxico, 187-188
digestiva, 578
en viriones, 277-278, 279
especificidad, 127
estructura, 127-128
extracelular (exoenzimas), 826
hidrolítica, 92
hipertermofílo, 827, 828
inactivación, 870
inducción, 249-250
inhibición por producto, 150
inhibición por retroalimentación, 150
inmovilizada, 828-829, 841
isozima, 150-151
modificación covalente, 151, 674
nomenclatura, 127,128
principal, RNA polimerasa, 207
producción comercial, 826-829
reacción reversible, 127
RecA, 417
RecBCD, 324
regulación de la afinidad, 149-152
regulación de la síntesis, 246-265
replicación DNA, 199-200, 201, 202
represión, 249-250
*Sal*I, 350
sitio activo, 127, 150
sitio alostérico, 150
termofila, 180
Eosinofilo, 939
Epibionte, 525
Epidemia hospedador-hospedador, 1049-1050, 1073
Epidémico, 1042-1048, 1073
control, 1056
fuente común, 1045-1046, 1049, 1073
hospedador-hospedador, 1049-1050, 1073
síndromes clínicos, 1066
Epidemiología, 1041-1074
ciencia, 1042
salud pública, 1055-1072
Sida, 1052-1054
terminología, 1043-1045
Epidermis, 905
Epidermophyton, 1138
Epilimnión, 753, 766
Episoma, 309, 333
Epítopo, 991, 993, 1001. *Véase* Determinante antigénico
Epulopiscium fishelsoni, 76
Equilibrio de la fermentación, 678
Equilibrio hídrico
en halófilos extremos, 544
positivo, 182
Equilibrio oxidación-reducción, 678-680
Equilibrio positivo de agua, 183
Equinocandinas, 880, 890, 891
Eritema, 943
migratorio, 1127, 1128
multiforme, 1069
Eritrocitos, 936
Eritromicina, 880, 885-887, 1015, 1080
producción, 510
comercial, 818
resistencia, 892
síntesis, 814
Eritrotetina, 849
Eritrosa-4-fosfato, 147
Eructo, rumiates, 772, 791
Erwinia, 310, 412, 758, 1163
Erwinia cartovora, 463
Erythrobacter, 762
Escabechado, 836, 1164, 1167
Escalado, 817-818, 841
Escefalitis del oeste del Nilo o meningitis, 1133
Escherichia coli, 33, 379-380, 393, 417, 705, 819, 860, 870, 1005, 1017, 1045, 1143
acuaporina AqpZ, 81
ataque por Bdellovibrio, 474
atenuación, 272
bacteriofago, 299, 608, 612
colicinas, 311
colonización, 903
control del choque térmico (calor), 264
control global, 262
cromosoma, 203, 305-308
chaperonas en, 221
DNA, 174
polimerasas, 200
dominios superenrollados, 196
dos componentes reguladores sistemas, 253-254
electroforesis de proteínas en gel de poliacrilamida, 394
en agua, 1143-1145
endonucleasas de restrictión, 345-347
enfermedades transmitidas por el agua, 1151-1152

www.edicionesdiaz.com

enterobactinas, 119, 120
enterohemorrágica, 1057, 1175
enteroinvasiva, 1175
enteropatogénica, 311, 465, 1032, 1175
enterotoxina, 926
factores de adhesion, 917
factores de virulencia, 1065
factores sigma, 208-210
fermentación ácido mixta, 464
fimbrias, 916
fisión binaria, 155
flagelos, 108
fotografía bacteriana, 856
FtsZ, 156, 157
genoma, 380, 381, 382
hospedador de clonaje, 364, 851
identificación, 1008, 1010, 1013
infección nosocomial, 1051, 1054
inflamación sistémica, 944
intestino, 909, 910
islas de patogenicidad, 400
Lac permeasa, 83
mapa genético, 305-308
medio de cultivo, 121, 1007
metabolismo de la maltosa, 251
modelo de procariota, 305
nucleoide, 40
número de genes, 40
O157:H7, 1057, 1062, 1064, 1066, 1152, 1166, 1169, 1175, 1176, 1177
operón del triptófano, 270
pared celular, 86, 87, 88, 92
pasteurización, 869
patogénica, 400, 930
periplasma, 92
piel, 905
pili, 95
plásmido, 308
F, 374
preferencia de codeones (codon bias), 214
producción de añil, 854-855
promotor, 369
proteínas quimiotácticas aceptoras de metilo (MCP), 257
quimiotaxis, 111
reducción del nitrato, 692
regulón de la maltosa, 253
replicación, 201
requerimientos de oxígeno, 170
RNA polimerasa, 207
sangre, 1005
sistema de transporte de electrones, 141, 693
sistema fosfotransferasa, 84
sonda de ácido nucleico, 1038
subunidades ribosómicas, 217
tamaño, 75, 76
temperaturas cardinales, 174
tinción de Gram, 31
tracto urogenital, 914
transducción, 328
transformación, 327
transmitida por los alimentos, 1175
transpeptidación, 160
virus T4, 279
Escherichia, 182, 310, 328-442, 465-466, 680, 705, 723, 905, 927, 1010, 1011, 1163
endotoxina, 91
Esclerosis múltiple, 859, 977
Escobillón (hisopo), 1004, 1005
Escobillón en la garganta, 1004
Escobillón nasofaríngeo, 1005
Escobillón rectal, 1005
Escotocromogénesis, 506
Escotofobotaxis, 114
Esferoidenona, 646
Esferoplasto, 89
Esfingolípidos, 521
Esfingomielina, 521
Esfingosina, 521
Esmalte, dientes, 906, 907
Esófago, 910
Especiación bacteriana, 434
Especiación, procariotas, 433-435
Especias, esterilización por radiación, 871
Especies, 435
descripción de nuevas, 436-437
procarióticas, 432-435
Especificidad, 945, 962, 966, 980, 1022, 1039
de hospedador, patógeno, 915-917
de tejido, patógeno, 915, 916, 932
Especimen
aislamiento de patógenos, 1004-1009
colección, 1005
manipulación segura, 1016
Espectinomicina, 510, 880, 885, 892
Espectro de absorción, 642, 643
Espectrofotómetro, 171
Espectrometría de masas, 394
análisis del metaboloma, 395
Espinacas, *E. coli* O157:H7-enfermedad asociada, 1175
Espiriloxantina, 646
Espiroplasmosis de la abeja melífera, 503
Espiroqueta, 47, 74, 441, 527-529, 536, 905
características, 527
clasificación, 526
movilidad, 526
oral, 528
rumen, 528
Espliceosoma, 237, 239, 243
Espolón (inmunodifusión), 1023
Esporangia, 597
Espora
actinomicetos, 507, 756
endospora. *Véase* Endospora
estreptomicetos, 508, 510
hongos, 592-595, 596
mucoso, 590-591
Esporicidas, 875
Esporóforo, 507
Esporotricosis, 1137, 1138
Esporozoito, 587, 1129
Esporozoo, 587
Esporulación, 100
Bacillus, 101, 103, 265
bacteriana, 104
Esquema Z, 652, 653
Esquistosomiasis, 1032, 1044
Esquizonte, 1129
Esreptolisina O, 921, 923, 1019
Estacionalidad, enfermedades infecciosas, 1048
Estado de equilibrio, 165, 166
Estafiloquinasa, 1066
Estanque, 752
de coagulación, 1150
Estavudina, 888, 1112
Estela (rastro) mucoso, 483, 484, 591
Éster, 58
fosfato, 58
Esterasa, 853
Estereoisómero, 61, 66
Esterilidad, 14
Esterilización, 14, 866
calor, 866-869, 1164
filtro, 871-873
tipos de filtros, 871-873
fría, 875
medio de cultivo, 123
por temperatura (calor), 866, 869, 1164
radiación, 869-870
Esterilizante (esporicida), 875, 899
Esteroide, 909, 910
andrógino, 825
producción comercial, 825-826
Esterol, 78
estructura, 80
membrana, 78, 453, 501
síntesis, 709-710
Estómago, 909, 910
barrera contra la infección, 931
microbiota normal, 909
Estomatitis vesicular, 623
Estornudo, 1048, 1076, 1092
Estramenópilos, 576, 581, 582, 587-588
Estreptocinasa, 921, 922
Estreptolisina S, 921
Estreptomicetos, 508
Estreptomicina, 880, 883, 885, 1015
mecanismo de acción, 219
producción, 510
comercial, 818
resistencia, 892, 893
Estreptovaricina, 880, 883
Estrés
oxidativo, 263
susceptibilidad a las enfermedades infecciosas, 930
Estrógeno, 825
Estroma, 575, 605, 644
Estromatolito, 407, 438
Estructura celular/función, 73-116
Estructura cuaternaria, 57
proteínas, 69
Estructura en caperuza mRNA, 239, 242, 424
Estructura en lazo
DNA, 194-195
mRNA, 270
RNA, 195, 209, 271
Estructura primaria, 63
DNA, 63, 64
proteína, 67
RNA, 63, 64
Estructura secundaria, 65
proteína, 67-68
RNA, 65
Estructura terciaria, 68
proteínas, 68, 69
Estructuras superficiales celulares, 94-96
Etanol, 459, 499, 679, 698, 839. *Véase también* bebidas alcohólicas
genérico, 833, 836
producto de fermentación, 135, 136, 137, 459, 463, 464, 493-494, 499, 680, 681, 684-685, 688, 772
usos industriales, 833-836
Éteno, 706
Éter, 58
Etilen glicol, 679
Etileno, 56, 454, 712, 788, 1165
Eubacterium, 508, 905, 910
Eubacterium limosum, 697
Eucariota, 7, 37, 38, 42, 52, 572, 573
complejo de Golgi, 577
componentes extracelulares, 580
cromosomas artificiales, 373-375
cromosomas, 40, 198, 239
división celular, 234
DNA, 40
endosimbiosis y origen, 413-416
esteroles, 79
estructura celular, 37, 572-573
evolución, 413-416, 581
expresión génica, 267
filamentos intermediarios, 578
flagelos y cilios, 579-580
fósil, 408, 413
genética, 192, 232-243
genomas, 389-391
hospedador de clonaje, 364-365
lisosomas, 578
microfilamentos y microtúbulos, 578
núcleo, 572-573
orgánulos respiratorios, 573-575
peroxisoma, 578-579
replicación lineal del DNA, 235-237
retículo endoplasmático, 577
ribosomas, 573
RNA de interferencia (RNAi), 243
RNA polimerasa, 207
RNA procesamiento, 237-240
sin mitocondria, 581, 604
temprano, 580
traducción, 241-242
transcripción, 192, 240-241
transfección, 365
transferencia de información, 232
vectores de expresión, 371
virus, 619.635
DNA, 627-635
RNA, 619-627
Euglena, 584
Euglena gracilis, 386
Euglenoide, 584
Euglenozoo, 581, 582

www.medilibros.com

Eukarya, 38, 232, 406, 421, 438, 605
árbol filogenético, 42, 51
diversidad, 51-52
dominio, 580
evolución, 41, 42
filogenia, 421, 422, 423, 580-582
genes y cromosomas, 232-234
principales características del grupo *Bacteria* o *Archaea* respecto a, 415
propiedades fenotípicas, 423
sondas filogenéticas, 424
Euprymna scolopes, 796-798
Euryarchaeota, 49-50, 422, 423, 539, 540, 551, 569
hipertermófilo, 552
virus, 617
Evolución, 4, 7, 37, 41-43, 406, 416-426, 438. *Véase también* Célula primitiva
árbol universal filogenético, 422
Archaea, 567-569
autótrofo, 411
características celulares, 4
cloroplasto, 414-416, 422
cronómetros, 417
eucariotas, 413-416, 581, 582
familias de genes, 396-397
fotosíntesis, 410, 412-413, 653
interruptores de RNA y, 269
mitocondria, 214, 414, 422-423
mutaciones y, 77
proceso, 416
relación superficie-volumen y, 76-77
rendimiento del crecimiento, 703
rRNA, 417
Tierra y diversificación de la vida, 406-416
vírico, 628-629
virulencia, 400-401
virus de arqueas, 618-619
Excitón, 648
Exit site (E-site), 219
Exoenzima, 791, 826, 841
Exón, 230, 237, 239, 243
Exonucleasa, 202
de corrección de errores, 202
Exosporio, 101
Exotoxina, 921, 922-925, 927-928, 933, 1022
A, 921, 924, 1039
B, 1079
superantígenos, 878
Explosión respiratoria, 941
Expresión de genes, 40, 246-273, 379, 395
cromosoma de *Escherichia coli*, 305-307
DNA chips, 391, 393
específico de biopelícula (biofilm), 173
eucariotas, 267
FISH, 730
procariotas, 253, 267
regulación, 245-273, 393
superenrrollamiento, 197
Exteínas, 238, 243
Extracto de levadura, 839
Extravasación, 938, 939
Extremoenzima, 827, 841
Extremofilo, 45, 175, 189, 827
Archaea, 48-50
Extremos repetidos invertidos, DNA, 339, 634
Extremos repetidos largos (LTR), 298, 635, 636
Extrusión alélica, 991
Exxon Valdez, 785

FACS. ***Véase*** **Separador de células activadas por fluorescencia**
Factor 2 de elongación, 924
Factor *a*, 600
Factor análogo del crecimiento, 881, 900
Factor antigénico de la colonización, 311, 918
Factor cuerda, 507
Factor de crecimiento, 120, 121
Factor de crecimiento β de las células T, 1000
Factor de crecimiento del nervio, 849
Factor de crecimiento epidérmico, 849
Factor de elongación, 218, 219
Factor de liberación, 219
Factor de necrosis tumoral, 849
Factor de resistencia al suero, 1066
Factor de virulencia, 310, 400, 919-926, 1066
Factor edema factor (EF), 921, 1066, 1071
Factor estimulador de la colonia, 849
Factor letal (FL), 921, 1066, 1071
Factor sigma, 207, 208-209
alternativo, 209
codificado en T4, 291
desarrollo de la endospora, 265
Factor-α de necrosis tumoral, 943, 952, 1000
Factores amisigma, 209, 292
Factores de adhesión, 1066
Factores de coagulación, 849, 922
Factores de invasión celular, 1065
Factores de la esporulación, 265
Factores de transcripción, 229, 240-242
PBCV-1 codificante, 628
Factores del hospedador a la infección, 929-932
Factores Nod, 806
Fagémido, 848
Fago. *Véase* Bacteriófago
auxiliador, 329
mutador, 615
Fagocito, 919, 936, 937, 939-943, 962, 968
inhibición, 941
inmunidad adaptiva, 966
reconocimiento del patógeno, 940-941
respuesta innata inmunitaria, 965
Fagocitosis, 590, 605, 919, 940, 943, 959, 965, 968, 983, 1022
defensa contra, 942
en protistas, 584
Fagolisosoma, 940, 941, 949
Fagos caronte (Charon), 371
Fagosoma, 940
FAME, 426-427, 438
Familia de genes, 307, 403
evolución, 396-397
Familias de aromáticos, síntesis, 147
Faringitis, 1078
Fármacos, 855
Fascitis necrotizante, 1079
Fase de muerte, 163, 165
Fase estacionaria, 164, 813
Fase exponencial, 163, 164, 813
Fase Lag, 163-164, 813, 1163
Fauna ediácara, 413
FeMo-co, 670, 671, 673, 675
Fenilalanina, 56, 814, 882
código genético, 212
estructura, 65
fermentación, 679
producción comercial, 824
síntesis, 148, 150, 151
Fenotipo, 312, 342
designación, 312
Feofitina *a*, 652
Fermentación, 10, 14, 133, 152, 678-690, 718, 770, 771, 772, 814, 841, 1181.
Véase también Tipos específicos
2,3-butanediol, 464, 467, 680, 683
a gran escala, 814-818
ácido láctico, 493-494, 495, 681
ácido propiónico, 685
ácido-mixta, 463, 464, 680-683
alcohólica, 14, 136, 459, 680, 829-835, 841
clostridios, 683-686
con levaduras en profundidad, 833
consideraciones redox, 678-680
del ácido láctico, 681
del ácido propiónico, 680, 686
diversidad, 680-683
energética, 678-680
glicolisis, 134-137
heteroláctica, 681
homoacetogénica, 680
homoláctica, 681
levaduras, 136, 137
maloláctico, 831
producción por levaduras, 839
productos, 137
reacciones acopladas, 688.
Véase también Síntrofía
rendimiento energético de los organismos fermentadores, 678-679
rumen, 790
secundario, 504, 685, 718
Fermentador, 814-816, 841
aeróbico, 815-816, 837
anaeróbico, 814
comercial, 816-818
control y monitorizaciónn (supervision), 816
laboratorio, 816, 817
primario, 771
secundario, 771
tamaño, 814, 815
Ferredoxina, 139, 651, 657, 671
Ferroglobus, 554, 558, 559
Ferroglobus placidus, 553, 568
Ferroplasma, 181, 539, 550, 551
Ferroplasma acidarmanus, 780
Fertilizante, nitrógeno, 775
FeVa-co, 672
Fibras de la cola, virus, 279, 284
Fibrina, 937
Fibrinógeno, 937, 944
Fibrinolisina, 1066, 1095
Fibrobacter, 714
Fibrobacter succinogenes, 791, 792
Fibronectina, 580
Fibrosis cística, 173, 751, 849, 850, 859
Ficobilina, 512, 515, 536, 645
Ficobiliproteina, 602, 646, 647, 675
Ficobilisoma, 646, 647, 675
Ficocianina, 513, 646, 647
Ficocianobilina, 857
Ficodnavirus, 627, 628-629
Ficoeritrina, 513, 602, 646
Fiebre, 928, 943
amarilla, 1056, 1057, 1060, 1062
de Dengue, 1044, 1060, 1063, 1064
de las Montañas Rocosas, 469, 1123, 1124, 1140
de las trincheras, 470
de Lassa, 1064
de Pontiac, 1156
de Potomac, 470
del heno, 976
del oeste del Nilo, 1056, 1067, 1132, 1133, 1140
del tifus, 469, 470, 1021, 1038, 1046, 1060, 1067, 1124, 1141
del valle del Rift, 1063, 1065
escarlatina, 921, 980, 1019, 1038, 1062, 1079, 1114
hemorrágica, 1038, 1046, 1062, 1063, 1067
con síndrome renal (HFRS), 1120-1122, 1140
Ébola, 1057, 1060, 1122
viral, 1122
maculada (de la Montañas Rocosas), 470
paratifoide, 921, 1045
púrpura del Brasil, 1062
Q, 469, 470, 1057, 1067, 1126
recurrente, 527, 1057
reumática, 1038, 1062, 1079, 1114
tifoidea, 466, 921, 1019, 1045, 1047, 1055, 1057, 1067, 1144-1145, 1157, 1174
Fijación de nitrógeno, 8, 22, 119, 424, 460-462, 669-675, 721, 761, 803
actinomicetos, 508
aerobios de vida libre, 460-462, 670
anaerobios de vida libre, 670
bacterias del nódulo radical, 803-808
bioquímica, 806
cianobacterias, 512, 514
ciclo del nitrógeno, 774
detección, 672
flujo de electrones, 671
genética, 673-674
inhibición por oxígeno, 674

www.libreriasmedicas.com

regulación, 259, 674
simbiosis con las leguminosas, 803-808
simbiosis en las no leguminosas, 807
simbiótico, 669, 670, 774
superoxido dismutasa, 672
Fijación del complemento, 961
Fijación del dióxido de carbono, 663
Archaea, 541
autotrófico, 654-658
bacterias del azufre, 662
bacterias nitrificantes, 667
fotosíntesis anoxigénica, 649
vía acetil-CoA, 669, 697
Filamentos intermediarios, 159, 578, 605
Filochips, 393, 734-735
Filogenia, 41, 42, 240, 417, 438
Archaea, 539-541
Bacteria, 441-443
cloroplasto, 576
Eukarya, 580-582
mitocondria, 576
SSU rRNA, 421-423
Filosfera, 757
Filotipos, 732, 733, 735, 742
Filovirus, 1062, 1065, 1067, 1122
Filtración, 871-873
purificación (potabilización) del agua, 1145, 1149, 1150, 1159
Filtro
de aire particulado de alta eficacia (HEPA), 872, 899, 1084
de nucleación, 872-873
de profundidad, 871-872
HEPA (filtro de aire particulado de alta eficacia), 872, 899, 1084
Nucleopore, 872-873
percolador o de goteo, 1147-1148
Fílum, 422
Fimbrias, 95, 917, 920
P, 917
tipo I, 917
Firmicutes, 492
Fischerella, 512
FISH, 424, 438, 730-732, 742
con deposición indicadora catalizada (CARD-FISH), 731-732
FISH-MAR, 737
FISH-MAR, 737
Fisiología microbiana, 23
Fisión binaria, 155, 177, 477-478
desigual, 480
Fístula, 790
Fitanil, 62, 80, 534, 553, 569
Fitopatógeno, 459, 758, 766
Fitoplancton, 752
Flagelación
anfítrica, 106
lofotrica, 106, 108, 475, 562
peritrica, 106, 109, 111, 459, 463, 466, 467
polar, 106, 109, 112, 459, 467, 471
Flagelado, 422
Flagelina, 106, 108
Flagelos, 95, 105-109, 231
bacterianos, 105
control, 258
espiroquetas, 526
estructura, 106-107
eucarióticos, 579, 584
longitud de onda, 106
movimiento, 107
perítricos, 488
procarióticos, 231
síntesis, 108
velocidad celular y movimiento, 108-109
Flasco de Pasteur, 15
Flato, 911
Flavín mononucleótido. *Véase* FMN
Flavín-adenina dinucleótido. *Véase* FAD
Flaviviridae, 1098
Flavobacterium, 422, 441, 521, 1010
Flavobacterium johnsoniae, 110, 111
Flavodoxina, 671, 672, 673
Flavonoide, 806
Flavoproteína, 138, 140
Fleming, Alexander, 24, 884
Flexibacter, 523
Flexirubinas, 523
Flexistipes, 535
Floculatión, 1150, 1159
Florey, Howard, 884
Florfenicol, 681
Fluconazol, 890
Flujo de amonio, 775
Flujo de información biológica, 192
pasos, 192
Fluoresceína isotiocianato, 1025
Fluorescencia, 32
5-Fluorocitosina, 890, 891
Fluorofenilalanina, 882
Fluoroquinolonas, 882
Fluorouracil, 882
Fluoruro, 908
FMN, 138, 823
Folículo piloso, 905
Fomite, 1049, 1073
FoodExpert-ID, 393
Food-Net (CDC), 1176
Foraminíferos, 589
Forma celular, 74-75, 86
en procariotas, 157
evolución, 159
Forma replicativa (FR), 610, 611, 638
Formaciones bandeadas de hierro (BIF), 412-413
Formaldehído, 478, 712
esterilización en frío, 875
Formamida, 453, 733
Formato
deshidrogenasa, 120, 221
donador de electrones, 705
hidrógeno liasa, 135
producción en el rumen, 791
producto de fermentación, 680, 682
Formilmetionina tRNA, 218
Forraje fermentado en silos, 494
Foscarnet, 888
Fosfatasa, 253, 939
alcalina, 750, 1028
Fosfato orgánico, 857
Fosfoadenosina fosfosulfato (PAPS), 695
Fosfoanhídrido, 58
Fosfocetalasa, 681
Fosfoenolpiruvato (PEP), 84, 133, 135, 147, 679, 680, 712
Fosfoenolpiruvato carboxilasa, 716
3-Fosfoglicerato, 147
Fosfoglicerocinasa, 135
Fosfolipasa, 717-718, 923
Fosfolípido, 62, 79, 410, 717
Fosforibulocinasa, 655, 656
Fosforilación a nivel de sustrato, 134, 152, 493-494, 662, 678, 679, 683, 686-688, 689, 696, 697, 702-703
Fosforilación oxidativa, 134, 142, 152, 386, 689
a nivel de sustrato, 134, 152, 493-494, 662, 678, 679, 689, 696
Fosforilasa, 713, 892
Fosforo, 119
Fosforólisis, 714
Fósil, 406
conchas de foraminíferos, 589
eucariotas, 588
Fotoautótrofo, 144, 145, 641
medidas en la naturaleza, 736
Fotocromogénesis, 505
Fotofosforilación, 134, 142, 144, 152, 443, 649, 675
cíclica, 650, 653
no cíclica, 653
Fotografía bacteriana, 856
Fotoheterotrofo, 144, 145, 445, 523, 532, 641
Fotolitografía, 392
Fotorreceptor, 114
Fotosíntesis anoxigénica, 44, 144, 443, 641, 642, 647-652, 675, 762
flujo de electrones, 648-649
fototrofos oxigénicos, 653
oxidación del hierro, 665
Fotosíntesis, 387, 569, 575, 641-654, 675
anoxigénica, 44, 144, 641, 642, 647-652, 675, 762
Bacteria rojas, 648-649
ciclo del carbono, 769-770
evolución, 410, 412-413, 653
flujo de electrones, 648-650
fotofosforilación, 649
genética, 650-651
mediciones en la naturaleza, 738
oxigénica, 44, 144, 410, 412-413, 641, 642, 652, 653, 675, 770
pigmentos, 641-644
accesorios, 646, 647
producción de energía y asimilación del dióxido de carbono, 641
Fotosistema I, 652, 653
Fotosistema II, 652, 653
Fototaxis, 111, 113, 258
Fototrofo, 7, 36, 43, 144, 152, 412, 641, 675
anoxigénico, 443
bacterias rojas fototróficas, 443-444
cianobacterias, 511-515
comunidades endolíticas, 604
euariotas flagelados, 583-584
medidas en la naturaleza, 736, 739
proclorofitas, 515-516
Fototrofos
anoxigénicos aeróbicos, 762
endolíticos, 604
Fox, George, 25
Fraccionamiento isotópico, 742
Fragmentos de Okazaki, 202
Francisella, 442
Francisella tularensis, 1046, 1067
Frankia, 508, 671, 774, 807
Franklin, Rosalind, 25
Freeze, Hudson, 25
Frío doloroso, 931. *Véase* Ampolla de fiebre
Fructosa, 60, 827
producto de fermentación, 680-681
Fructosa-1,6-bisfosfato, 135, 679, 712
Fructosa-6-fosfato, 135, 656
Frústula, 588
FtsA, 156
FtsK, 157
FtsZ, 156, 189, 206
Fucoxantina, 588
Fucsina básica, 505
Fuente común
de las enfermedades infecciosas, 1045-1050, 1064-1065, 1073
de una epidemia, 1090-1091
Fuente de carbono, 118
células primitivas, 410-411
medio de cultivo, 821
Fuente de energía, 130
hidrógeno como primitiva, 568
represión por catabolito, 260
Fuente de nitrógeno, 119, 148, 669-670
Fuentes (surgencias) templadas, 793
Fuentes calientes, 793
Fuentes hidrotermales, 178-179, 533, 556-557, 560, 562-563
animales que viven en, 793-795
caliente (abrasador), 793
Epsilonproteobacteria, 488-489
hipótesis del origen de la subsuperficie, 408
nutrición de los animales cercanos, 794-795
submarinas. *Véase* Fuentes hidrotermales
Fuentes sulfurosas, 443, 556, 557
Fuentes termales, 178, 518, 533, 534-535, 555, 557, 602, 738
gradiente térmico, 179
hipertermófilos, 178
Fuerza de van der Waals, 57
Fuerza motriz de protones, 81, 83, 107, 111, 140-142, 152, 540, 544, 557, 648, 649, 650, 653, 661, 664, 689, 695, 697, 702, 711
conservación de la energía, 140
diversidad catabólica, 145
formación ATP, 141-142
generación, 140-141
Fuerza motriz de sodio, 697, 698, 702

www.pedidos.com

Fuhrman, Jed, 23
Fumarato, 143, 694, 705, 707
  fermentación, 680
  fijación, 806
  metabolismo, 716
Fumarola, 178
Furanonas, 752
Furazolidona, 1155
Furúnculos o granos, 493, 918, 922, 1049, 1095
Fusarium, 75
Fusión de genes, 363, 376
Fusión, ácidos nucleicos, 195
Fusobacterium, 905, 907, 909, 910

***gag* gen, 297, 298, 635, 637**
Galactosidasa, 839
α-Galactosidasa, 911
β-Galactosidasa, 250, 260, 350, 351, 373, 713
Galdieria, 602
Gallionella, 442, 477, 480-481, 778
Gallionella ferruginea, 481, 664
Gametangios, 596, 598
Gameto, 234, 1130
Gametocito, 1130
Ganadería, transgénicos, 856
Gancho, 107
Ganciclovir, 888
Ganglio linfático L, 938, 939, 957-958, 967, 997
Gangliósido, 521
  GM1, 926-927
Gangrena gaseosa, 499, 921, 922
Gardasil, 974
Garrapata, 1124
  del ciervo, 1125-1126, 1127, 1128
  del perro, 1124
  transmisoras de enfermedades, 529, 1062, 1065, 1124
    prevención (ácaros, garrapatas), unión, 1129
Gas de cloro, 876
Gas intestinal, 911
Gas natural. *Véase* Metano
Gas nervisoso Saran, 1070
Gasohol (mezcla de gasolina y etanol), 834-835
Gastritis, 489, 1062, 1096
Gastroenteritis, 466, 468, 499, 921, 1019, 1063, 1152
Géiser, 174
Gemmata obscuriglobus, 520
Gen, 40-41, 192, 223
  ADA, 859
  aislamiento y caracterización, 721
  de la cadena ligera, activo, 991
  de la cadena pesada, activo, 992
  de la luciferasa, 366
  de la timidina quinasa, 851
  definición, 223
  eucariótico, 232-234
  flujo de información, 192
  genes de mantenimiento (housekeeping), 199, 430
  homólogo, 396, 419-420
  indicador (gen testigo), 362-364, 372, 376, 729
  número por célula, 40
  pauta de lectura abierta, 214
  solapados, 609, 610, 612
GenBank, 355, 420
Generación, 155, 162-163
  espontánea, 13, 14
Generador de vinagre, 837
Generalmente reconocidos como seguros (GRAS), 1165
Genes de mamíferos clonados y expresados en bacterias, 844-845
  aislamiento del gen mediante el mRNA, 845-846
  mediante proteína, 846
  síntesis del gen completo, 846
Genes de mantenimiento, 199, 430
Genes de resistencia, 892
Genes en minería, ambiente, 853
Genes homólogos, 396, 403, 419
Genética
  bacteriana, 23
  humana, 858
Genéticamente modificados (GM) plantas, 860
Genistefna, 806
Genoma, 4, 38-41, 198, 224, 232, 379, 403
  adenovirus, 634-635
  análisis, 382-383
    del genoma completo basado en las secuencias, 431-432
  Archaeoglobus, 553
  bacteriófago lambda, 293-294
  basal, 401
  cloroplasto, 386-387
  de *Homo sapiens*, 390
  ensamblaje, 354
  esencial, 400
  estabilidad, transferencia horizontal y, 398.399
  eucariótico, 389-391evolución, 396-401
  función y regulación, 391-396
  hepadnavirus, 637-638
  levaduras, 387, 389
  Methanocaldococcus jannaschii, 549-550
  micoplasma, 501, 502
  minería, 853
  mínimo, 25
  mitocondrial, 386, 387, 388
  Nanoarchaeum, 554
  nuclear, 387-389
  orgánulos, 388-389
  pan, 401
  procariótico, 379-386
  registro, 355
  reovirus, 626-627
  retrovirus, 297, 635
  RNA, 635
  secuenciado, 354-355
  segmentado, 624, 1092
  SV40, 630
  tamaño, categorías de genes en función de, 384-385
  técnicas genómicas de clonaje, 373-376
  Thermoplasma, 551
  TMV, 619
  VIH-1 (HIV-1), 637
  viral, 198
    en la naturaleza, 402
  virus de la viruela, 633
  virus herpes simplex, 631
  virus humano de la hepatitis B, 637, 638
  virus, 275, 276, 277, 278, 285-286, 287, 288-289, 290
Genomas cerrados, 354
Genomas de RNA, 635
Genomas procarióticos, 379-382
  análisis bioinformático y distribuciones de genes, 383-385
  contenido, 382
  tamaños, 379-382
Genómica, 11, 25, 379, 387, 403
  ambiental, 401-402, 735-736, 742, 762
  comparativa, 395, 397
  historia corta, 379
  matriz multigénica (microarrays o DNA chips), 391-394
  proteómica, 395
Genoteca (biblioteca genética), 349, 365, 373
Genotipo, 312, 342
  designación, 312
  recombinación homóloga, 324-325
Genotoxina, 921
Gentamicina, 880, 885, 1015
Geobacillus stearothermophilus, 174, 498
Geobacter, 442, 704, 723
Geobacter metallireducens, 704
Geodermatophilus, 508
Geosmina, 509, 514
Geospirillum, 704, 723
Geothrix fermentans, 521
Geotrichum, 905, 1163
Geovibrio, 535, 704
Geranilgeraniol, 552
Germicida (antiséptico), 877, 899
Germinación, endospora, 100-101
  gestión paralela a gran escala de líquido, 353
Giardia, 51, 422, 423, 580, 581, 745, 1045, 1150, 1152
Giardia intestinalis, 583, 1154-1155
Giardia lamblia, 390, 583, 1064, 1169, 1179
Giardiasis, 583, 1045, 1057, 1064, 1152, 1154-1155
Gimnamebas, 589-590
Ginebra, 833
Gingivitis, 909
Girasa inversa, 228, 243
Glaciar, 176
Glándula apocrina, 905
Glándula sebácea, 905, 932
Glándula sudorípara, 905
Glicano tetrapéptido, 86-88
Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa, 135
Gliceraldehído-3-fosfato, 134, 135, 655, 656, 681, 702, 712
Glicerato, 712
Glicerato-1,3-PP, 679
Glicerato-3-P, 679
Glicerol, 62, 82, 177, 410, 521
  diéter, 80, 81
  estructura, 184
  fermentación, 682
  producción comercial, 839
  soluto compatible, 184
Glicina, 712
  betaína, 183, 184
  código genético, 212
  estructura, 66
  fermentación, 680, 684
  industria alimentaria, 824
  síntesis, 147, 148, 149
    de purina, 148
Glicógeno, 61, 87, 133, 146, 655, 713
Glicolípido, 61, 62
Glicólisis, 134-137, 152, 679, 680, 681, 702-703
Glicoproteína, 61
  pared celular, 544
  virus-específico, 624
Glicosilación, 578
Glioxilato, 681, 712
Glóbulos de azufre, 97
Gloeobacter, 512
Gloeocapsa, 512
Gloeothece, 512
Gloeromictectos, 598
Glomerular, 1079
Glomerulonefritis, agudo, 1078, 1079
Glucagón, 1032
β-1,3-Glucanasa, 713
Glucoamilasa, 839
β-Glucocerebrosidasa, 849
Gluconato-6-P, 679
Gluconeogénesis, 715
Gluconobacter, 442, 456, 459, 722, 836
Glucosa isomerasa, 827
Glucosa, 60, 144
  catabolismo en *Archaea*, 540-541
  enantiómeros, 67
  entrada, 83, 84
  fermentación, 134-137, 772
  oxidasa, aplicaciones industriales, 827
  permeabilidad de las membranas a, 82
  respiración, 142
Glucosa-6-fosfato, 132, 146
  deshidrogenasa deficiencia, 1131-1132
α-Glucosidasa, 911
β-Glucosidasa, 911
Glucosilatión, DNA, 284
α-Glucosilglicerol, 183
β-Glucuronidasa, 911
Glutamato, 674, 679
  código genético, 212
  deshidrogenasa, 147
  estructura, 66
  fermentación, 679
  industria alimentaria, 824
  monosodio, 825
  producción comercial, 824
  sintasa, 147
  síntesis, 147-148
  soluto compatible, 184
Glutamina, 806
  código genético, 212
  estructura, 66
  sintetasa, 147, 151, 259, 806
    adenililación, 151
  síntesis, 147, 148
Glutaminil-tRNA sintetasa, 216
Glutaraldehído, 877

GM-CSF, 952, 999
Gonococo. *Véase Neisseria gonorrhoeae*
Gonorrea, 462, 915, 932, 1020, 1038, 1046, 1049, 1057, 1101-1102, 1104
  diagnóstico de laboratorio, 1008
Gonyaulax, 586
Gotas infecciosas, 1076
Gould, Stephen Jay, 26
Gradiente, 111, 112
  temporal, 112
  térmico, fuentes termales, 180
Gram, Christian, 24
Gramicidina, 496
Gran evento de oxidación, 410, 412
Gran Lago Salado en Utah, 541, 542
Grana, 575, 643, 644
Gránulo de volutina. *Véase* Polifosfato
Granulocitos, 937
Gránulos de azufre, 651, 654, 662
Grasas. *Véase* Lípidos
Gravedad combinada con deficiencia inmunitaria, 859
Gray (unidad de radiación), 869-870
Gremio, 746, 766
Griffith, Fred, 24, 326
Gripe, 930, 1019, 1038, 1046, 1051-1052, 1060, 1063, 1090, 1091-1094. *Véase Influenza*
  asiática, 1092
  aviaria, 1092-1093
  epidémica, 625
  epidemiología, 1092-1093
  española, 1092
  pandémica, 1092
  porcina, 1093
Griseofulvina, 818, 890, 891, 1138
Grupo amino, 65, 66, 147
Grupo Ceto, 58
Grupo cruzado de inoculación, 803, 804
  Rhizobium, 806
Grupo de genes de la fotosíntesis, 650, 651
Grupo de incompatibilidad, plásmidos, 308-309
Grupo de translocación, 83, 84
Grupo del ácido carboxílico, 65-66
Grupo externo (construcción árbol filogenético), 421
Grupo monofilético, 421, 438
Grupo prostético, 128
Grupo R, aminoácido, 65
Grupo sanguíneo ABO, 1024
Grupos celulares en forma de V, 503
Grupos de Lancefield
  Streptococcus, 494
Grupos funcionales, 57, 58
Grupos hermanos, 596
Grupos terroristas, armas biológicas, 1067, 1068
GTP
  en la síntesis de proteínas, 218
  hidrólisis de FtsZ, 157
Guanina, 63, 64, 193, 194
Guanosina
  pentafosfato (pppGpp), 262
  tetrafosfato (ppGpp), 262
Guerra biológica , 1067-1068, 1073
Gusanos tubícolas, 794
GyrA, 238
*gyr*B gen, 433

Hábitat, 6, 546, 745, 747-752, 766.
  ambientes extremos, 44
  efecto de los organismos en, 6
  geotérmico, 556, 558
  plantas como, 757
  propiedades químicas, 6
  salino, 543
  suelo, 385
  volcánico, 558-563
    submarino, 560-563
Hacer pan, 136, 839
Haemophilus, 327, 905
Haemophilus ducreyi, 895, 921, 1100
Haemophilus haemolyticus, 346
Haemophilus influenzae, 327, 346, 379, 971, 972, 1013, 1025, 1038, 1055, 1057, 1062, 1077, 1087
  genoma, 382
  resistencia antimicrobiana, 896
Hafnia, 465
Haloalcalófilos, 543
Haloanaerobium, 183, 543
Haloarcula, 543
Haloarcula marismortui, 380
Halobacterium, 49, 182, 228, 310, 313, 338, 523, 539, 543, 545, 762
Halobacterium salinarium, 183, 380, 543, 544, 545, 617
Halobacteroides, 543
Halobaculum, 543
Halochromatium, 444
Halococcus, 93, 182, 539, 543
Haloferax, 338, 543
Halófilo, 44, 49, 182, 189, 827
  baja, 182
  discreto, 182
  extremos. *Véase* Halófilo extremo
  moderado, 182
  pared celular, 94
Halófilo extremo, 183, 189, 422, 423, 539, 540-546, 569
  balance hídrico, 544
  componentes citoplasmáticos, 544
  definición, 541
  fisiología, 543-544
  hábitat, 541-543
  síntesis de ATP mediada por la luz, 545
  taxonomía, 543-544
Halogeometricum, 543
Halomonas, 442
Halorhodopsina, 545, 569
Halorhodospira, 183, 442, 444, 543
Halorhodospira halochloris, 78
Halorubrum, 543
Haloterrigena, 543
Halothiobacillus, 442
Halothiobacillus neapolitanus, 448, 449
Halotolerancia, 183, 189
Hambruna irlandesa, 587
Hansen, G.A., 1085
Hansenula wingei, 601
Hantavirus, 1046, 1062, 1120-1121
Hapalosiphon, 512
Haploide, 40, 234, 235
Hapteno, 946, 962
Haustoria, 595
HBLV. *Véase* Virus humano B linfotrófico
Heces, 911
Helicasa, 201, 202, 204-205, 228, 324
α-Hélice, 67, 68, 178
Helicobacter, 442, 472, 488, 910, 1097
Helicobacter pylori, 489, 1011, 1062, 1096-1097
Heliobacillus, 500, 670, 910
Heliobacillus mobilis, 500
Heliobacterias, 500, 536, 644, 648, 654
Heliobacterium gestii, 500
Heliobacterium, 496, 497, 500, 670
Heliobacterium modesticaldum, 38
Heliophilum, 497, 500, 670
Heliophilum fasciatum, 500
Heliorestis, 497, 500, 670
Heliothrix, 532
Helling, Robert, 25
Helminto, enfermedad infecciosa, 1057
Hemaglutinación, 1019, 1024
Hemaglutinina, 625, 1092
Hemicelulosa, 792
Hemo, 138
Hemofilia, 850, 859, 1053
Hemoglobina, 69
  A, 1131
  S, 923, 1131
Hemolisina, 495, 921, 923, 1066, 1095
Hemólisis, 921, 923, 1022
α-Hemólisis, 495
β-Hemólisis, 495, 1078
Hendravirus, 1062
Hepacivirus, 1098
Hepadnavirus, 635, 637
  genoma, 637-638
  replicación, 637
Hepatitis, 1044, 1045, 1097-1100, 1114
  A, 1057, 1097-98, 1099, 1179
  B, 1057, 1098
  C, 1057
  D, 1098
  E, 1098
  G, 1098
Hepatocarcinoma, 1099
Hepatomegalia, 1099
Hepatovirus, 1098
Heptaclor, 787
Herbaspirillum, 472
Herida por picadura, 1118
Herpes
  genital, 631, 1038, 1100, 1105-1106
  labial, 631
  venéreo. *Véase* Herpes genital
Herpesvirus, 285, 295-296, 629, 631-632, 1038, 1105
  infección latente, 631
  mRNA tardío, 632
  mRNA temprano retrasado, 632
Herpetosiphon aurantiacus, 737
Hesse, Fannie, 19
Hesse, Walter, 19
Heterocisto, 46, 99, 511, 513, 671
Heterodímero, 69, 965
Heterodisulfuro reductasa, 702
Heterofermentativo, 718
Heterotrofo, 44, 118, 737
  fotoheterotrofo, 145, 146
Hexaclorofeno, 876
Hexosa, 60, 146, 147
  fermentación, 679
  metabolismo, 146, 713-715
  producto de fermentación, 680
Hexulosa-6-P isomerasa, 712
Hexulosefosfato sintasa, 712
HhaI, 346
Hialuronidasa, 921, 922, 1095
Hibridación. *Véase también* Detección de colonias por sondas de ácidos nucleicos, 196, 347, 367, 376
  ácido nucleico, 1035
  colonial, 367
  de ácidos nucleicos, 1035
  de genomas, 428-429
  DNA-DNA, 428-429, 432
  fluorescencia *in situ* (FISH), 424, 438, 730-732, 742
  genómica, 428-429
  micromatrices (microarrays), 391
Hibridoma, 1020-1021
Hidrazina, 668, 669
Hidrocarburos, 510, 710, 785
  alifáticos, metabolismo, 706, 710, 772
  descomposición, 785-786
  oxidación aeróbica, 710-711
  oxidación anóxica, 706-708
Hidrocortisona, producción comercial, 826
Hidrofobia, 1119
Hidrogenasa, 120, 451, 574, 659, 675, 679, 695
Hidrogenosoma, 415, 574, 576, 580, 582, 605, 792
Hidrógeno
  donador de electrones, 568, 696, 704, 705, 758, 771
  fuente de energía, 194, 660
  fuente, para las células primitivas, 411
  macronutriente, 119
  oxidación, 659-660
  producto de la fermentación, 463, 464, 679, 688-689, 771
  subsuperficie profunda, 758
Hidrólisis, almidón, 714
Hidrotaxis, 114
Hidroxiapatito, 119
Hidroxiclorofila *a*, 651
Hidróxido férrico, 475, 663, 664-665
Hidroxilamina, 319, 447, 666
  oxidoreductasa, 666
Hidroximelilcitosina, 290-291
Hidroxipiruvato, 712
11α-Hidroxiprogesterona, 826

Hidroxiprolina, 685
Hiedra venenosa, 975, 977, 978
Hielo, 60
  marino, 177
Hierro, 416, 918
  citocromos, 138
  en la naturaleza, 119
  función celular, 120
  oxidación, 554, 659, 663-666, 777-779
  reducción, 777
    de hierro férrico, 704
  requerimientos celulares, 119-120
Hifas
  bacterianas, 477, 478
  cenocíticas, 587, 593
  estreptomiceto, 507
  fúngicas, 593, 596, 756, 1136, 1137
Himeno, setas, 601
*Hin*dII, 346
*Hin*dIII, 346, 350
Hipermutación somática, 992, 1001
Hipersensibilidad, 974-979, 980
  tipo inmediata, 976, 980
  tipo retrasada, 976, 977-978, 980
Hipertermófilo, 42, 44, 48, 50, 174
  anaerobios obligados, 557
  aplicaciones biotecnológicas, 180
  área volcánica submarina, 560-563
  características, 559
  estabilidad al calor de las membranas y proteínas, 179-180
  evolución, 562-569
  hábitas volcánicos, 558-563
  lípidos, 567
  macromoléculas, 567
  quimiolitotrofo, 557, 558
  quimioorganotrofo, 552, 557, 558
  virus, 617-618
Hipolimnio, 753, 766
Hipótesis
  del hidrógeno, 414
  del origen de la subsuperficie, 408
Histamina, 977
Histidina
  cinasas, 253
  código genético, 212
  estructura, 65
  fermentación, 679, 684
  industria alimentaria, 824
Histona, 227, 233, 243, 247, 551, 567, 572-573, 605
Histoplasma capsulatum, 1038, 1107, 1138
Histoplasmosis, 595, 978, 1038, 1107, 1138
HIV-ELISA test con anticuerpos, 1029-1032, 1034, 1035
  indirecta, 1028, 1029
HLA (antígenos de leucocitos humanos), 987, 1001
Holoenzima, RNA polimerasa, 207
Holophaga foetida, 521
Homoacetógenos, 696, 723
Homocisteína, 679
Homodímero, 69
Homofermentativa, 718
Homonenizador, 1169
Homoserina, 679
  lactona acilada, 751
Hongo de aguas residuales, 476
Hongo mucoso, 51, 422, 590, 605
  acelular, 590
  celular, 590-591
  hábitat, 590
Hongos, 37, 51-52, 422, 586, 592-602
  ácido tolerancia, 181
  ascomicetos, 594, 598-600
  basidiomicetos, 593, 596, 601
  blancos descomponedores, 593
  control del crecimiento, 890-891
  degradores de la madera, 593
  descomponedores de madera, 593
  enfermedades infecciosas, 1056
  estructura y crecimiento, 594
  filamentoso. *Véase* Mohos glomeromicetos, 598
  filogenia, 596
  hábitat, 592
  liquen. *Véase* Líquen
  macroscópico, 595
  microrrizas, 799-801
  morfología, 593-594
  nutrición y fisiología, 592
  paredes celulares, 594-595
  patogénicos, 595, 1136-1139
  quitridiomicetos, 597
  reproducción, 595-596
  rumen, 792
  setas, 594, 839-841
  simbiosis, 595
  unicelular, 598
  zigomicetos, 597-598
Hooke, Robert, 11
Hopanoide, 79
Horizonte C, 755
Horizonte O, 755
Horizontes del suelo, 755
Hormogonia, 514
Hormona
  de crecimiento humana, 1032
  estimuladora del folículo, 849
  por ingeniería genética, 848-849
Horquilla de replicación, 201-202, 224
Hospedador, 903, 933, 1048-1052
  clonaje. *Véase* Hospedador de clonaje, coevolución hospedador-parásito, 1051
  entrada del patógeno, 915-917
  para *Nanoarchaeum*, 554
  virus, 276, 279
Hospedador de clonaje, 349, 364-365
  eucariótico, 364-365
  genes foráneos expresados en, 366
  procariotas, 364
HS-HTP. *Véase* 7-Mercapto heptanoiltreonina fosfato
Huella de DNA o identificación genética, 358-359, 376, 429
Humus, 769
Hydrogenobacter, 534
Hydrogenobacter thermophilus, 452
Hydrogenophaga flava, 452
Hyperthermus, 558, 559
Hyphomicrobium, 442, 478-479, 723

ICAM-1 (molécula 1 de adhesión intercelular), 1091
Icosahedro, 278, 302
Ictericia, 1099
Identificación, micromatrices utilizadas para Ig. *Véase* Inmunoglobulina, 393
Ignicoccus, 558, 559, 562
Ignicoccus islandicus, 562
IL. *Véase* Interleucina
Íleon, 910
Impétigo, 1078, 1095
Implante médico, 752
Inactivación por inserción, 351
Incidencia de una enfermedad, 1043, 1073
Inclusión, 96-97
  celular. *Véase* Inclusión enzimática, 828
Indinavir, 888, 897, 1112
Indol, 855
Indoxil, 855
Inducción, 250, 272
  profago, 292
Inductor, 250, 251, 369, 370, 847
Inducción, 1084
Industria alimentaria, 10
  aminoácidos, 824
  chips de DNA utilizados en, 393
  conservante, 311
Industria cárnica, 10
Industria de la madera, 876
Industria metalúrgica, 875
Industria papelera, 876
Industria peletera (cuero), 876
Industria petrolífera, 876
Industria sanitaria, productos para, 818-829
Industria textil, 876
Infección, 904, 933, 1043
  adquirida en el hospital. *Véase* Infección nosocomial
  aguda, 1042, 1073
  alimentaria, 1168, 1181
  biopelículas (biofilms) y, 173
  crónica, 1042, 1073
  cruzada, 1054
  de una herida, 931
    cultivo, 1007
  del pulmón, 1019
  del tracto urinario, 458, 466, 467, 882, 914, 916, 930, 1006-1007, 1038, 1055
    nosocomial, 1054
  factores de riesgo del hospedador, 929-931
  fúngica primaria, 1138
  intestinal por nemátodos, 1044
  latente de virus animal, 296
    herpesvirus, 631
  lisis y, 279
  lítica, virus animal, 296
  nocosomial, 458, 878, 930, 933, 1017, 1054-1055, 1064-1065, 1073
    estafilocócica, 1096
  oportunista, 911, 1110, 1114, 1138
  persistente, virus animal, 296
  por hepatitis. *Véase* Hepatitis A
  receptores para, 283
  resistencia innata, 931-932, 965
  respiratoria, 921, 1044, 1077, 1087-1090
    bacteriana, 1077
    nosocomial, 1054
    vírica, 1087-1090
  secundaria fúngica, 1138
  sistémica, 918
  subclínica, 1043
  T4, 290-292
  vaginal, 599
  virus, 275, 276
Infecciones
  asociadas al laboratorio, 1016
  de los genitales, 1062
  de transmisión sexual (STI), 517, 526, 974, 1046, 1053-1054, 1100-1114
  hospitalarias, 1054-1055. *Véase también* Infecciones nosocomiales, 1054-1055
  piogénicas, 921
  pirogénicas, 921
  por levaduras, 1019
Infertilidad masculina, 977
Inflamación, 939, 943-944, 962, 967, 980
  sistémica, 944
Ingeniería genética, 11, 344-377, 844-854, 864. *Véase también* Clonaje genético de animales, 855-858
  agentes inmunizadores, 973
  antibióticos, 821
  anticuerpos monoclonales, 1023
  bacteriofago, 287
  fago M13, 612
  herramientas y técnicas, 345-351
  microorganismos en la industria, 812
  plantas en agricultura, 860-863
  plásmido Ti, 802
Inhalación de *Bacillus anthracis*, 1072
Inhibición, 866
  enzimática no covalente, 150
  por retroalimentación, 150, 151, 824
Inhibidor
  de la fusión, 888, 889, 899, 1112, 1115
  de la mitosis, 891
  de la nitrificación, 775
  de la integrasa, VIH, 1112
  de la transcriptasa inversa no nucleósido (NNRTI), 888-889
  del ergosterol, 890-891
Inhibidores, 142
  de la β-lactamasa, 898
  de la integrasa, 1112-1113
  de la neuraminidasa, 888

www.elibros.com

de la transcriptasa inversa no nucleosídicos (NRTI), 899, 1112, 1115
de la transcriptasa inversa, 1112
Inmunidad, 936, 962, 965-974
a enfermedades infecciosas, 969-974
activa, 839, 969-970
artificial, 970-073
natural, 969-970
adaptativa (específica), 936, 962, 966, 968-970, 980
anticuerpos y, 968-969
superfamilia de las inmunoglobulinas, 986-987
celular. *Véase* Inmunidad mediada por células
de base, 975, 1051, 1073
de lisógeno a una nueva infección, 292, 330
grupo, 975, 1051, 1073
innata (inespecífica), 936, 939-943, 962, 965, 981
perfil de reconocimiento, 983-986
receptores y dianas, 983-985
señal de transducción, 985
mediada por anticuerpo (humoral), 942, 945, 961, 962, 968, 969
mediada por células, 942, 944, 945, 952, 962, 977, 978
pasiva, 970, 971, 972
artificial, 970
natural, 970
receptores de superficie celulares, 986
señales moleculares, 994-1000
Inmunización, 946, 970-973, 981
calendario para los niños, 972-973
carbunco, 1072
control de las epidemias, 1056
inmunidad base, 1051
nuevas estrategias, 973-974
personal de laboratorio, 1018
programas públicos inadecuados, 1066
ruta de administración, 947
Sida, 1113-1114
muerte de VIH intactos, 1113
subunidad, 1113
vida atenuada, 1113
título de anticuerpos, 1018
toxoide del tétano, 1139
viajar a los países en vías de desarrollo, 1060-1061
Inmunodiagnóstico, 1018-1035
anticuerpos monoclonales, 1020-1021
Inmunodifusión, 1022
Inmunoensayos, 1004
enfermedades infecciosas, 1018-1020
Inmunógeno, 946-947, 962, 971
Inmunoglobulina (Ig), 953-961-962, 966, 981, 1001
avidez, 955
cadena ligera, 954, 991
cadena pesada, 954, 991
clases, 955
estructura, 954
genética, 991
hipersensibilidad inmediata, 976
maduración de la afinidad, 993
región hipervariable (regiones determinantes de complementaridad), 990
región variable, 990, 1002
superfamilia de genes, 986, 1001
valencia, 955
Inmunoglobulina A (IgA), 955, 956
de secreción, 950
Inmunoglobulina A de secreción, 956
Inmunoglobulina D (IgD), 955, 956
Inmunoglobulina de la rabia, 1120
Inmunoglobulina E (IgE), 955, 968, 976
Inmunoglobulina G (IgG), 954-955, 957, 958, 968
cadena ligera, 954, 991
cadena pesada, 954, 991
estructura, 954
sitio de unión de antígenos, 955, 990
suero, 956
Inmunoglobulina M (IgM), 955, 957-958, 959, 968, 1099
Inmunología, 22-23
Inmunotransferencia, 1021, 1033-1035, 1039, 1110
VIH, 1034-1035
Inóculo, 123
dilución, 725
enriquecimiento, 721-725
Inosina, 215
Insecticida, 1056
biodegradación, 787
Insecto. *Véase también* Enfermedad transmitida por artrópodos
desinfestación, 869, 870, 871
patógenos, 497
espiroplasma de la proporción sexual, 502
infección por *Wolbachia*, 471
Insectos como vectores, 1049, 1118
Inserción, 316. *Véase también* Microinserción, 316, 362
Insulina, 11, 68, 848, 849, 1032
por ingeniería genética, 844
Integración, 297
bacteriófago lambda, 293-294
Integrasa, 793-794, 297, 399, 403
Integrinas, 580
Integrones, 399, 403
Inteína, 238, 243
Interacciones
célula T-célula B, 957
hidrofóbicas, 57
hospedador-patógeno, 903-904
microbianas, 6
Intercambio genético, procariotas, 312
Interfase
aceite y agua, 786
petróleo-agua, 786
Interferencia viral, 889-890
Interferón, 862, 889-890, 899
alpha, 1000, 1091
gamma, 952, 1000
modificado genéticamente, 849, 889
Interleucina (IL), 943, 999
Interleucina-1 (IL-1), 999
Interleucina-10 (IL-10), 999, 1000
Interleucina-2 (IL-2), 849, 999, 1000
Interleucina-3 (IL-3), 999
Interleucina-4 (IL-4), 953, 999, 1000
Interleucina-5 (IL-5), 953, 999
Interleucina-8 (IL-8), 943, 944, 999
Interleuckina-12 (IL-12), 999, 1000
Interruptores de RNA, 268-270, 272
Intestino delgado, 909, 910
enterotoxina, 926-928
microbiota normal, 909, 932
Intestino grueso, 909
microbiota normal, 909
Intoxicación alimentaria, 921, 979-980, 1096, 1168-1170, 1181
clostridios, 1171-1173
estafilococos, 1170-1171
Intrón, 230, 237, 239, 243, 355, 370, 424, 845
autoempalmantes, 239-240, 244
cloroplasto, 387
ensamblaje-empalme en arqueas, 231
levadura, 390
SV40, 630
Intrones de autoempalme, 239-240, 244
Intrones grupo I y grupo II, 240
Invasión
de cadena, 324
por un patógeno, 915, 917
Invasividad, 919, 933
Invertasa, 713, 714, 827
Invertebrados marinos (ascidias), *Prochloron* como simbionte, 515
Inyectosoma, 920
Ioduro potásico, 1138
Ion férrico,
aceptor de electrones, 555
lixiviado microbiano, 781-782
manganico, 704
IPTG. *Véase* Isopropiltiogalactósido
Iridoviridae, 595, 629
Irradiación, 1166, 1177, 1181
IS. *Véase* Secuencia de inserción
Islas
cromosómicas, 400-401, 403
de patogenia, 307, 400-401, 403
Isochromatium, 444
Isochromatium buderi, 97
Isocitrato, 143, 716
liasa, 716
Isoleucina
código genético, 212
estructura, 65
fermentación, 679, 685
síntesis, 148
Isómero, 14, 66-67
aminoácidos, 65-67
azúcares, 66-67
óptico, 14, 66
Isoniacida, 880, 881-882, 1084
Isopreno, 80
Isopropanol, 499
Isopropiltiogalactósido (IPTG), 250
Isorrenieratreno, 646
β-Isorrenieratreno, 646
Isosporiasis, 1107
Isótopo estable, 739
medidas de la actividad microbiana, 736, 739-741
Isozima, 150-151
ISRT-FISH, 731-732
Itraconazol, 890
Ixodes pacificus, 1127
Ixodes persulcatus, 1127
Ixodes ricinus, 1127
Ixodes scapularis, 1127

J gen, 991
Jacob, Francois, 25
Jamón, 1164
Jarabe rico en fructosa, 827, 828
Jarosita, 778
Jarra
anóxica, 186
de anerobiosis, 1009
Jenner, Edward, 24, 633
Jerez, 830

***Kaiko* (sumergible), 765**
Kan casette, 362
Kanamicina, 880, 885, 892
producción comercial, 818
KDO. *Véase* Cetodeoxioctonato
Ketoconazol, 890, 1138
Khorana, H. Gobind, 25
Kilobase, 194
Kilojulio, 125
Kingella, 462
Kitasato, S., 24
Kitasatoa, 508
Klebsiella, 310, 465, 467, 670, 680, 905
Klebsiella pneumoniae, 346, 467, 673, 819, 1005, 1055, 1143
Kluyveromyces, 834
Koch, Robert, 13, 15-20, 23, 24, 467, 504, 977, 1083
Kohler, Georges, 25
Koji, 1168
KpnI, 346
Kuenenia, 668
Kurthia, 508
Kuru, 300

Laboratorio clínico, seguridad, 1016-1018
Laboratorios BL-1, 1017
Laboratorios BL-2, 1017
Laboratorios BL-3, 1017
Laboratorios BL-4, 1017
Lachnospira multiparus, 791, 792
lacI gen, 369, 847
β-Lactamasa, 884, 892, 893
Lactasa, 1167
aplicaciones industriales, 827
Lactato, 792
deshidrogenasa, 135, 396
donador de electrones, 694, 705
fermentación, 504, 679, 685

www.medilibros.com

oxidación, 736, 737
producto de fermentación, 135, 137, 464, 493, 680, 682
Lactobacillus, 46, 120, 494, 496, 680, 723, 831, 905, 910, 1163, 1167, 1168
Lactobacillus acidophilus, 495, 914, 915
Lactobacillus brevis, 496, 870
Lactobacillus delbrueckii, 495
Lactobacillus plantarum, 119
Lactococcus, 494, 495, 1163
Lactococcus lactis, 494, 495
Lactoferrina, 918
Lactoperoxidasa, 906
Lactosa, 822, 1167
captación (entrada), 83
metabolismo, 713, 715
lacZ gen, 363, 856
lacZ′ gen, 374
Lago, 753, 773
alcalino, 541
contenido en oxígeno, 753
estratificación, 753
eutrófico (rico en nutrientes), 754
hipersalino, 541
meromíctico, 444
recambio, 753
salado, 182, 541
salino, 514
Zugm, 543
L-Alanina, 86
Lamelas, fotosintéticas
membrana, 512, 648
Lámina beta, 67, 68, 177
Laminarina, 713
Laminarinasa, 713
L-Aminoácido, 67
Lamivudina (3TC), 888, 1112
Lámpara germicida, 320
Lamprobacter, 444
Lamprocystis, 444
Lancefield, Rebecca, 495
Landsteiner, Karl, 24
Larvicida, 497
Lavarse las manos, 1016
Lazo anticodón, 215
Leche
pasteurización, 869, 1047, 1056, 1086
productos lácteos fermentados, 1167
Lecho de roca, 754
Lecitinasa, 921, 923
Lectina, 805, 984
Lederberg, Joshua, 25
Leeuwenhoek, Antoni van, 11, 23, 24, 472, 582
Leghemoglobina, 803
Legionella, 442, 1151
Legionella pneumophila, 1026, 1032, 1038, 1045, 1062, 1077
Legionelosis (enfermedad de los legionarios), 1026, 1057, 1152
Legumbre, 9, 670, 791, 806, 807
nódulos de raíz, 803-808
nódulos de tallo, 807
Leishmania donovanii, 1038
Leismaniosis, 1038, 1044
Lentes oculares (microscopio), 29, 30
Lentinus edulus, 840
Lepra, 978, 1019, 1057, 1059, 1085-1086
tuberculoide, 1085
Lepromina, 1019
Leptonema, 527, 529
Leptospira, 527, 529
Leptospira biflexa, 529
Leptospira interrogans, 529
Leptospirillum, 535
Leptospirillum ferrooxidans, 551, 663, 778, 783
Leptospirosis, 527, 529
Leptothrix, 442, 475, 476, 778
Leucemia, 1063
Leucina
código genético, 212
estructura, 65
fermentación, 679, 684
síntesis, 149
Leucocidina, 921, 923, 941, 1095
Leucocitos, 936, 937, 938-939, 962, 965, 981
polimorfonucleares (PMN), 839, 962, 981
Leuconostoc, 120, 494-495, 680, 1163
Leuconostoc mesenteroides, 121, 715
Leucothrix, 442
Leucothrix mucor, 87
Levaduras, 8, 234, 593, 594, 595, 598-600, 605, 680
alimentaria, 839
alimento deshidratado, 839
ciclo de vida, 601
de la cerveza, 599
de la fermentación alta, 833
del panadero, 599, 839
deshidratada como suplemento alimentario, 838-839
en cervecería, 595, 599
fermentación, 136
alcohólica, 829-836
alta (cervezas ligeras, tipo *ale*), 832
baja (cervezas rubias, tipo *lager*), 832
genética, 234
genoma, 386, 389
hifas de tipos sexuales diferentes, 601
mitocondria, 388
nutricional, 839
panadería, 595, 599, 839
pastillas comprimidas, 840
patogénica, 1136
producción industrial, 839-840
salvaje, 831
solutos compatibles, 183
transfección, 365
usos industriales, 839
vectores de clonación, 370, 371
Levanos, 495
Licencia, 952
Licopeno, 646
Licor de maceración del maíz, 812, 822, 824
Ligadores, DNA, 349
Ligando CD40L, 998
Lignina,
catabolismo de, 453
degradación, 510, 593, 773, 792
Lincomicina, 818, 880
Lindano, 787
Línea
celular permanente, 280
de identidad parcial, 1023
de identidad, 1023
Linfa, 931, 936
Linfocina, 999
Linfocitos, 937, 939, 962, 966, 981
reordenamiento génico, 991
T, 951-953
citotóxicos (CTLs). *Véase* Células T citotóxicas
subpoblaciones, 967
Linfogranuloma venéreo, 517, 1100, 1104
Linfoma, 1063
de Burkitt, 631, 1038
Liofilización (congelación-deshidratación), 1164-1181
Lipasa, 717-718, 853, 922, 939, 1095
aplicaciones industriales, 826
Lípido A, 90, 91, 928
Lípido tetraéter, 551
Lípidos, 4, 58, 59, 60
Archaea, 80-81, 410
Bacteria, 410
complejos, 62
de dibifitanil tetraéter, 567
estructura, 62, 63, 80
hidrólisis, 717-718
hipertermófilos, 567
metabolismo, 717-718
naturaleza anfipática, 62
propiedades químicas, 62
síntesis, 149
Thermomicrobium, 531
unión éter, 80, 533, 534, 552
Lipoglicano, 501, 551
Lipopolisacárido (LPS), 87, 90, 91, 944, 965, 966, 984, 985, 1097
endotoxina, 927-928
química, 90
Líquen, 52, 515, 595, 798
Lisina
código genético, 212
estructura, 66, 88
fermentación, 680
industria alimentaria, 824
peptidoglicano, 86, 88
producción comercial, 824
síntesis, 147
Lisis, 89, 279, 280, 282, 294, 295, 959, 961, 1022, 1044
autolisis, 159
celular. *Véase* Lisis
fase de muerte, 165
Lisogenia, 292, 293, 295, 302, 330
Lisogenización, bacteriófago lambda, 329-330
Lisógeno, 292, 302
Lisosoma, 578, 605, 626, 940
Lisozima, 89, 127, 279, 849, 906, 931, 939, 954
T4, 292
Listas, 586
Lister, Joseph, 16
Lister, Robert, 24
Listeria, 495-496, 1163
Listeria monocytogenes, 496, 869, 952, 1038, 1169, 1178
Listeriosis, 496, 1083, 1178, 1181
Lixiviación. *Véase* Lixiviación microbiana
Lixiviación microbiana, 779, 781-783
cobre, 781-782
oro, 782-783
uranio, 782-783
Localización informática de la pauta de lectura abierta, 355
Locus MAT, 599
Longitud de onda, flagelos, 106
Lopinavir, 888
LPS. *Véase* Lipopolisacárido
LPS-unión a proteína (LBP), 985
LTR. *Véase* Extremos repetidos largos
Luciferasa, 256, 363
bacteriana, 467-468
Lúpulo, 832
Lupus eritematoso sistémico, 975, 978
Luria, Salvador, 24
Luteolina, 806
luxABPE genes, 433
luxCDABE genes, 469
Luz,
fuente de energía, 43
ultravioleta (UV) germicida, 869
Lwoff, Andre, 25
Lyngbya, 512
Lyngbya majuscula, 75

Machupo hantavirus, 1067
Macleod, Colin, 24
Macrociste, 591
Macrófagos, 920, 937, 939, 940, 943, 965, 966, 981
activación, 952-953
CD4, 1108
Macrólidos, 886
Macromolécula, 4, 37, 56-71
ácidos nucleicos, 63-65
aminoácidos, 65-67
carbono como principal componente, 57
de información, 192, 224
generalidades, 58-60
hipertermófilos, 566, 567
inmunógenos, 946-947
lípidos, 62-63
localizaciones en la célula, 58-59, 60
polisacáridos, 60-61
proteínas, 67-70
desnaturalización, 69-70
estructura muy ordenada, 68-69
estructura primaria y secundaria, 67-68
uniones químicas, 56-57
Macromoléculas
de fosforilcolina, 983
de la información biológica, 63-70, 192, 224
no infectivas, 60-63
Macronúcleo, 585
Macronutriente, 118-119
Macroorganismos, 2
Maduración
de afinidad inmunoglobulina, 993
de proteínas, fago MS2, 608, 609
Magnesio, 119

www.medilibros.com

Magnetobacterium bavaricum, 75
Magnetosoma, 97, 400, 473
Magnetospirillum, 400, 473
Magnetospirillum magnetotacticum, 97, 473
Magnetotaxis, 98, 473
Malaria, 587, 863, 932, 1032, 1038, 1044, 1046, 1048, 1051, 1057, 1060, 1065, 1129-1132, 1140
  diagnóstico, 1130
  endémica, 1130
  epidemiología, 1129-1130
  erradicación, 1131
  evolución de los humanos, 1131-1132
  patogénesis, 1129-1130
  tratamiento, 1130
Malassezia, 905, 906
Malation, 787
Malato, 143, 694, 712
  bioquímica y fijación de nitrógeno, 806
  fermentación, 679
  metabolismo, 716, 717
  síntasa, 716
malE gen, 847
Malil CoA, 712
Mallon, Mary, 1047
Malonato, 149, 686-687
Malonil-ACP, 149
Malonomonas, 686, 687
MALT. *Véase* Tejido linfoide asociado a
Malta (cerveza), 832
Maltosa-unión a proteína, 847
Manano-unión lectina (MBL), 983
  vía, 862
Mandíbula, 925, 1139
Manganeso
  función celular, 120
  reducción, 704
Manipulación de alimentos, 1047, 1173, 1174
Manitol, 183, 184
Manual de Bergey, 436
Mapa. *Véase* Mapa genético
Mapa de restricción, 346, 376
Mapa genético
  øX174, 610
  bacteriano, 305-308
  bacteriófago MS2, 609
  bacteriófago Mu, 616
  bacteriófago T7, 613
  cromosoma artificial bacteriano, 374
  Escherichia coli, 305-308
  MHC, 988
  mitocondria, 386
  plásmido F, 331
  plásmido R100, 310
  retrovirus, 297
  SV40, 630, 631
  TMV, 619
  VP1, VP2, VP3, 630
Mapeado genético de la conjugación, 305, 331-332
  transducción, 305
  transformación, 305
Mapeado óptico, 347
Maquinaria bioquímica, 818
Mar abierto, 759-764
Mar Muerto, 542, 543
Mar Sargazo, 736
Marcador seleccionable, 325, 350
Marcadores genéticos, 312
Marcaje celular, proteína de fluorescencia verde como, 729
Marchitez (*Ralstonia solanacearum*), 457
Marco de lectura abierto (ORF), 214, 224, 305, 355, 380, 381, 389
  no caracterizado, 384
Mareas rojas, 586
Margas, 755
María la Tífica, 1047
Marichromatium, 444
Marisco, virus de la hepatitis A, 1097-1098
Marismas, metanogénesis, 772, 774
Marshall, Barry, 25, 489, 1097
Más (positiva)-cadena de ácido nucleico, 285-286, 608, 619-623
Masa celular (hongos mucosos), 590-591
Máscaras, 1046, 1084
Mastitis, 495, 1078
Materia orgánica
  aloctonos, 747
  hábitat acuático, 752-754
  marino, 776
Matraz de laboratorio, 817
Matriz
  extracelular (ECM), 580, 605
  mitocondrial, 574
  y espacio, 643
Máxima similitud, 421
McCarty, Maclyn, 24
McClintock, Barbara, 25, 339
MCP. *Véase* Proteína de la quimiotaxis aceptora de metilos
Mecanismos de unión del DNA, 992
Medida de la actividad microbiana, 736-741
  control de las células muertas, 737
  ensayo químico, radioisótopos y microelectrodos, 736
  métodos de isótopos estables, 739-741
Medidas de la turbidez, 171-172
  curva estándar, 171-172
Medio. *Véase* Medio de cultivo
Medio complejo, 121, 122, 152
Medio de crecimiento, 1005
Medio de cultivo, 121-124, 152
  complejo, 121, 152
  de enriquecimiento, 122
  definedo, 121, 152
  diferencial, 121, 1011
  esterilización, 123
  gel (semisólido), 123
  líquido vs., 123
  proceso industrial, 812
  selectivo, 121, 1011
  sólido, 20
  tampons, 182
  test para una droga antimicrobiana, susceptibilidad, 1013-1014, 1015
  tipos, 1005
Medio de enriquecimiento, 122, 1005, 1039
Medio definido, 121, 152
Medio diferencial, 121, 1005, 1011, 1039
Medio general, 1005, 1039
Medio HAT, 1021
Medio Lowenstein-Jensen, 506
Medio modificado de Thayer-Martin (MTM), 1087
Medio selectivo, 121-123, 1005, 1010, 1039
Médula ósea, 936, 938, 957, 962
Megasphaera, 791
Megasphaera elsdenii, 792
Meiosis, 40, 234, 244
Mejillones, simbiontes metanotrofos, 455
Melioidosis, 458, 1067
Melittangium, 482
Membrana celular. *Véase* Membrana citoplasmática
Membrana citoplasmática, 4, 37, 90-591
  acidófilo abligado, 181
  Archaea, *80*
  barófilo, 764
  barrera de permeabilidad, 81
  barrera selectiva, 78
  composición química, 78
  daño por el complemento, 959
  esteroles y hopanoides, 79
  estructura, 78-81, 879
  fluidez, 78, 174
  función, 81-82
  micoplasma, 501
  psicrófilo, 177
  rigidez, 78
  transporte a su través, 81, 82
Membrana del virus, 278
Membrana externa, 85, 90-92
  bacteria gramnegativa, 90-92
  cloroplasto, 576
  Deinococcus, 529-531
  Ignicoccus, 562
  mitocondria, 573, 574
Membrana fotosintética, 643, 648, 649, 651
  cianobacterias, 511
Membrana interna
  cloroplasto, 575, 576
  mitocondria, 573, 574
Membrana mucosa, 904, 933
Membrana no unitaria, 98
Membrana nuclear, 573
Membrana periodontal, 907
Membrana roja, 545
Membrana semipermeable
  enzimas de inclusión, 828
Membrana unitaria, 78
Memoria (memoria inmunitaria), 945-946, 957-959, 962, 966, 981
  producción de anticuerpos y, 957-958
Meninges, 1086
Meningitis, 493, 1019, 1038, 1044, 1046, 1057, 1062, 1063, 1071, 1095, 1115
  diagnóstico, 1087
  epidemiología y patología, 1087
  meningocócica, 1086-1087
  otras causas, 1087
  prevención y tratamiento, 1087
Meningococemia, 1086-1087, 1115
Meningoencefalitis, 1152, 1158, 1159
Menopausia, 915
Menos (negativo)-cadena de ácido nucleico, 285-286, 623-626
Mensajero RNA (mRNA), 65, 192, 224
  aislamiento del gen en mamíferos, 844-845
  caperuza, 239
  clases, 632
  cola poli-A, 239, 424
  edición RNA, 388
  estructura tallo-bucle, 271
  eucariótico, 236
  interacciones rRNA, 219
  interruptores, 268-270
  policistrónico, 211, 217, 242, 251, 305, 620
  posibles marcos de lectura, 213
  procariótico, 211
  procesado RNA, 237-240
  sitio de unión al ribosoma, 217
  traducción, 217-220
  transcripción, 206
  inversa *in situ*, 731
  virus-específico, 286
mer genes, 784
Mercúrico reductasa, 784
Mercurio, 783, 876
  orgánico, 876
Merecer la pena (fermentación maloláctica), 832, 833
Merismopedia, 512
Merodiploides, 336
Merozoito, 1129-1130
merTP, 784
Meselson, Matthew, 25
Mesófilo, 174, 189
Mesoplasma, 501
Mesorhizobium, 803
Mesorhizobium loti, 804
Mesostigma viride, 386
Metabolismo, 4, 5, 118, 152
  asimilador, 690-692
  sulfato reducción, 693, 694
  células primitivas, 409-411
  complementario, 749
  de compuestos de un carbono, 453
  del hexano, 706
  desasimilador, 691, 692
  reducción de nitrato, 691-693
  reducción de sulfato, 693, 694
  energético *Crenarchaeota*, 557
  temperatura límite superior, 568
  quimiolitotrófico, 144, 411
Metabolito, 854
  primario, 813-814, 841
  secundario, 396, 813-814, 841
  sobreproducción, 813
Metaboloma, 395-396, 403
Metabolómica, 25, 395-396
Metaclorobenzoato, 706
Metagenoma, 401, 402, 403, 736, 853
Metagenómica, 402, 735-736, 853. *Véase también* Genómica ambiental
  vírica, 402

www.pdfbooksfree.com

Metales traza, 119-120
Metallosphaera, 558, 559, 658
Metano, 7, 10
  ciclo del carbono, 770, 771
  composición isotópica del carbono, 739
  metabolismo anaeróbico, 772
  monooxigenasa, 453, 454, 711
  oxidación, 453, 711
    anóxica, 708-709, 772
  producción en el rumen, 790, 791
  producto de la fermentación, 688
Metanocondroitina, 548
Metanofenazina, 702
Metanofurano, 698, 699
Metanogénesis, 546, 688, 697, 698-702, 719, 771, 772
  a partir de compuestos metil y, 700
  autotrófico, 701
  conservación de la energía, 701-702
  energética, 698, 701-702
  global, 772
  redox coenzimas, 699
  reducción del dióxido de carbono a metano, 700
  sulfidogénesis vs., 774
  sustratos, 549
  transportadores de C_1, 697-698
Metanógeno, 49, 221, 540, 569, 574, 697, 698
  acetotrófico, 549, 697
  árbol filogenético, 423
  Archaea, 546-550
  autotrófico, 701
  características, 547
  ciclo del carbono, 770
  coenzimas, 698-699
  cultivo de enriquecimiento, 723
  dióxido de carbono-tipos de sustrato, 549
  diversidad, 546
  endosimbiótico, 585
  fisiología, 546
  fuentes hidrotermales, 794, 795
  hábitats, 546-547
  halofílico, 539
  intestinal, 910-911
  metano a partir de compuestos metil y acetato, 700-701
  reducción de dióxido de carbono a metano, 699
  rumen, 790
  subsuperficie profunda, 758
  sustratos, 549
    metil, 549
  transformación el mercurio, 783
  tratamiento de aguas residuales, 1146
Metanógenos, 7, 93
Metanol, 453, 478, 479, 549, 711
  conversión a metano, 701
  fermentación, 680
Metanopterina, 699
Metanotiol, 777
Metanotrofo, 453-456, 490, 708, 711-713, 719
  aislamiento, 455
  bacterias formadoras de nitroso, 455
  bioquímica, 711
  características, 454
  ciclo de la ribulosa monofosfato, 454
  clasificación, 454-455
  ecología, 455
  membranas internas, 453-454
  oxidación del metano, 453-454
  reacciones aeróbicas y bioenergética, 711
  simbiontes de animales, 455
  vía de la serina, 454
Metchnikoff, Elie, 24
Methanobacterium, 93, 422, 539, 546, 547, 670, 772
Methanobacterium formicicum, 185, 700
Methanobacterium thermoautotrophicum, 338
Methanobrevibacter, 547, 772, 905, 909
Methanobrevibacter arboriphilus, 547
Methanobrevibacter ruminantium, 547, 792
Methanobrevibacter smithii, 911
Methanocaldococcus, 539, 547, 548, 558, 670
Methanocaldococcus jannaschii, 380, 381, 541, 548-550
Methanococcoides, 547
Methanococcus, 338, 422, 547, 670
Methanococcus jannaschii, 94
Methanococcus maripaludis, 259
Methanocorpusculum, 547
Methanoculleus, 547
Methanofollis, 547
Methanogenium, 547
Methanohalobium, 547
Methanohalophilus, 547
Methanolacinia, 547
Methanolobus, 547, 670
Methanomicrobium, 547
Methanomicrobium mobile, 792
Methanoplanus, 547, 548-549
Methanopyrus, 48, 422, 539, 540, 547, 552, 558, 796
Methanopyrus kandleri, 38, 552
Methanosaeta, 547, 697
Methanosaeta thermophila, 548
Methanosalsum, 547
Methanosarcina, 93, 338, 422, 539, 547, 670, 697
Methanosarcina acetivorans, 380
Methanosarcina barkeri, 547, 700, 723
Methanosphaera, 547
Methanospirillum, 539, 547, 670
Methanospirillum hungatii, 547
Methanothermobacter, 547
Methanothermobacter thermoautotrophicus, 328, 380
Methanothermococcus, 547
Methanothermus, 539, 547, 558
Methanothermus fervidus, 548, 567
Methanotorris igneus, 548
Methanotorris, 547
Methylobacter, 442, 454
Methylocella, 454
Methylococcus, 442, 454, 670
Methylococcus capsulatus, 454, 711
Methylocystis, 442, 454
Methylomicrobium, 454
Methylomonas, 442, 454, 670
Methylophilis, 442
Methylosinus, 454, 670
Meticilina, 884, 1015
Metil catecol
  2,3-dioxigenasa, 710
Metil reductasa, 700
Metil transferasa, 620
Metilación, 784
  DNA, 284, 346
Metilamina, 453, 478, 549
  metiltransferasa, 221
Metilasas, 893
Metil-CoM reductasa, 554
Metileno tetrahidrofolato, 712
Metilguanosina, 215
Metilinosina, 215
Metilisotiazolinona, 876
Metilmalonil-CoA, 657, 685
Metilmercaptano, 499, 549
Metilmercurio, 784
Metilotrofo, 453, 490, 711-713, 719
  fuentes hidrotermales, 793, 795
  sustratos, 453
1-Metilpentilsuccinato, 707
Metionina
  código genético, 212
  estructura, 65
  fermentación, 680
  industria alimentaria, 824
  síntesis, 148
Método de burbujeo, producción de vinagre, 837
Método de dilución del agar en tubo, aislamiento de cultivo puro (axénico), 725
Método de goteo, producción de vinagre, 836-837
Método de Orleans, 836
Método de siembra en estría en superficie (en placa), 818
Método de vertido en placa (o en profundidad), recuento de viables, 169
Método Etest, 1014, 1015
Métodos de diagnóstico
  ácidos nucleicos, 1035-1037
  dependiente de crecimiento, 1004-1018
  ELISA, 1028-1033
  inmunodiagnóstico, 1018-1035
  inmunotransferencia, 1033-1035
  radioinmunoensayo, 1032-1033
  test con anticuerpos fluorescentes, 1025-1028
  test de aglutinación, 1018
  test susceptibilidad a los antimicrobianos, 1013-1015
Métodos de dilución, 725
Métodos de tinción celular, 721
Métodos químicos automatizados, 896-897
Métodos radioisotópicos, 736-739
Metronidazol, 1106, 1155
Mevinolina, 338
Mezclar, 832
MHC proteínas. *Véase* Complejo principal de histocompatibilidad
MIC. *Véase* Concentración mínima inhibitoria
Micelio, 507, 593, 594, 601, 840
Micobacteria ácido alcohol resistencia, 504-506
  características, 505-506
  crecimiento lento, 505
  crecimiento rápido, 505
  morfología colonial, 505, 506
  pigmentación, 505
  tinción de Gram, 505
Miconazol, 890
  nitrato, 1138
Micorrizas, 595, 799-801
Micosis, 595, 1137-1139, 1140
  sistémica, 1138
  subcutánea, 1138
  superficial, 1137, 1138
Micotoxina, 1136
Micrasterias, 603
Microaerófila, 185, 186, 189
Microambiente, 747-748, 766
Microautoradiografía (MAR), 737, 742
Microbiología
  acuática, 23
  agrícultura, 23
  agua de bebida, 23
  aplicada, 3, 22
  básica, 3, 22
  clínica, 1004
  como carrera, 11
  definición, 2-3
  de las aguas residuales, 1142-1160
    purificación (potabilización) del agua de bebida, 1149-1150
    salud pública y calidad del agua, 1143-1145
    tratamiento de las aguas residuales, 1145-1149
  de las profundidades marinas, 764-765
  de la superficie profunda, 757
  del suelo, 23
  general, 20-22
  historia, 11-26
  incorporación molecular, 24-25
  industrial, 23, 811-841
  marina, 23
  médica, 22
  molecular, era de, 24-25
  nuevas fronteras, 25
  salud pública. *Véase* Epidemiología de las aguas residuales, 1145-1149
  siglo veinte, 22-26
  suelo, 23
Microbiota, normal, 903, 905-915. *Véase también* Órganos específicos
Microbispora, 508
Microbulbifer hydrolyticus, 731
Microcisto, 522
Micrococcus, 492, 493, 905, 1011, 1163
Micrococcus luteus, 185, 728
Microcoleus, 512

www.medilibros.com

Microcolonia, 749, 907
Microcystis, 99
Microdeleción, 316
Microelectrodo, 738-739, 742, 748
de oxígeno, 738
de sulfhídrico, 738
medición de la actividad microbiana, 736-739
Microfilamentos, 159, 578, 605
Microfósil, 407, 413
β-2 Microglobulina, 987, 988
Micrografía, 36
electrónica, 35, 36
Microindustria cervecera, 835
Microinserción, 316
Microinyección, 365
Micromanipulador, 738
Micromatrices (Microarrays o DNA chips), 391-394, 401, 734, 736
Micromonospora, 508
Micronúcleos, 585
Micronutriente, 118, 120
Microorganismos, 2, 745
agentes de enfermedad, 8-11
agricultura, 9
antigüedad y amplitud de la vida microbiana, 6-8
beneficios, 9-10
en la naturaleza, 747
impacto en las actividades humanas, 8-11
importancia, 3
industria alimetaria, 10
necesidades energéticas para la sociedad, 11
no cultivables
detección, 401
oxidadores de hidrocarburos, 786
oxidadores de petróleo, 785
Tierra primigenia, 406-407
utilizados en la industria, 812-813
cepas de elevado rendimiento, 821
manipulación genética, 812
propiedades de los microorganismos utilizados, 812
sobreproducción, 824
Microscopio
aumento, 29, 30
campo claro, 29, 30, 32
campo oscuro, 29, 32
confocal de barrido láser (CSLM), 34-35, 750
contraste de fases, 29, 32, 730
contraste diferencial (DIC), 33
de electrones, 29, 35-36
barrido, 35, 756, 873
transmisión, 35-37
de Hooke, 11
de Leeuwenhoek, 11
fluorescencia, 29, 32-33, 1025
fuerza atómica (AFM), 33
historia, 11-12
imagen tridimensional, 33-35
limitaciones, 729-730
óptico, 29-33
compuesto, 29-30
mejorando el contraste en, 30-33
resolución, 30
Microsporidia, 422, 581, 598, 1064
Microsporum, 1138
Microtúbulo, 159, 578, 605, 891
Miel, botulismo infantil, 1172
Mielomas, 1020
Milstein, Cesar, 25
Mimivirus, 626-627
Mín proteínas, 156
Minas
de carbón, 779
de cobre, 781
lixividado microbioano, 780
MinC, 157
MinD, 157
MinE, 157
Minerta
genómica medioambiental, 853
microbiana, 10
Miostatina, 857
Mitad de la reacción, 129
Mitocondria, 37, 389, 605
código genético, 214
DNA, 198, 576
efectos de los antibióticos, 576
estructura, 573-574
evolución, 414, 422
filogenia, 576
genoma, 386-387
mapa genético, 387
proteínas, 387-389
ribosomas, 576
Mitomicina, 319
Mitosis, 40, 234, 244
Mitosomas, 581
Mixobacterias
cuerpos fructíferos. *Véase* Cuerpos fructíferos en mixobacterias
deslizantes, 481-484
Mixospora, 481, 483, 484
Mixotrofo, 449, 490, 658, 675
Mobilización de cromosoma, 333-335
Moco, 798, 904, 931, 933
superficie celular, 624
Modelo, bacteriófago, 290
Modificación covalente, enzima, 151
Modificación de ELISA rápida, 1029, 1032
Modificación de ruta, 854-855
Modificación posttraduccional, 220, 247, 365, 852
Moho, 592-595, 1136
acuático, 587-588
del pan, 597
mucoso acelular, 590
mucoso celular, 590-592
Moldes, replicación, 199-200
Molécula, 56
anfipática, 62
no polar, 57, 59
polar, 57
testigo, 1035
Molibdeno, 120, 453, 461, 783
Molusco, protuberancia cristalina, 528, 670, 671, 672, 674
Monobactamo, 880
Monocapa, 280, 281
lipídica, 78, 79, 180, 567
Monocitos, 937, 939, 941
Monod, Jacques, 25
Monómero, 56, 58, 118
fragilidad por calor, 565
Mononucleosis, 1038
infecciosa, 631, 632
Monooxigenasa, 709-710
Monosacárido, 61
Monóxido de carbono, 142, 453, 549
deshidrogenasa, 120, 453, 672, 695, 697, 701
donador de electrones, 672
Montagnier, Luc, 25
Monuron, 787
Moorella thermoacetica, 697
Moraxella, 442, 462, 1011
Morbilidad, 1043, 1073
en América y África, 1059
Sida, 1052
Mosca Tsetsé, 584
Mosquito, 1064, 1065, 1129-1134
vector, 1048
Mostazas de nitrógeno, 319
Mosto (vino), 830
Motivo, 989, 1001
hélice-giro hélice, 248
Motor flagelar, 107, 257, 258
conmutador del motor flagelar, 106, 107
Movilidad
a tirones, 96, 110, 462
espiroquetas, 526
por deslizamiento, 105, 108-110, 481-484, 514
mecanismos, 110-111
procariotas, 105-115
rotatoria, flagelo, 107
Movimiento, 4. *Véase también* Movilidad
ameboide, 589-590, 605
características celulares, 4
microbiano, 105-115
flagelos, 105-109
fototaxis, 113
movilidad por deslizamiento, 110-111
quimiotaxis, 111-115
respuesta de comportamiento, 111-115
mRNA. *Véase* Mensajero de RNA
mRNA policistrónico, 212, 219, 242, 251, 306, 620
mRNA tardío, virus herpes, 632
mRNA temprano inmediato herpesvirus, 631
mRNA temprano retrasado, herpesvirus, 632
Mucor, 1163
Mucosas asociadas al tejido linfoide (MALT), 938, 939, 956, 957-958
Mucoso, 483, 484, 670, 672, 715, 1148
superficie celular, 624
Muermo, 457, 458, 1067
Muerte masiva de anfibios, 597
Muestras genitales, cultivo, 1008
Mullis, Kary, 25
Múltiple resistencia a, 309, 893, 896, 1055, 1064
Múltiple sitio de clonación, 350
Múltiple terapia de drogas, 1112
Mupirocina, 880
Mureína. *Véase* Peptidoglicano
Mus musculus, 390
Mutación, 77, 312-323, 342, 433-435. *Véase también* Tipos específicos de mutación
adaptiva, 416, 434
bases moleculares, 315-317
complementación, 336
configuración *cis*, 337
configuración *trans*, 337
de aminoácido, 315, 317, 342
de desactivación, 362, 390
de desplazamiento de lectura, 316, 317
de la reparación de errores del DNA, 320
Deinococcus radiodurans, 530
endosporas latente, 102-103
errores en la replicación, 205
espontánea, 315, 317, 342
genomas RNA, 318
hacia atrás (retromutación). *Véase* Reversión
hipermutaciones somáticas, 992
implicadas algunos pares de bases, 315-316
inducida, 315, 342
letal, 316
no seleccionable, 312-313
puntos calientes, 416
puntual, 315, 342
reversión, 316
transición, 316
transversión, 316
seleccionable, 312-314
silenciosa, 315, 317, 342
sin sentido, 315, 316, 317, 342
supresora, 317
tasa, 317
cambios en, 321
Mutagénesis, 318-322
carcinogénesis y, 322-323
casete, 361-362, 376
dirigida, 316, 356, 360-361, 362, 370, 376, 848, 850
por radiación, 319-320, 321
esterilización, 869-871
fuentes, 869
longitud de onda, 319
por transposición, 316, 341
transposón, 316, 341-342
Mutágeno, 318-320, 342
químico, 318-319
radiación, 319-320
test de Ames, 322
Mutante, 312-315, 342
aislamiento, 312-313
clases de, 314
con dos mutaciones, 325
inmóvil, 314
no encapsulado, 314
nutricional, 313-314
sensible a la temperatura, 314
sensible al frío, 314
sin pigmentación, 314
Mutualismo, 52, 745, 766, 803-808

www.pedidos.com

Myasthenia gravis, 977
Mycobacterium, 503, 504-506, 508, 722, 905, 1076, 1083-1086
Mycobacterium avium, 505, 506, 1038, 1083
Mycobacterium bovis, 505, 1085, 1086
Mycobacterium chelonae, 505
Mycobacterium flavum, 670
Mycobacterium gordonae, 452, 506
Mycobacterium kansasii, 505
Mycobacterium leprae, 238, 952, 1019, 1059, 1085-1086
Mycobacterium marinum, 506
Mycobacterium parafortuitum, 505
Mycobacterium phlei, 505
Mycobacterium smegmatis, 505, 819
Mycobacterium tuberculosis, 18, 19, 48, 381, 503, 505-506, 878, 904, 941, 952, 967, 971, 978, 1013, 1017, 1019, 1032, 1038, 1047, 1062, 1076, 1083-1086, 1132
  genoma, 381, 382
  resistencia antimicrobiana, 896
Mycoplasma, 46, 214, 381, 501-503, 905
Mycoplasma genitalium, 502, 1100
  genoma, 380, 381
Mycoplasma hominis, 1038
Mycoplasma mycoides, 502
Mycoplasma pneumoniae, 75, 1038
Myrica, 670
Myxococcus, 110, 111, 442, 481
Myxococcus fulvus, 483
Myxococcus stipitatus, 483
MyxococcusXanthus, 110, 382, 481, 484
Myxosarcina, 512

***N*- Acetilgalactosamina, 93**
^{15}N trazador, fijación de nitrógeno, 672
*N*10-Formiltetrahidrofolato, 680
N-3-Oxo-hexanoilhomoserina lactona, 469
N-Acetilglucosamina, 60, 86, 88, 89, 159, 806
N-Aceniltransferasa, 885
NADH, 140
  deshidrogenasa, 138
  en el ciclo del ácido cítrico, 142-144
  en la glicolisis, 134
  quinona oxidoreductasa, 141
NADP$^+$, 131-132
  en fotosíntesis, 641, 650
  en reacciones de oxidación-reducción, 132
  estructura, 131
  oxidación de ácidos grasos, 717
NADPH, 657
  ciclo de Calvin, 655-656
  vía de la pentosa fosfato, 715
Naegleria fowleri, 1152, 1158
Naftaleno, 708
  oxigenasa, 855
Nannocystis, 482
Nanoarchaeum, 554-556
  filogenia, 555
  genómica, 555
Nanoarchaeum equitans, 380, 381
Nanobacteria, 77
Naranja de acridina, 309, 660, 728, 742, 749
Nathans, David, 25
Natrialba, 543
Natrinema, 543
Natrococcus, 94
Natronobacterium, 49, 543
Natronococcus, 539, 543
Natronomonas, 543
Natronorubrum, 543
Nebulizador, 354
Negativo (menos) cadena
  negativa del virus RNA, 285-286, 302, 623-626
Neisseria, 327, 442, 462, 905, 918, 1011
Neisseria gonorrhoeae, 95, 122, 462, 885, 893, 915, 917, 932, 944, 1005, 1006, 1008, 1013, 1020, 1025, 1036, 1038, 1046, 1049, 1087, 1100, 1104
  identificación, 1008
  resistencia antimicrobiana, 892, 893, 895, 896
Neisseria meningitidis, 430, 971, 1009, 1019 1025, 1038, 1046, 1062, 1077, 1086-1087
Nelfinavir, 888, 1112
Neocallimastix, 792
Neomicina, 885, 892
  producción comercial, 818
  resistencia, 892
Netilmicina, 885
Neumonía, 493, 516, 632, 751, 1038, 1054, 1062, 1064, 1095
  Legionella, 1156-1157
  neumocócica, 1046
  pneumocócica, 972, 1080
  por pneumocistis, 1138
Neuraminidasa, 279, 624, 1092
Neurospora crassa, 598
Neurosporeno, 646
Neurotoxina, 514, 921, 1066
Neutralización, 1039
Neutrófilos, 181. *Véase* Leucocitos polimorfonucleares (PMNs)
Nevirapina, 888, 889, 1112
Nevskia, 477
N-Formilmetionina, 214
Niacina. *Véase* Ácido nicotínico
Nicho, 745-747, 751, 766
  principal, 748
Nicomicina Z, 890
Nicotinamida, 1084
nif genes, 513
nifHDK genes, 674
Niklen, Steven, 25
Níquel, 120, 452, 698, 783
Nirenberg, Marshall, 25
Nisina A, 311
Nistatina, 890
  producción comercial, 818
  síntesis, 814
Nitrapirina, 775
Nitrato, 119
  aceptor de electrones, 487, 662, 691
  ciclo del nitrógeno, 774
  reducción, 691-693
    asimilativa, 692-693
    desasimilativa, 692-694
  reductasa, 120, 692-693
Nitrificación, 21, 424, 663, 666-668, 675
  Archaea, 563
  bioenergética y enzimología, 666
  ciclo del nitrógeno, 774-775
Nitrito
  aceptor de electrones, 667, 692
  dador de electrones, 659, 666
  en alimentos, 1166
  oxidación a nitrato, 448
  oxidasa, 447
  oxidoreductasa, 667
  reductasa, 692
  sódico, 1165
Nitrobacter, 442, 446, 447, 722, 699
Nitrobacter winogradskyi, 447
Nitrococcus, 442, 447
Nitrofurano, 880
Nitrofurantoína, 1015
Nitrogenasa, 120, 461-462, 513, 669, 672-673, 675
  alternativa, 461-462, 671-672, 675
  ensayo, 672-673
  inhibición por el oxígeno, 461, 513, 803
  Streptomyces thermoautotrophicus, 672, 674
Nitrógeno
  aceptor de electrones, 690
  asimilación, 254
  atmósfera, 775
  ciclo del nitrógeno, 774-775
  ciclo redox para, 774
  en células, 119
  en la naturaleza, 119
  metabolismo en *Archaea*, 259
  producción en la desnitrificación, 692
Nitrosificantes, 666
Nitrosococcus, 442, 447
Nitrosoguanidina, 319
Nitrosolobus, 447
Nitrosomonas, 442, 446, 447, 666, 669, 774
Nitrosopumilus, 667
Nitrosopumilus maritimus, 563
Nitrosospira, 447
Nitrospina, 447
Nitrospira, 441, 447, 535, 666
Nitzschia, 588
Niveles de bioseguridad, 1017-1018
NNRTI (inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleósido), 888, 889, 899, 1112, 115
No utilización del carbón, 550
Nocardia, 507, 508, 722
Nocardia otitidiscaviarum, 346
Nocardicina, 814
nod genes, 806
Nodularia, 512
Nódulo. *Véase* Nódulo radical; pelo radical
  en el tallo, 807
  radical, 9, 721, 803-809
    bioquímica del nitrógeno, fijación, 806
    formación, 804-805, 806
    genética de la formación de nódulos, 806-807
    simbiosis, 401
    unjación e infección, 804, 805
  raíz, 9
Nomenclatura, taxonómico, 435-437
Nopalina, 801
Norfloxacina, 893
Norovirus, 1152, 1169, 1179
Nostoc, 512
NotI, 346
Novobiocina, 197, 338, 814, 880
NRTI (inhibidores de la transcriptasa inversa nucleosídicos), 899, 1112, 1115
N-SER/THR, 775
Nucleasa, 922, 939
Núcleo
  célula, 3, 37, 39-41, 605
    estructura, 572-573
    eucariótico, genes derivados de bacterias, 576
    función, 573
  de la endospora, 101-104
  de polisacárido, 90, 928
  herpesvirus, 631
Nucleocápsida, 277, 278, 298, 302, 624, 631, 632, 639
Nucleoide, 3, 39-40
Nucleolo, 573
Nucleomorfo, 391
Nucleósido, 63
Nucleosomas, 227, 233, 234, 244, 567
Nucleótido, 58
  estructura, 63, 64
  función, 63
  metilado guanina, 239
  regulatorio, 261, 272, 273
  síntesis, 148
Número
  de células, tipos de mediciones, 165, 170, 728
  de copia, 308, 350
Nutrición, 118-121
  animales alrededor de las fuentes hidrotermales, 794-795
Nutriente, 118-121
  gelatina, 18, 19
  limitante, quimiostato, 165, 166
  niveles en la naturaleza, 748
  reciclaje, 10
  suelo, 756
Nyctotherus ovalis, 576

Objetivo (lente microscopio) inmersión, 29, 30
Océano. *Véase* Profundidades marinas
  abierto, 759-764
  metanogénesis, 774
  microbiología de las profundidades marinas, 764-765
Oceanospirillum, 442, 472

www.editorial.com

Ochromonas, 588
Ochramonas danica, 575
Octenidina, 876
Oenococcus, 831
OH-esferoidenona, 646
Oligosacárido, 61
Oligotrofos, 753, 762, 766
Olor axilar, 905
OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man), 859
onc genes, 802
Oncogen, 801
Oomicetos, 587-588
OPA (ortofalaldehído), 877
Operador *lac*, 369
Operador, 270, 369
Operón, 211, 224, 251, 272, 306, 307
  bio, 294
  de la maltosa, 252
  gal, 294
  his, 271
  lac, 250, 252, 260-261, 369
  Lux, 256
  mer, 784
  moa, 294
  promotor *trp*, 369
  regulones vs., 253
  treonina, 306
  trp, 271, 272
Operones
  de los pili, 1066
  Pyr, 272
Ophiostoma ulmi, 595
Opina, 801
o-Polisacárido, 90, 928
Oporto (vino), 830
Oportunista, 458, 598
Opsonización, 943, 959-960, 968, 1022
Oquenona, 646
ORF.*Véase* Marco de lectura abierto
  funcionales, 355
Organismo
  facultativo, 189
  indicador, 1143
  multicelular, 3
  piogénico, 941
  sésil, 173
Organismos
  genéticamente modificados (GMO), 844, 854, 864
  planctónicos, 98, 173, 563
  psicrotolerantes, 177, 189, 764, 1163, 1178
  transgénicos, 854-863, 864
    modificado genéticamente, 855-858
    vía modificada, 854-855
Organización Mundial de la Salud (OMS), 620, 1056, 1059
Órganos linfoides
  primarios, 939, 962
  secundarios, 939
Orgánulos, 37, 573-575
  endosimbiosis, 414
  fermentativos, 574
  fotosintético, 575
  genomas, 385-389
  respiratorio, 573-575
Orientia tsutsugamuchi, 1126
Origen de la replicación, 201, 202, 629-631, 632
Orina, cultivo, 1006-1007
  oriS gen, 374
  oriT sitio, 333
Ornithocercus magnificus, 586
Ornitina, 513, 530
Oro, lixiviado, 782-783
Orthohepadnavirus, 1098
Ortólogos, 396-397, 403, 419
Ortomixovirus, 296, 623, 624, 1091
Orujo, 830
Oryza sativa, 386, 390
Oscillatoria, 47, 512, 514
Oscillatoria limnetica, 654
Oscillatoria princeps, 110, 512
Oscillochloris, 532
Oseltamivir, 888, 1094
Osmófilo, 183, 189
Ósmosis, actividad de agua, 182-184
Osmotaxis, 114
Osteomielitis, 493, 1095
Ostreococcus, 604, 761
Ostreococcus tauri, 390, 604
Otitis media, 517
Oxacilina, 884
Oxalacetato, 143, 146
Oxalato, 687
Oxalobacter, 442, 687-703, 723
Oxalobacter formigenes, 686, 687
Oxidación anoxigénica de metano, 708-709
Oxidación, 44
  β-oxidación, 707
  de fosfito, 696
  del hierro ferroso, 663-666, 778-779
Oxidasa terminal, 141
Óxido
  de etileno, 875, 876, 1165
  de hierro, 476
  de nitrógeno, aceptor de electrones, 691
  de propileno, 1165
  de trimetilamina (TMAO), 704, 705
  nítrico, 797, 941
    reductasa, 692, 693
  nitroso, 691-692
    reductasa, 692
Oxigenasa, 120, 709-710, 711, 719, 788
Oxígeno
  aceptor de electrones, 690, 709
  acumulación en la atmósfera, 410, 412, 423
  condiciones de cultivo, 185-186
  crecimiento y, 184-186
  formas tóxicas, 187, 646, 941
  fraccionamiento de isótopo estable, estudios, 742
  inhibición de la nitrogenasa, 513, 674, 803
  lagos, 753
  macronutriente, 119
  microambientes, 747-748
  muerte por fagocitosis, 941
  partícula de suelo, 748
  producción en la fotosíntesis, 641
  reactante en bioquímica, procesos, 691, 709-710
  ríos, 753
  singlete, 186, 646, 941
  sistema de transporte de electrones, 140
  triplete, 186
Oxitetraciclina, 886
Oxotransferasa, 120
Ozono, 877, 1149

P870, 648, 649
Pace, Norman, 23, 50, 70
Paenibacillus, 497, 498
Paenibacillus larvae, 498
Paenibacillus polymyxa, 498
Paenibacillus popilliae, 497
Países desarrollados, enfermedades infecciosas, 1060, 1151, 1152
Palíndromo, 345
Palmitato, 62, 149
Pandémico, 1043, 1073
  gripe, 1092
Pangenoma, 401
Pantano, 755, 777
Papilomavirus, 278, 630, 1100
  humano, 974, 1038, 1063, 1100, 1106, 1115
Papovavirus, 296
PAPS. *Véase* Fosfoadenosina fosfosulfato
Par de bases complementarias, 64-65, 193-194, 205, 223, 268
Par especial, 648, 649
Parabasálidos, 581, 583
Paracoccus, 442, 451, 774
Paracoccus denitrificans, 140, 452, 692
Paracoccus pantotrophus, 661
Parainfluenza, 1026
Parálisis clonal. *Véase* Anergia clonal
Paralógos, 396-397, 403, 419
Paramecium, 51, 76, 214, 389, 583, 585
Paramecium bursaria chlorella virus 1 (PBCV-1), 627-628
Paramecium tetraaurelia, 390
Paramilón, 713
Paramixovirus, 296, 624, 1088
Parásito, 745, 766, 903, 933
  coevolution del hospedador y el parásito, 1051
  enfermedades transmitidas por los alimentos, 1179
  interacciones hospedador-parásito, 904
  intracelular. *Véase* Parásito intracelular
  intracelular estricto, 48, 469-471, 517
Paratión, 787
Paratosa, 90
Pardee, Arthur, 25
Pared celular, 3, 37
  Archaea, 90, 409
  bacteria, 409
    gramnegativa, 86, 87, 88, 91, 92
    grampositiva, 86, 87, 88-89, 92
  crecimiento intercalar, 477
  diatomeas, 588
  eucariótica, 580
  Halobacterium, 544
  hongo, 593
  Nanoarchaeum, 554
  oomicetos, 587
  procariótica, 86-94
  sin pared, 90
  síntesis, 159-161, 879, 884
  único punto (crecimiento polar), 477
Pareja fumarato-sucinatoe, 130
Parejas oxidación-reducción, 129-131
Pares
  de kilobases, 194
  de megabases, 194, 381, 403
Parsimonia, árbol filogenético basado en, 421
Partenogénesis, inducida por *Wolbachia*, 471
Partícula
  del suelo, 748, 756-757
  señal de reconocimiento (SRP), 222, 223
  similares a virus (VLPs), 974
  transductoras, 329, 330
Parvovirus, 296
  H-1, 277
Pásmido DNA de una cadena, 308
Pasteur, Louis, 11, 13-15, 23, 24, 66, 136, 869
Pasteurización, 14, 869, 899, 1164
  leche, 869, 1047, 1056, 1086
  origen, 869
  rápida, 869
  vino, 867
voluminoso, 868
Pastillas de levadura prensada, 839
Patata Amflora, 863
Patogénesis, 915
Patogenicidad, 903, 933
Patógeno, 9, 903, 933
  adherencia, 915-917, 920
  aislamiento de especímenes clínicos, 1004-1009
  asociado a un perfil molecular (PAMP), 940, 941, 965, 980, 983, 985, 1001
  asociado con los hospitales, 1055
  atenuados, 919
  colonización, 918
  crecimiento, 915, 918
  diferenciando cepas, 430
  entrada en el hospedador, 915-918
  erradicación, 1059
  especificidad de hospedador, 915-918
  especificidad de tejido, 915, 916, 932
  hospital, 1054
  identificación. *Véase* Métodos de diagnóstico
  invasión, 915, 917
  invasividad, 919
  localización en el cuerpo, 918
  oportunista, 598, 1054
  resistentes a los antibióticos, 895-896
  respuesta innata inmunitaria, 965
  toxicidad, 919
  virulencia, 918-926
Patógenos
  hospitalarios, 1055
  intracelulares, 1018
  oportunistas, 903, 930, 933, 1055

www.bibliosmos.com

saprofíticos, 1045
Pauta cero, 213
Pauta de lectura, 213-214, 217, 316
  abierta, 214, 305, 355, 381, 389
  no caracterizado, 384
PAV1, 618
PBP. *Véase* Proteína de unión a la penicilina
PCR. *Véase* Reacción en cadena de la polimerasa
  a tiempo real, 360, 1037
  repetitiva palindrómica extragénica (rep-PCR), 429
Peces, órganos de luz, 468
Pectina, 713, 791
Pectinasa, 713, 827
Pediculus humanus, 1124
Pediococcus, 494, 831, 1168
Pedomicrobium, 477
Pedúnculo, 477, 480-481
Pelagibacter, 762-763
Pelagibacter ubique, 75, 380, 762
Pelo
  radical, 760, 805
  sexual, 331
Pelobacter, 442
Pelobacter acetylenicus, 681
Pelobacter acidigallici, 681
Pelobacter massiliensis, 681
Pelochromatium roseum, 525
Penetración, virus, 282, 283-284
Penicilina, 94, 156, 157, 880, 884, 892, 895, 899, 1080, 1127
  biosintética, 821, 822, 841
  estructura, 884
  G, 822, 884, 892, 1015, 1087
  inhibición de la transpeptidación, 160-161
  mecanismo de acción, 884
  método de selección, 313
  natural, 821, 822, 841, 884
  producción comercial, 813, 818, 821-823
  resistencia, 892, 893
  semisintética, 821-822, 841, 884, 885, 886, 893
  tipos, 884
Penicilinasa, 893
Penicillium, 821, 893, 898, 1163
Penicillium chrysogenum, 813, 818, 821, 822, 884
Penicillium griseofulvin, 818
Penicillium roqueforti, 1167
Pentapéptido, 160
Pentosa, 60, 146, 147, 679
PEP. *Véase* Fosfoenolpiruvato
Péptido, 58
  complejo MHC, 967
  Ii, 949
  líder, 271
  señal, 847
  sitio (P-sitio), 218, 219
Peptidoglicano, 60, 67, 85, 86-88, 146, 515, 517, 519, 797, 965
  diversidad, 86-88
  estructura, 88
  síntesis, 156, 157, 159-161
Peptococcus, 492, 905, 910
Peptostreptococcus, 492, 905, 910
Percepción de quórun, 255-256, 272, 327, 469, 751, 798
Perfil de reconocimiento molecular (PRM), 940-941, 962, 965, 981, 983, 984, 985, 1001
Perfil del suelo, 755
Perforina, 949, 951, 952, 967
Período
  agudo, 1044
  de convalecencia, 1044
  de incubación, 1044
  de maduración, multiplicación vírica, 283
  eclipse, virus multiplicación, 282
  latente, multiplicación vírica, 282
Periplasma, 84, 92, 474
  Ignicoccus, 562
Permeabilidad, 81-82
Permeasa *lac*, 83
Permutación circular, DNA, 290
Peromyscus maniculatis, 1120
Peroxidasa, 120, 187, 188, 688, 1028
Peróxido de hidrógeno, 187-188, 578, 876, 939, 941
  esterilización en frío, 875
Peroxisoma, 578, 605
Perrin, David, 25
Pertussis (Tos ferina), 921, 1044, 1046, 1057, 1066, 1082-1083, 1115
Peso seco, 170-171
Peste, 1046, 1057, 1061, 1067, 1134-1136, 1140
  bubónica, 1134
  incidencia en Estados Unidos, 1136
  Negra. *Véase* Peste bubónica
  neumónica, 1135
  selvática, 1134
  septicémica, 1136
  vacuna, 271, 1060
Petri, Richard, 19
Petróleo, 176, 876
  biodegradación, 785-786
  producción microbiana, 786
Pez linterna, 468
Pfiesteria, 586
Pfiesteria piscicida, 586
pH, 189
  alimentos, 1163
  efecto en el crecimiento, 180-182
  gradiente, 140
  intracelular, 181
Phaeospirillum, 446
Phaeospirillum fulvum, 446
Phaeospirillum molischianum, 645
PHB. *Véase* Poly-β-hidroxibutirato
Photobacterium, 433, 442, 467-468
Photobacterium leiognathi, 2
Photobacterium phosphoreum, 468
Photoblepharon palpebratus, 468
Photorhizobium, 803-807
Physarum, 590
Phytophora, 758, 1163
Phytophthora infestans, 587
Picogramos, 119
Picornavirus, 296, 620, 1090
Picrophilus, 50, 539, 550, 551
Picrophilus oshimae, 181
Pie de atleta, 595, 1137-1139
Pielonefritis, 932
Piel
  anatomía, 906
  barrera para los patógenos, 931-932
  microbiota normal, 905-906
    residentes (innata), 905
    transeúntes (alóctonos), 906
Pigmentación, micobacterias, 506
Pigmento
  accesorio, 647
  antena, 644, 675
Pili, 95, 608, 916
  conjugación, 331, 333
  F, 331
  factor de colonización, 1066
  sexual, 331
Pino Monterey, 800
Pinta, 527
Pinus, 799
Pinus contorta, 800
Pinus radiata, 800
Pinus rigida, 800
Pinus thunbergii, 386
Pinzas láser, 726, 742
Pirellula, 519
Piridoxina, 911
Pirimidina, 63, 122, 679
  síntesis, 148, 149, 271
Pirita, 778, 782
  oxidación, 779
    ciclo de propagación, 779
    reacción iniciadora, 779
Pirógeno endógeno, 928, 944
Pirosecuenciación, 353-354
Pirrolisina, 220
  estructura, 65
Piruvato, 135, 137, 148, 486, 504, 549, 679, 682, 683, 685, 686
  carboxilasa, 716
  ciclo del ácido cítrico, 142, 143
  cinasa, 135
  descarboxilasa, 135
  donador de electrones, 694, 706
  ferredoxina oxidoreductasa, 574
  formato liasa, 135
  metabolismo, 710, 717
  oxidación, 574
  reducción, 137
Piscinas, enfermedades transmitidas por el agua de, 1151
Pistola de partículas (pistola génica), 365
Pityrosporum, 905
Pityrosporum ovalis, 906
Placa, 281
  Bdellovibrio, 474
  de agar sangre, 923
  de microtitulación, 1014, 1029, 1031
  de Petri, 19, 123
  dental. *Véase* Placa dental
  dental, 752, 907-908, 933
  viral (calva), 302
Plaguicida, 783
  biodegradación, 787-788
Planctomicetos, 668
Planctomyces, 47, 519-520
Planctomyces maris, 519
Planctomyces-Pirella grupo, 441
Plano de división celular, 156
Planococcus, 492
Planta piloto, 817, 841
Planta transgénica, 860-863
Plantensimicina, 880
Planticuerpo, 863
Plasma, 937, 962
Plásmido, 37, 40, 198-199, 308-312, 327, 342, 355, 423
  aislamiento, 308
  Col, 311
  conjugativo, 309, 323, 331-336, 608
  curación, 309
  de resistencia. *Véase* Plásmido R
  D-Ti plasmid, 860
  F, 305, 307, 331-336, 374
    integración, 333-335
    mapa genético, 331
    transferencia de genes cromosómicos, 335-336
  F′, 336, 374
  factores de virulencia, 1066
  grupos de incompatibilidad, 309
  halófilos extremos, 543
  ingeniería genética, 311
  integración en el cromosoma, 308
  mitocondrial, 387
  naturaleza física, 308
  número de copias, 308, 350
  pUC19, 350-351, 371
  R, 310, 458, 892
    mecanismo de resistencia mediada por, 892
    origen, 893
  R100, 311
  replicación, 308, 349-350
  resistencia. *Véase* Plásmido R
  resistencia a metales, 784
  Ri, 801
  significado biológico, 310-312
  Ti, 801, 860-861, 864
  tipos, 310-312
    de fenotipos, 310
  transferencia célula a célula, 309
  una cadena de DNA, 308
  vacunas DNA, 973
  vector de clonación, 349-351
  virulencia, 310
Plasmodesmata, 620
Plasmodio (moho mucoso), 590
Plasmodium, 391, 585, 587, 932, 1038, 1046, 1051, 1064
Plasmodium falciparum, 390, 391, 1129, 1130, 1131
Plasmodium vivax, 583, 863, 1129
Plásticos, 876
  biodegradación, 788
  fotobiodegradable, 788-789
  microbianos, 788-789
Plastocianina, 120, 653
Platensimicina, 898
Plegamiento de las proteínas, 565
Pleurocapsa, 512
Plomo, 783
PMN. *Véase* Leucocitos polimorfonucleares (PMN)

Pneumocystis carinii, 1019, 1038, 1064, 1107, 1138
Población, 6, 746
Poder
  eléctrico industrial, 876
  nuclear, 875
Podredumbre de la cebolla, 458
pol gen, 635
  retrovirus, 297, 298, 635, 637
Polaribacter, 521
Polaromonas, 442
Polaromonas vacuolata, 174
Poli-β-hidroxialkanoato, 96, 97, 133, 424, 655, 789
Poli-β-hidroxibutirato, 96, 133, 789
Poli-β-hidroxivalerato, 789
Polieno, 880, 890
Poliestireno, 788, 789
Polietileno, 788, 789
Polifosfato, 97, 472, 748
Poligalacturonasa, 713
Polimerasa (surgencias submarinas). *Véase* Polimerasa Pfu
Polimerasa Pfu, 358
Polimerización, uniones cruzadas
  enzimas inmovilizadas, 828
Polímero, 56, 57
  de cloro, 1150
  de reserva. *Véase* Almacenamiento de polímero
  purificación del agua, 1149-1150
  sintético
    biodegradación, 788
Polimixina, 458, 496, 814, 818, 880
Polimorfismo, 949, 989-990, 1001
  en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP), 429
  en la longitud de los fragmentos de restricción terminales (T-RFLP), 734
Polinucleótido, 63
Polio, 620, 971, 1051, 1056, 1059
Poliomavirus, 630-631, 1038
Poliomielitis, 1057
Poliovirus, 277, 285, 620-623, 1157
  estructura, 621, 622
  replicación, 621-622
Polioxina, 880, 890, 891
Polipéptido, 66, 67-71, 192
Polipropileno, 788, 789
Poliproteína, 621, 635, 639
Polisacárido, 4, 59, 60, 146, 748, 751
  complejo, 61
  estructura, 60-61
  metabolismo, 713-716
  síntesis, 146-147
Polisoma, 219
Poliuretano, 789
Polvo, en el aire, 1077
Polyangium, 482
Poner en peligro al hospedador, 930, 1054
Populus trichocarpa, 390
Porfirina, 138
Porina, 92, 765
  específica, 92
  inespecífica, 92
Poro nuclear, 573
  membrana, 572, 573
Portador, 1047
  agudo, 1047
  crónico, 1047
  electrón. *Véase* Enfermedades infecciosas, 913, 1043, 1073
Portaobjetos, 749
Porter, Rodney, 25
Posoconazol, 890
Postuados de Koch, 16-20
  morbididad, 1044
  mortalidad, 1042, 1043, 1059, 1073
  notificadas, 1058-1059
  reemergente, 1061-1067
  reservorio, 1045-1048, 1055-1056
  transmisión. *Véase* Transmisión de enfermedades a través del agua, 1151-1159
Postulados de Koch, 16-20
Potasio, 82
  requerimientos celulares, 119
  soluto compatible, 545
Potencial
  de reducción, 129, 152
  electroquímico, 140
PpGpp, 262-263
PRC cuantitativa (PCR cuantitativa a tiempo real, qrt-PCR), 358-359
Precauciones estandarizadas, 1099
Precipitación, reacción
  antígeno-anticuerpo, 1023-1024, 1039
Predador
  Bdellovibrio, 472-475
Prednisolona, 826
Prednisona, 826
Preferencia de codones, 214, 223, 355, 376
Prefiltro, 872
Pre-mRNA, 239
Prevalencia de una enfermedad, 1043, 1073
Prevotella, 905, 910
Prevotella ruminicola, 792
Primaquina, 1131
Primasa, 200, 205
  ϕX174, 610
Primosoma, 205
Prión, 300-302
  enfermedad transmitida por alimentos, 1180
Priones bovinos, 1064
Probiótico, 911, 933
Procariota, 37
  análisis con filochips, 734
  carencia de esteroles, 79
  composición química de la célula, 60
  cromosoma, 40, 198, 199, 305-308, 325
  diversidad, 45-51, 435
  DNA, 39-41
  en fuentes hidrotermales, 793-796
  especiación, 433-435
  estructura celular, 37, 38
  expresión de genes, 253, 267
  extremofílico, 45
  fósiles, 406
  genética, 192
  hospedador de clonaje, 364
  intercambio genético, 312, 323-341
  morfología, 75
  movilidad, 105-115
  mRNA, 211
  pared celular, 86, 94
  planctónico, 98
  producción de antibióticos, 885-887
  proteína que determina la forma celular, 157
  ribosomas, 217, 219
  tamaño celular, 75, 76
  traducción, 193
  transcripción, 193
  vector de expresión, 370
  virus. *Véase en el* (Dominio) *Bacteria*
Procedimiento en fase sólida, síntesis de DNA, 356
Procesado
  de proteínas, 238
  del RNA, 237-240, 244
Proceso de lodos activados, 1147-1148
Procesos industriales de antimicrobianos, 875
  biotransformación, 813, 825-826
  control y registro, 816
  fermentación a gran escala, 814-816
Procesos que requieren energía, 118
Prochlorococcus, 515, 516, 760, 762, 764
Prochlorococcus marinus, 380
Prochloron, 75, 515
Prochlorothrix, 515
Proclorófito, 515-516, 536, 760, 766
Procitita, 1104
Prodeciimiento dideoxi de Sanger, 352-353, 612
Prodigiosina, 467
Producción
  comercial de ácido aspártico, 824
    código genético, 212
  de biomasa, 10
Producto, 127
  de inhibición, 150
Productor primario, 752-753, 761, 766
  autótrofo, 44
Productos
  cárnicos, 1167, 1168
  de la fermentación, 135, 136, 137
  fermentados, 493, 681
  industriales, 812
    formación, 812-818
  lácteos, 10
    alterados, 1162
    fermentados, 1167
  químicos en el mercado, 812
Profago, 292, 309
  inducción, 293
Profundidades marinas, 765
Progesterona, 826
Prolina
  código genético, 212
  estructura, 65
  fermentación, 684
  síntesis, 147
  soluto compatible, 183, 184
Promotor, 207-208, 224, 260, 261, 270, 369-370, 849
  arqueas, 228, 229
  bacteriófago lambda, 295
  caja *Pribnow*, 209
  de crecimiento (aditivos alimentarios), antibióticos, 895
  de Lambda, 369
  eucariotas, 240-242
  firme, 209, 369
  fuerte, 209
  lac, 374
  región -35, 209
  tac, 369, 847
  trc, 369
  vector de expresión, 369-370
Propazina, 787
Properdina (factor P), 961
Propionato, 911
  cálcico, 1165
  fermentación, 772
  producción en el rumen, 790, 791
  producto de fermentación, 504, 680, 681, 771
  sódico, 1165
Propionibacterium, 504, 508, 680, 685, 823, 905, 906, 1167
Propionibacterium acnes, 906
Propionigenium, 504, 686, 698, 723
Propionigenium modestum, 686-687
Propionil fosfato, 679
Propionil-CoA, 680, 685
Proporción GC, 436, 438, 492
Prosteca, 477, 478-479, 480, 490, 519
Prosthecobacter, 477, 521
Prosthecochloris, 524
Prosthecomicrobium, 477
Proteasa, 263, 266, 841, 922, 939
  aplicaciones industriales, 826
  digestión, 848
  inhibidor, 888, 889, 897, 1112, 1115
  poliovirus, 620
  producción comercial, 826
  retrovirus, 297
  VIH, 897-898
  viral, 621
  virus-que codifica, 621
Proteasoma, 950
Protección conformacional, 671
Proteína, 3, 4, 5, 40, 56, 57, 59, 61
  1 quimioatrayente de macrófagos (MCP-1), 1000-1001
  A*, 610
  A, 610, 611, 1033
  ácida pequeña soluble de la espora (SASPs), 102, 867
  activadora, 252, 272
    de maltosa, 252
    por catabolito (CAP), 260
  amiloide del suero, 944
  B7, 997-998
  catálitica, 67
  CD28, 997-998

www.freelibros.com

CD4, 950
CD40, 998
CD8, 950
Che, 257
cI, 294, 295
cII, 294, 295
cIII, 294, 295
cinasa sensora, 273
C-reactiva, 944
cristalina, 497-498
CrtJ proteín, 650
CXCR4, 934
de atenuación Trp, 272
de fluorescencia verde, 363, 376, 742
  como marcador celular, 729
de fusión, 847, 857, 864
de la nucleocápsida, rabdovirus, 624
de la quimiotaxis aceptora de metilos (MCP), 257, 258
de lisis, fago MS2, 609
de membrana periférica, 78
de plegamiento, 221-222, 846
  de secreción, 222-223
  errónea, 301
de unión a cadena sencilla, 201, 202, 205, 324, 802
de unión a la penicilina (PBP), 156, 160, 884
de unión al DNA, 253, 326, 328, 567
  estructura, 248-249
  interacción con los ácidos nucleicos, 247
de unión periplasmática, 85
  dependiente de transporte, 85
del movimiento (MP), TMV, 619
desnaturalización, 69-70, 222
dominios, 68
enlaces de hidrógeno, 57, 67-68
estructura, 65-66, 67
  cuaternaria, 69
  primaria, 67
  secundaria, 67-68
  terciaria, 68, 69
exportadora, 85-86
gen A, 610, 611
hipertermófilos, 565
hipotética, 384
inhibitores de la síntesis, 883
integral de membrana, 78
  periférica, 78
  proteína de transporte, 82-86
LexA, 321
LuxR, 469
M, 1079
modificadas genéticamente, 844, 848-849
MotA, 292
movilidad, 111
MreB, 157, 158
MTH, 620
NrpR, 259
NtrC, 674
OmpC, 254
OmpF, 254
OmpH, 765
OmpR, 254, 856
Opa, 915
periplasmática, 78
plegamiento erróneo, 301
posttraduccional, modificación, 220
primaria, 235
RecA, 320, 324
receptora AMP cíclico (CRP), 260
reguladora, 247, 248, 267
represora, 250, 251, 272
  en *Archaea*, 259
Rho, 210
Sac7d, 567
SecA, 222, 223
secretora, 222
SelB, 221
síntesis, 37, 39, 212-223, 241, 880. *Véase también* Traducción, *Archaea*, 230
sistema proteico exportador TAT, 223
temprana, 302
terminal, 634
transmembrana, 92
transportadora de acilos, 149
Tus, 202
viral, 287-288
VPg, 620, 621, 622
Proteína de la cáprida
  fago MS2, 608
  poliomavirus, 630
  TMV, 619
Proteínas
  de adhesión, 917
  de corte y emplame, 238, 243
  de cubierta, rabdovirus, 624
  de choque térmico (calor) (HSP), 222, 263, 272, 581, 985
  de hierro no hemo, 138, 139
  de la fase aguda, 944, 983
  de mamíferos, modificadas genéticamente, 847
  de transporte
    aquaporinas, 81
    estructura y función de la membrana, 83
    necesidad, 82
    síntesis regulada, 82
  del complemento, 944
  específicas de virus, 278
  Fli, 107
  Fts, 156-157
  Gvp, 99
  hierro-azufre, 120, 139
    no hemo, 139
  hipotéticas, 384
  homodiméricas, 247, 345
  intermedias, bacteriófago T4, 290
  Mer, 784
  Mot, 107
  Nod, 806
  tardías, 302
    bacteriofago T4, 290
    virus, 287
  TCR, 993
Proteobacteria, 45-46, 422, 438, 442-490, 905, 909, 910
  bacterias aeróbicas de vida libre fijadoras de nitrógeno, 460-462
  bacterias del ácido acético, 459-460
  bacterias nitrificantes, 446-448
  bacterias oxidadoras de hidrógeno, 451-453
  bacterias oxidadoras del azufre y del hierro, 448-451
bacterias rojas del azufre, 444-445
bacterias rojas no del azufre, 445-446
enterobacterias, 463-467
grupo alfa, 389, 397, 442, 457, 460, 471, 472, 477, 762, 803
grupo beta, 442, 457, 460, 462, 472, 475, 477
grupo delta, 397, 442, 472, 475, 481, 705
grupo epsilon, 442, 472, 488-489
grupo gamma, 417, 442, 457, 460, 462, 463, 471, 472, 477
metanotrofos y metilotrofos, 453-456
morfología inusual, 472-481
Neisseria, Chromobacterium, y relacionados, 462-463
principales géneros, 442
pseudomonas y pseudomonadáceas, 456-459
ricketsias, 469-471
Vibrio, Aliivibrio, y *Photobacterium*, 467-469
Proteoma, 394, 403
Proteómica, 25, 394-395, 403
  estructural, 395
Proteorrodopsina, 545, 736, 762, 766
Proteus, 310, 465, 466, 905, 910, 911, 932, 1006, 1007, 1010, 1011, 1163
Proteus mirabilis, 466, 914, 1010, 1023
Proteus vulgaris, 346, 466, 1010
Protistas, 38, 51, 582-592, 605
  alveolados, 585-587
  amoebozoos, 589-592
  cercozoanos, 589
  diplomonadelos, 583
  enfermedades infecciosas, 1068
  enfermedades transmitidas por alimentos, 1179-1181
  estramenópilos, 587-588
  euglenozoanos, 583-584
  parabasalidos, 583
  radiolarianos, 589
  rumen, 792
Protoplasto, 89, 501
  espora, 104
  formación, 89
Prototrofo, 313
Protozoa. *Véase* Protistas
Protuberancia cristalina, molusco, 528
Protuberancias, herpesvirus, 631
Providencia, 465, 1011
Provirus, 298, 302, 635, 1108
PrP^{C}, 301, 302
PrP^{Sc}, 301, 302
Prueba
  cutánea, 978, 1018-1020
  en tiras
    bacteriuría, 1006
    sonda de ácidos nucleicos, 1037
  serológica, 1018
Prurito de atleta, 1138
Prusiner, Stanley B., 25, 301
Pseudanabaena, 512
Pseudomembrana, 1081
Pseudomonadáceas, 456-458, 682
  características, 456-458
  grupo acidovorans, 457
  grupo diminuta-vesicularis, 457
  grupo fluorescente, 457
  grupo pseudomallei-cepacia, 457
  grupo ralstonia, 457
  patogénicas, 458
  versatilidad nutritional, 457
Pseudomonas, 45, 182, 309, 328, 442, 451, 456-460, 467, 670, 681, 710, 722, 758, 774, 823, 905, 1006, 1007, 1011, 1010, 1011, 1163
Pseudomonas aeruginosa, 31, 34, 123, 173, 256, 399, 457, 458, 751, 784, 850, 893, 921, 924, 1005, 1008, 1014, 1055
  genoma, 379, 380
  resistencia antimicrobiana, 896
Pseudomonas carboxydovorans, 452
Pseudomonas fluorescens, 457, 722, 729
Pseudomonas marginalis, 458, 459
Pseudomonas putida, 457
Pseudomonas stutzeri, 457, 692
Pseudomonas syringae, 457, 458, 609
Pseudomureína, 93
Pseudoplasmodio, 590, 591
Pseudópodos, 589
Pseudouridina, 215
Psicrófilo, 44, 174, 176, 189, 764, 827
  adaptaciones moleculares, 177
Psitacosis, 516, 517, 978, 1046, 1057, 1067
PstI, 350
Psychroflexus, 177, 521
Pterina, 453
Puente
  de glicina, 160
  peptítico, 86, 88
puf genes, 650
puh genes, 650
Pulga de la rata, 1134
Pulque, 453, 1122
PulseNet, 1176
Pululanasa, 828
Puntos isoeléctricos, 394
Purificación del agua (potabilización), 1055, 1143-1150
Purina, 63, 122
  fermentación, 499, 679, 680
  síntesis, 148, 149
Puromicina, 220, 880, 883
Pus, 941
Putrefacción, 14, 499, 684
  suave, 458
Putrefacciones, 593
Putrescina, 499, 681, 685
PvuI, 346
Pyrobaculum, 558-559
Pyrobaculum aerophilum, 560
Pyrococcus, 398, 539, 540, 552, 558, 559, 703
  virus, 618
Pyrococcus abyssi, 618

www.libreriaeditorial.com

Pyrococcus furiosus, 188, 357, 552, 691, 702-703
Pyrococcus horikoshii, 380
Pyrococcus woesei, 828
Pyrodictium, 422, 423, 558, 559, 561, 565, 796
Pyrodictium abyssi, 566
Pyrodictium occultum, 561, 568
Pyrolobus, 48, 49, 422, 423, 558, 559, 561-562, 796
Pyrolobus fumarii, 174, 561, 562, 565, 568

Queso, 10, 1167
suizo, 504, 685
vegetariano, 750, 850
Quimera, como la célula eucariota, 414
Química combinatorial, 896
Quimioautotrofos, 22
Quimiocine, 943, 999-1001
Quimiolitoautotrofía, 662
Quimiolitotrofía, 21, 22, 49, 424, 448, 540, 658-659
energética, 658-659
Quimiolitotrofo, 43, 44, 144-145, 152, 446, 490, 675, 747, 758
autotrófico, 662
bacteria oxidadora de hidrógeno, 451-453
bacteria oxidadora de hierro, 448-451
bacterias nitrificantes, 446-448
bacterias oxidadoras del azufre, 448-451
estricto, 449, 452
facultativo, 449, 451
fuentes hidrotermales, 793
obligado, 449, 451
Quimioorganótrofo, 43, 45-46, 118, 145, 658, 696
Archaea, 540, 555
mediada en la naturaleza, 738
superficie profunda, 758
temperatura límite superior para el crecimiento, 568
Quimiorreceptor, 92, 112
Quimiostato, 165-167, 189
concentración limitante de nutrientes, 165, 166
densidad celular, 166
tasa de dilución, 166
usos experimentales, 166
Quimiotaxia, 73, 111-112, 257-259
técnica de estudio por capilaridad, 112-113
Quimiotrofos, 43
Quinacrina, 1155
Quinolonas, 880, 882, 892, 899
Quinona, 121, 138, 139, 140, 648, 649, 650, 651, 652, 659, 711
Quitina, 594, 605, 713, 890
Quitinasa, 713, 853
Quitosan, 595
Quitridiomicetos (quitridos), 597
Quitridiomicosis, 597
agente -*cida*, 873

Rabia, 16, 623-626, 851, 931, 1046, 1057, 1063, 1118-1120, 1140
Racemasa, 67
Rad, 870
Radiación electromagnética, 869
Radical hidroxil, 187, 320, 941
Radicales hídrido (H·), 869
Radicales libres, 320
Radioinmunoensayo (RIA), 1028, 1032-1033, 1039
directo, 1032-1033
Radiolarianos, 589
Radura, 1167
Raíces de cebada, 729
Raíces pilosas, 801
Raíz, comunidad microbiana, 749
Ralstonia, 442, 451, 456
Ralstonia eutropha, 451, 659
Ralstonia saccharophila, 457
Ralstonia solanacearum, 457
Raltegravir, 1113
Rama de patógenos especiales del Centro para el Control de Enfermedades y Prevención, 1120, 1121
Ratones *knockout*, 856
Ravuconazol, 890
Rayos
beta, 1166
cósmicos, 320
esterilización, 869, 870
gamma, 320
esterilización, 869
irradiación de alimentos, 1166
irradiación de alimentos, 1166
mutagénesis, 320
X del pecho, tuberculosis, 1084
Reacción antígeno-anticuerpo, 959, 1021-1024
Reacción cruzada, entre antígenos, 947, 1028
Reacción de aglutinación, 624, 1022, 1024-1025, 1039
directa, 1024
pasiva, 1024-1025
Reacción de iniciación, 779
Reacción de Knallgas, 451
Reacción de la tuberculina, 967
Reacción de neutralización, 1019, 1022
Reacción de oxidación-reducción, 129-131
estados, 131
intermuestre equilibrada, 137
Reacción de polimerización, 155
Reacción de redox. *Véase* Reacción óxido-reducción
Reacción de Stickland, 498-499, 536, 684, 719
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR), 180, 348, 354, 356-360, 376, 530-531
amplificación de genes rRNA, 419
análisis de la comunidad microbiana, 425, 732
aplicaciones, 358
cebadores de oligonucleotidos, 356-357, 429
diagnóstico clínico, 1035-1037
elevada temperatura, 357
identificación genética, 357, 360
palíndromes repetitivos extragenéticos (rep-PCR), 429
polimorfismo de los fragmentos amplificados (AFLP), 429
RT-PCR, 357-360, 1037, 1111
unida a genes específicos de organismos, 732-735
Reacción endergónica, 125, 152
Reacción exergónica, 125, 152
Reacción fosforoclástica, 684
Reacción peptidil transferasa, 208
Reacción química
de formación, 125
endergónica, 125
energía libre, 125-126
exergónica, 125
Reacciones anabólicas (anabolismo), 118, 146-152
Reacciones catabólicas (catabolismo), 118, 152
Reacciones de falso negativo, 1022
recA gen, 321, 417
Receptor de las células T (TCR), 945, 947-948, 950, 951, 962, 966-967, 979, 981, 986, 987, 1001
diversidad, 957, 993-994
dominio constante, 948, 986
dominio variable, 948, 986, 993
estructura, 948, 993, 994
genética, 993-994
unión con el antígeno, 947, 993
Receptor quemocina CXCR4, 1108
Receptor, virus, 283
Receptores *Fc*, 968
Receptores similares a Toll (TLRs), 940, 962, 984, 1001
Receptores Toll, 940, 983, 984
Recombinación, 312, 324-325, 342, 398
detección, 325
en la transducción, 328, 329
en la transformación, 327
eventos moleculares, 324
genética. *Véase* Genética de la recombinación
en bacterias, 23
en eucariotas, 193, 232-242
en humanos, 858
fijación de nitrógeno, 673
levaduras, 234
procariótico, 193
procesos moleculares relacionados con el flujo de información, 192
sistema genético en arqueas, 338-339
homólogo, 324-325
in vitro, 371
reordenación somática, 991
sitio-específico, 340
somática, 957
Recuento de colonias. *Véase* Recuento en placa
Recuento de viables, 164, 168-170. *Véase también* Recuento en placa
muestras naturales, 727
Recuento en placa, 168-170, 189
dilución seriada, 169
fuentes de error, 169-170
Recuento total de células, 167
Recuperación de metales, 782
Reducción. *Véase* Reacción de oxidación
de protones, 692, 702-703
del anillo, 707
del azufre, células primitivas, 412
del sulfato, 661, 776
asimilativo, 694, 695
desasimilativo, 694, 695
medidas en la naturaleza, 723, 736
Reflujo, 892
Refrescos, 827
Refrigeración, 177
Región -35, 209
Región del operador, 251
Región heterodúplex, 324, 342
Región líder, 270
Región tardía, SV40, 630-631
Región temprana de adenovirus, 634-635
Región *tra*, 309, 331
Regiones que determinan complementariedad (CDRs), 990, 1001
Registro fósil, 423
Regulación, 245-273
actividad enzimática, 149-152
de las porinas, 254
desarrollo en bacterias modelo, 265-267
fusión génica para el estudio, 363
generalidades, 246-253
positiva, 674
principales modos, 246
respuesta severa, 261-263
Regulador GcrA, 266, 267
Regulón, 253, 263, 273, 305, 306, 320, 342, 673
Arg, 306
de la arginina, 253
de la maltosa, 253, 306
nif, 674
Pho, 254
sistema SOS, 320-321
RelA, 262-263
Relación superficie-volumen, 76-77, 479
Relaxina, 849
Reloj molecular, 417-438
Rendimiento del crecimiento, evolución y, 703
Renina, 827, 849
Reorganización, 991-992
al azar, 991-992
de genes, 957
gen de la inmunoglobulina, 991
somática, 991-992
Reovirus, 277, 285, 295, 626
Reparación
con tendencia al error, 320-321
DNA, 531
tendencia al error, 321
repE gen, 374
Repelente, 113, 257, 258
de insectos, 1126, 1129
Repetición
de extremos, 290, 638
invertidos, 339, 634

www.pabilitos.com

en tándem de número variable (VNTR), 358-359
invertida, 195, 210, 229, 247, 340
Réplica en placa, 313
Replicación, 5, 192, 199-206, 224
ácido nucleico viral, 282-287
adenovirus, 634-635
bacteriófago lambda, 294
bacteriofago Mu, 616-617
bacteriófago T4, 290-292
bacteriófago T7, 613-614
bidireccional, 203, 309, 613, 614
cadena avanzada, 201-205
cadena retrasada, 201-205, 611
cebadores, 200-206
círculo rodante, 294, 309, 332, 611-612
comparación de los tres dominios, 228
corrección de errores, 205
dirección, 203
DNA lineal, 235
en *Archaea*, 227-228
errores, 205, 315, 317
estructuras theta, 203
formación del anillo FtsZ, 157
hepadnavirus, 637
herpesvirus, 631
iniciación, 201
intermediarios theta, 309, 611
moldes, 205-206
origen de, 201, 202, 369, 629-630, 631
plásmido, 309, 349
poliomavirus, 630-631
poliovirus, 620-621
por círculo rodante, 294, 309, 332, 333, 342, 611-612, 639
reovirus, 625-626
retrovirus, 297, 298
rhabdovirus, 623
semiconservativa, 199, 224
terminación, 205-206
theta, 203, 309, 611
unidireccional, 309
vírica, 275
virus, 275
animales de DNA de doble cadena, 631-632
de archaea, 620
de *Chlorella*, 627-629
de la gripe, 625
de la viruela, 633
Replicasa
coronavirus, 622
poliovirus, 620
Replisoma, 203-205, 206
Representación semilogarítmica, 161
Represión, 249-250, 263, 273
por catabolito, 260, 263, 272
Represor, 254, 369
Cro, 294
de la arginina, 249, 250
de Lambda, 248, 294
lac, 247, 369, 847
lambda, 294, 295
trp, 248
virus, 294, 295
Reproducción, 4
sexual, 234, 599-600
esporas sexuales de hongos, 596
Requerimientos nutricionales capacidad biosintética y, 121-123
Resazurina, 186, 1009
Reservorio
de insectos, 1056
enfermedades infecciosas, 1045-1048, 1055, 1073
Residuos
de anclaje, 989
infecciosos, 1016
sólidos, 788
Resistencia
a glifosato, 861
a la radiación, 530, 531
a la tetraciclina, 892
a las drogas, 314, 1065
a los antibióticos. 310-311, 312, 340, 886, 1061-1065. *Véase también* Plásmido R
contribución a la emergencia de patógenos, 1061-1067
genes, 309
genes cromosómicos, 893
infecciones nosocomiales, 1054
integrones, 399
mutación seleccionable, 312-313
mutagénesis por transposones, 341
revertir, 896
test de susceptibilidad a los antibióticos, 1013-1016
vencer o superar, 897
a los antimicrobianos, 891-900
a los metales pesados, 783-784
al arsenato, 784
al arsénico, 784
al cadmio, 784
al mercúrico, 784
de los insectos, 861
vírica, 314
virus, 861
Resolución, microscopio, 29, 30
Resolvasas, 324
Resorcinol, 681
Respiración, 134, 137-139, 152
aeróbica, 137-139, 690-709
ciclo del ácido cítrico, 143, 144
control global, 263
energética y flujo del carbono, 142
sistema de transporte de electrones, 137-139
anaeróbica, 144, 152, 535, 544, 549, 690-709, 719
aceptor de electrones, 703
acetogénesis, 696-697
control global, 263
energética y flujo del carbono, 142-144
ciclo del carbono, 770, 771
de fumarato, 691
de nitrato, 691
de sulfato, 692
del azufre, 691
del hierro, 691
fuerza motríz de protones, 140-142
Respuesta al choque térmico (calor), 263-264, 272
Respuesta de anticuerpos primaria, 958, 962, 968, 981
secundaria, 958-959, 962, 968, 981
Respuesta estricta, 261-262, 273
Respuesta inmunitaria, 942
activa, 952
adaptativa, 944-946
innata, 965
primaria, 966
Respuesta primaria de anticuerpos, 959, 962, 968, 981
Respuesta proteína reguladora, 253-254, 257, 258, 273
Respuesta secundaria de anticuerpos, 958-959, 962, 968, 981
Respuesta SOS, 263, 320-321
Retículo, 790
endoplasmático, 414, 577
liso, 577
rugoso, 577
Retinal, 545
Retinitis, 632
Retrovirus, 279, 285, 286, 295, 297-298, 302, 371, 635-638, 1106
estructura, 297
genes, 635, 637
genoma, 297-298, 635
HIV como, 637
integración, 635-637
replicación, 297, 298
terapia génica, 859
transcripción inversa, 635-637
Reversibilidad de la ATPase, 142
Reversión, 316, 342
test de Ames, 322
Revertiente, 317, 322, 325
mismo sitio, 316, 317
segundo sitio, 317
verdadero, 317
RF. *Véase* Forma replicativa
RFLP. *Véase* Restriction fragment length polymorphisms
Rhabdochromatium, 444
Rhabdovirus, 39, 295, 623-624, 1118
Rhizobium, 310, 423, 442, 670, 774, 801, 803
formadores de nódulos en el tallo, 807
grupo de inoculación cruzada, 803, 804, 806
Rhizobium leguminosarum, 804, 806
biovar *phaseoli*, 804
biovar *trifolii*, 760, 804
biovar *viciae*, 804, 805-806
Rhizobium trifolii, 95
Rhizobium tropici, 804
Rhizopus, 596, 1163
Rhizopus nigricans, 826
Rhizopus stolonifer, 597
Rhodaca, 446
Rhodobacter, 328, 442, 446, 650, 670
Rhodobacter blasticus, 91
Rhodobacter capsulatus, 648, 650
Rhodobacter sphaeroides, 112, 446, 650
Rhodobium, 446
Rhodoblastus acidophilus, 446
Rhodococcus, 328, 508
Rhodocyclus, 442, 446
Rhodocyclus purpureus, 446, 475
Rhodoferax, 442, 446
Rhodomicrobium, 442, 446, 477, 670
Rhodomicrobium vannielii, 74, 446
Rhodopila, 442, 446, 670
Rhodopila globiformis, 446
Rhodoplanes, 446
Rhodopseudomonas, 442, 446, 477, 670
Rhodopseudomonas palustris, 380, 642, 707
Rhodospira, 446
Rhodospirillum, 442, 446, 670
Rhodospirillum centenum, 106, 114
Rhodospirillum photometricum, 106
Rhodospirillum rubrum, 74
Rhodothalassium, 446
Rhodothermus, 523
Rhodotorula, 1163
Rhodovibrio, 183, 446
Rhodovibrio sodomensis, 36
Rhodovulum, 442, 446
Rho-sitio terminal dependiente, 211
Ribavirina, 888
Riboflavina, 121, 138, 823-824, 911
Ribonucleasa, 69, 1096
H, 635, 636
Ribonucleoproteínas, 237
pequeñas nucleares (snRNPs), 237
Ribonucleótido reductasa, 146
Ribosa, 60, 63, 146, 147, 207
5-fosfato, 146, 148
Ribosoma, 4, 37, 39, 65, 192, 217, 224, 230, 423, 892
cloroplasto, 576
efecto de los antibióticos, 883
estructura, 218
eucariótico, 241, 573
liberación (de ribosomas atrapados), 219
mitocondrial, 576
pauta de lectura, 355
procariótico, 217, 219
sitio-A, 218, 219
sitio-E, 219
sitio-P, 218, 219
subunidades, 217
traducción, 217, 221
Ribosomal Database Project II, 417, 438
Ribotimidina, 215
Ribotipado, 425, 429, 438, 1037
Ribozima, 239-240, 244
Ribulosa
1,5-bisfosfato, 656, 712
bisfosfato, 654-655, 656
carboxilasa (RubisCO), 541, 575, 654, 656, 663, 675
5-fosfato, 655, 656, 712, 715
Ricadhesina, 805
Ricinus communis, 1067
Ricketts, Howard, 1123
Rickettsia, 48, 397, 423, 442, 469-470, 1032, 1038, 1149
características, 470

www.medicos.com

comparación con clamidia y virus, 517
filogenia, 470
metabolismo, 470-471
patogénesis, 470-471
Wolbachia, 471
Rickettsia popilliae, 470
Rickettsia prowazekii, 470, 971, 1046, 1067, 1123, 1124
genoma, 381
Rickettsia rickettsii, 470, 1046, 1123, 1124
Rickettsia typhi, 470, 1124
Rifamicina, 889
resistencia, 892
síntesis, 814
Rifampicina, 229
Rifampina, 880, 883, 1085, 1087
Rimantadina, 888, 889, 1094
Rinovirus, 620, 889, 1090
Río, 753
oxígeno, 753
Riqueza de especies, 745, 746
Ritinovir, 1112
Rizoplano, 757
Rizosfera, 755, 757, 766
RNA, 4, 58, 59, 60, 63. *Véase también* Transcripción; Traducción
auto-replicación, 410
caperuza, 239, 241
catalítico, 219, 239-240, 409
cRNA, 392, 393
dependiente de la RNA polimerasa (RdRP), 243
desnudo, 279, 300
doble cadena, 243, 626-627
estable, 211
estructura en lazo, 195, 210-211, 271
estructura primaria, 64, 65
estructura secundaria, 64, 65, 195
estructura, 65
interferente pequeño (siRNA), 243
isótopos estables, 741
longevidad, 211
macromolécula de la información, 192
menos-cadena, 286, 623-626
mensajero. *Véase* RNA mensajero
multimérico, 300
no codificante, 267
pequeño, 223
regulador, 256, 267-268, 300
ribosómico. *Véase* RNA ribosómico
secuencia automatizada, 353
sin sentido, 254, 267-268, 898
transferencia. *Véase* RNA de transferencia
RNA antisentido, 254, 267-268, 898
RNA de interferencia (RNAi), 231, 243, 244
RNA de la subunidad pequeña del ribosoma (SSU rRNA), 417-418
aplicaciones en métodos filogenéticos, 423-426
estabilidad, 567
filogenia basada en, 421-426
Eukarya, 580-581
RNA de transferencia (tRNA), 65, 192, 207, 215-217, 224
3′-final o aceptor terminal, 216
activación, 216
bases modificadas, 215
brazo aceptor, 215, 216
carga, 216
cebador para la transcripción inversa, 298
celular, 635
codificado en el cloroplasto, 386
codificado en la mitocondria, 386
estructura, 215
de trébol, 215
iniciador, 217, 218
lazo anticodón, 215
lazo D, 215, 216
lazo TΨC, 215
mutaciones supresoras, 317
reconocimiento, 216-217
traducción, 217-218
unidad de transcripción, 211-212
RNA de transferencia celular, 635
RNA desnudo, 300
RNA endonucleasa, virus de la gripe, 625
RNA helicasa, 620
RNA interferente pequeño (siRNA), 243, 244
RNA no codificante, 267
RNA pequeño nuclear (snRNA), 239
RNA polimerasa, 120, 207-208, 224, 637, 638, 893
Archaea, 207, 229
bacteriófago T7, 613
control positivo de la activación de la unión, 252-253
dirigido por DNA, 880
eucariótico, 207, 240-241
factor sigma. *Véase* Estructura del factor sigma, 207
filogenia, 241
inhibidores, 888
núcleo enzimático, 207
RNA-dependiente, 286, 623, 624
virus-específico, 286
RNA polimerasa I, 240
RNA polimerasa II, 240, 241
RNA polimerasa III, 240
RNA regulador, 256, 267-268, 300
RNA replicasa, 286, 608, 619, 620, 624, 639
fago MS2, 608
RNA ribosómico (rRNA), 65, 192, 207, 224
16S, 417, 418, 419, 429, 431, 434, 438, 522, 730, 733, 734, 735
árbol filogenético, 420
codificado en la mitocondria, 386
codificado en los cloroplastos, 386
interacciones mRNA, 219
muestra natural, 50
Nanoarchaeum, 554
procesado RNA, 239
relaciones evolutivas, 41
reloj molecular, 417
secuenciación, amplificación del rRNA por PCR
análisis de la comunidad, 425
secuencias signatura, 424
secuencias y evolución, 419-420
síntesis en el nucleolo, 573
sonda filogenética, 424
sondas para muestra naturales, 731
subunidad grande, 417
subunidad pequeña (SSU rRNA), 417
aplicaciones del SSU rRNA, métodos filogenéticos, 423-426
filogenia basada en, 421-423
estabilidad, 567
traducción, 221
unidad de transcripción, 211-212
RNA virus, 275, 285-286, 1065
bacteriófago, 608-610
cadena negativa, 285-286, 623-626
cadena positiva, 285-286, 608, 620-623
cadena-doble, 275, 287
clasificación, 295
mutación, 318
una cadena, 275, 287, 297, 300
RNAs estables, 211
RNAs pequeños (sRNAs), 65, 223
Rocas
antiguas, 406
sedimentarias, 406
Rochalimaea, 470
Rochalimaea quintana, 470
Rochalimaea vinsonii, 470
Rodamina B, 1025
Rodofitos, 602
Rodopsina, 545, 762
metabolismo energético, 424
sensoriales, 545
Roentgen, 869
Rojo de rutenio, 95
Ron, 833, 839
Ropas protectoras, 1016
Roseiflexus, 532
Roseobacter, 762
Roseospirillum, 446
Roseta, 451, 480
Rotavirus, 625, 971, 972, 974, 1032, 1038, 1063, 1179
Rothia, 508, 909
Rotura posttranscripcional, 621
Rous, Francis, 24
RpoH factor sigma, 264
rRNA. *Véase* RNA ribosómico
RT-PCR. *Véase* Transcriptasa inversa-reacción en cadena de la polimerasa
Rubéola, 971, 1046, 1057, 1088, 1089. *Véase* Sarampión
RubisCO, 541, 575, 654, 655, 675
Rubrivivax, 446
Rumen, 10, 453, 714, 772, 789
anatomía y acción, 790
bacteria, 790-791
ciliados, 585
espirometas, 528, 774
fermentación microbiana, 790
hongos, 792
protistas, 792
Rumiante, 789. *Véase también* Rumen
Ruminococcus, 492, 714, 791, 905, 910
Ruminobacter amylophilus, 791, 792
Ruminococcus albus, 791, 792
Ruptura del anillo, 708, 710
Rusticanina, 664
Ruta de administración de un inmunógeno, 946

16S rRNA, 417, 418, 419, 431, 433, 438, 522, 730, 733, 734, 735

S. aureus meticilina-oxacilina resistentes (MRSA), 878, 895, 898
Sacarosa, 183, 185, 713, 714, 907-908
Saccharomyces, 182, 598, 834, 1163
Saccharomyces carlsbergensis, 833
Saccharomyces cerevisiae, 32, 38, 40, 136, 233, 234, 255, 341, 375, 382, 389, 425, 595, 599, 833, 836, 839, 870, 974, 1167. *Véase también* Levadura
ciclo celular, 599
duplicación de genes, 397
expresión génica, 392
genoma, 386, 389
genoma mitocondrial, 386
hospedador de clonaje, 364
secuencia centrómero, 237
Saccharomyces ellipsoidaus, 831
Saccharomyces rouxii, 182
Saccharopolyspora erythraea, 511
S-Adenosilmetionina, 258
Safranina, 30
Sagittula stellata, 731
Salchicha, 10, 1164, 1167, 1168, 1174
Salinas marinas, 541-543
Salinibacter, 523
Salinibacter ruber, 523
Saliva, 906-907
Salmón gigante, 858
Salmonella, 95, 310, 429, 442, 465-466, 680, 869, 895, 917-921, 926, 928, 930, 932, 944, 969, 1007, 1010, 1011, 1012, 1019, 1032, 1036, 1038, 1067, 1070, 1163, 1169
endotoxina, 91
infección alimentaria, 1173-1174
lipopolisacárido, 90
virulencia, 918-922
Salmonella anatum, 330
Salmonella enterica, 329
test de Ames, 323
Salmonella enteritidis, 926
Salmonella paratyphi, 961, 971, 1045
Salmonella typhi, 95, 971, 1018, 1045, 1047, 1067, 1145, 1157, 1173
resistencia antimicrobiana, 895
Salmonella typhimurium, 108, 417, 870, 919, 1070, 1173

www.freelibros.org

Salmonelosis, 921, 1057, 1067, 1173-1174, 1181
Salsa de soja, 1168
Salud pública, 1042, 1055-1072, 1073. *Véase también* Epidemiología
  calidad del agua, 1143-1145
  echar abajo el sistema, 1066
Salvarsán, 881
S-Aminoetilcisteína, 825
San Joaquin Valley fever.*Véase* Coccidioidomicosis
Sanchez, Carmon, 25
Sanger, Frederick, 25, 379, 610
Sangre, 931, 936-939
  circulación, 937
  cultivo, 1005
Saquinavir, 888, 897-898, 1113
Sarampión, 1044, 1046, 1057, 1063, 1088. *Véase* Rubéola
Sarcina, 492, 493, 494
Sarcina ventriculi, 493
Sarcoma de Kaposi, 1108
SARS, 622, 1057, 1068
SARS-CoV, 1068
SASP. *Véase* Proteínas ácidas pequeñas solubles de la espora
Scalindua, 668
Scenedesmus, 603
Schatz, Albert, 24
Schwartzia, 791
Schwartzia succinovorans, 792
Scytonema, 512
Secado en spray, 1164
Secreción mucosa, movimiento por deslizamiento, 110-111
Secuelas retardadas, 1128
Secuencia
  consensus, 208-210, 252
  de bases, 733
  firma, 438
    rRNA, 424
  líder, 270
  mu, 955
  señal, 222, 223, 224
  Shine-Dalgarno, 214, 217, 219, 231, 261, 355, 369, 370
Secuenciación, 376
  al azar, 354
Secuenciación del DNA, 352-354
  alineamiento de secuencias, 419-420
  automatizada, 353
  cadena sencilla, 276, 285, 287, 297, 610-613
  clasificación, 295
  de inserción (IS), 316, 333, 339, 342, 399
    IS2, 339
    IS50, 340
  doble cadena, 285, 286
    lineal, 631, 634
    parcialmente, 637
  fago de una cadena filamentoso, 612-613
  intergénica, bacteriófago M13, 373
  obtención de secuencias de DNA, 419
  SV40, 371
  vacuna de DNA, 852, 864
  virus animal, 629-635
  virus de DNA, 275
Secuenciación molecular, contribuciones a la microbiología, 42
Sedimentación, 1148, 1149
Sedimento, 1150, 1159
  G, bacteriófago Mu, 616
Seguridad, laboratorio clínico, 1016-1018
Selección, 313, 326, 342, 365-366, 375
  clonal, 995, 1001
  inactivación por inserción detectada por, 350
  método de selección por penicilina, 313
  mutaciones y, 416
  negativa, 313
    células T, 996, 997, 1001
  positiva,
    células T, 995-997, 1001
    productores de antibióticos, 818, 819
Selenato, 705
Selenio, 120, 704, 783
Selenocisteína, 65, 220
Selenomonas, 791
Selenomonas lactilytica, 792
Selenomonas ruminantium, 792
SEM. *Véase* Microscopio electrónico de barrido,
Semiquinona, 139
Semmelweis, Ignaz, 16
Sensibilidad, 1022, 1039
  a la radiación, 870
Sensor
  cinasa, 253, 257
  EnvZ, 858
Señal
  célula-célula, 750
  de transducción, 253-255, 273, 985-986
  química, 5
  secundaria, 997
Señalizador, 857
Separación
  citopiemática, 589-590
  del agua, 652
Separador de células activadas por fluorescencia (FACS), 1021-1022
Septicemia, 1005
Septo, 155
  de división, 156
  formación, 155
Serina
  código genético, 212
  estructura, 65
  fermentación, 679
  síntesis, 148
  transhidroximetilasa, 712
Serología, 937, 1021-1022
Serotonina, 977
Serpentines internos, fermentador, 814
Serratia, 464, 467, 1010
Serratia marcescens, 123, 346, 467
Sesbania, 807
Sesbania rostrata, 807
Sesgo en el enriquecimiento, 725, 734, 742
Setas, 594, 595, 605, 839-841
  ciclo de vida, 601
  cultivo comercial, 840
S-gal, 857
Shewanella putrefaciens, 704
Shigella, 91, 310, 399, 466, 613, 680, 917, 928, 932, 1007, 1010, 1011, 1038, 1067, 1162, 1179
  resistencia antimicrobiana, 895
Shigella dysenteriae, 895, 921, 1045, 1066, 1175
Shigella flexneri, 123, 399
Shigelosis, 1057, 1067, 1179
Shiitake, 840
Sida, 286, 295, 297, 598, 632, 849, 898, 931, 932, 969, 1016, 1019, 1027, 1038, 1043, 1044, 1046, 1057, 1060, 1061, 1064, 1066, 1083, 1085, 1100, 1106-1114, 1136, 1138, 1155. *Véase también* VIH
  carga vírica, 1111, 1112
  casos mundiales, 1052
  definición, 1107-1108
  diagnóstico, 1110-1111
  distribución por grupo de riesgo y sexo, 1053
  ELISA-VIH, 1029-1032, 1110
  enumeración de células CD3 y CD4, 1028
  epidemiología, 1052-1054
  incidencia y prevalencia, 1043
  inmunotransferencia-VIH, 1034-1035, 1110
  mortalidad, 1053
  patogénesis, 1108-1109
  pediátrico, 1053
  prevención, 1114
  transmisión, 1053
  tratamiento, 1111-1113
Sideróforo, 119-120, 152, 918, 920, 1066
  fenólico, 119
Siembra
  por estría en placa, 125, 725
  por extensión (superficie), recuento de viables, 168
Sífilis, 526, 527, 1021, 1038, 1044, 1046, 1049, 1057, 1101-1103, 1128
  congénita, 1102, 1115
  primaria, 1103, 1104
  secundaria, 1103
  terciaria, 1103
SIFV, 617, 618
Silicona, 789
Simazina, 787
Simbiontes metanogénicos, 772
Simbiosis, 766
  animal-bacteria, 455
  Azolla-Anabaena y Frankia, 807
  calamar-*Altivibrio*, 796-798
  comensalismo, 745
  legumbre-nódulo radical, 803-808
  mutualismo, 745
  parasitismo, 745
  planta-microorganismo, 798-467
Simbiosoma, 805, 806
Simetría
  plumulada, 588
  virus, 278
Simportador
  de fosfato, 84
  de sulfato, 84
Simportadores, 83
Sin caracterizar el marco de lectura abierto, 384
Sincitio, 1109
Síndrome
  clínico, vigilancia, 1066
  de choque tóxico estreptocócico, 1057
  de DiGeorge, 969
  de Goodpasture, 977
  de inmunodeficiencia adquirida. *Véase* Sida
  de la piel escaldada, 921
  de Reye, 1094
  del choque tóxico (TSS), 921, 980, 1057, 1062, 1096, 1115
    pulmonar por Hantavirus, 1046, 1057, 1120-1123, 1140
  respiratorio severo agudo (SARS), 622, 1057, 1068
  respiratorio severo agudo por coronavirus (SARS-CoV), 1068
  urémico hemolítico, 1057, 1062
    por Hantavirus, 1123
Singlete (oxígeno), 187, 646, 941
Sinorhizobium, 670, 803
Sinorhizobium fredii, 804
Sinorhizobium meliloti, 804, 805
Síntesis
  de oligonucleotidos, 356
  de proteínas inhibidoras de toxinas, 923-924
  translesión, 320-321
Sintrofía, 688-690, 719, 749, 771-774
  energética, 689-690
Sistema *Arc*, 254
Sistema binomial, 435, 436
Sistema circulatorio, 938, 939
Sistema de aeración, fermentador, 816
Sistema de distribución del agua, 1150, 1159
Sistema de respuesta sensorial, 112
Sistema de restricción-modificación, 284-285
Sistema de secreción del tipo III, 85
Sistema de transporte ABC, 83, 85, 383
  cruza la membrana citoplasmática, 81-86
  grupo de translocación, 84
  Lac permeasa, 83
  mediado por transportador, 82-83
  proteína de exportación, 85
Sistema de Vigilancia Nacional de Infecciones Nosocomiales (NNIS), 1058-1059
Sistema del complemento, 959-961
  activación, 959, 983
Sistema fosfotransferasa, 84
Sistema inmunitario
  células y órganos, 936-946
  evolución, 986-987
Sistema linfático, 938
Sistema proteína exportadora TAT, 223
Sistema regulador Nar, 254

www.edicionesdiaz.com

Sistema regulador Ntr, 254, 263
Sistema represor-operador, 369
Sistema Sec, 85
Sistema Sox, 661-662
Sistemática, 426-437, 438
  análisis fenotípico, 426-427
  análisis filogenético, 431-432
  análisis genotípico, 428-431
  clasificación y nomenclatura, 435-437
  concepto de especie, 432-435
  microbiana, 23
  inmunoglobulina, 954, 990-991
Sitio
  A, ribosoma, 218, 219
  aceptor (sitio-A), 218, 219
  activo, 127, 150
  alostérico, 150
  attC, 399
  attI, 399
  cos, 294, 330, 372
  de clonación múltiple, 350, 369, 373
  de corte, 239
  de restricción, 354
  de unión CRP, 260, 261
  de unión del activador, 252
  de unión del antígeno
  de unión en el ribosoma, 218, 369, 849
  E, ribosoma, 219
  P, ribosoma, 218, 219
SmaI, 346
Smith, Hamilton O., 25, 379
Snow, John, 1049
Sodio, 82
  requerimientos celulares, 119
  requerimientos en halófilos extremos, 544
Soja, 804
  resistencia al glifosato, 861
Solapamiento de genes, 609, 610, 638
Solfatara, 551, 556 557, 569
Sólidos suspendidos, 1149, 1159
Solución de yodo, 876
Solutos compatibles, 183-184, 189, 544, 566, 569
Solvente,
  industrial, 788
  producción, 684
Somatotropina
  hormona del crecimiento, 849
  modificada genéticamente, 848-849
  bovina, 848
  recombinate (STBr), 848
  humana recombinante (STHr), 848
Sonda. *Véase* Sonda de ácidos nucleicos
Sonda de ácidos nucleicos, 348, 376, 742, 1035-1039
  detección de clones recombinantes, 367
  detección de patógenos transmitidos por los alimentos, 1168-1170
  diagnóstico, 1035-1039
  DNA sintético, 356
  ensayo de bastoncillo, 1036
  ensayo de filtro de membrana, 1036
  específico-específico, 424
  marcaje fluorescente, 730-731
  muestras naturales, 730-731
Sonda de captura, 1036
Sonda filogenética, 424, 438, 730
Sonda testigo, 1036
sopA gen, 374
sopB gen, 374
Sorangium, 482
Sorangium cellulosum, 382
Sorbosa, 459, 837
Southern, E.M., 348
Sphaerotilus, 442, 450, 475-476, 480
Sphaerotilus natans, 476, 664
Sphingomonas, 442
Spirillum, 182, 442, 472-473
Spirillum volutans, 185, 473
Spirochaeta, 527
Spirochaeta aurantia, 527
Spirochaeta plicatilis, 526, 527
Spirochaeta stenostrepta, 74, 526, 527
Spirochaeta zuelzerae, 527
Spirogyra, 575, 603
Spiroplasma, 501, 502-503
Spiroplasma citri, 503
Spirulina, 47, 512
Sporichthya, 508
Sporocytophaga, 522, 713, 722
Sporocytophaga myxococcoides, 522, 714
Sporohalobacter, 497
Sporolactobacillus, 497
Sporomusa, 497, 687
Sporomusa paucivorans, 697
Sporosarcina, 496, 499
Sporosarcina pasteurii, 498
Sporosarcina ureae, 499, 722
Sporothrix schenckii, 1137, 1138
Sporotrichum, 1163
SpoT, 263
ssp genes, 105
SSU (subunidad pequeña) SSU RNA, 438
SSV, 618
SSV1, 618
Stanley, Wendall, 24
Staphylococcus, 182, 310, 328, 336, 492-493, 752, 905, 906, 910, 913, 918, 1006, 1010, 1011, 1036, 1055, 1076, 1087, 1094-1096
  halotolerante, 183
  intoxicación alimentaria, 1170-1171
Staphylococcus aureus, 31, 86, 183, 430, 493, 819, 893, 904, 913, 921, 922, 926, 927, 941, 979-980, 1005, 1008, 1010, 1017, 1025, 1032, 1038, 1055, 1062, 1066, 1077, 1078, 1095, 1169, 1170-1171
  colonización, 903
  enterotoxina B, 1067
  pared celular, 88
  resistencia antimicrobiana, 895-896
  sistema de percepción de quórum, 256
Staphylococcus epidermidis, 493, 1006, 1010, 1094, 1096
Staphylococcus saprophyticus, 1006
Staphylothermus, 558, 559, 563
Staphylothermus marinus, 75, 563
Starkeya novella, 448
STD. *Véase* Enfermedades de transmisión sexual
Stella, 477, 478
Stenotrophomonas maltophilia, 457
Stephanodiscus, 575
Steptomyces platensis, 898
Stetter, Karl, 25
Stetteria, 559
Stigmatella, 481, 484
Stigmatella aurantiaca, 482
Stigonema, 512
Stomatococcus, 492
STR (repetición corta en tándem), 359
Str1, 672
Str2, 672
Streptococcus, 46, 120, 182, 327, 336, 494-495, 680, 905, 910, 969, 1019, 1076, 1087, 1163, 1169
  características, 495
  grupos de Lancefield, 495
Streptococcus bovis, 791, 792
Streptococcus hemolyticus, 159
Streptococcus mitis, 907, 932
Streptococcus mutans, 495, 907, 908, 917, 932
Streptococcus pneumoniae, 326, 327, 895, 913, 919, 942, 971, 1038, 1046, 1057, 1064, 1077, 1080
  resistencia antimicrobiana, 896
Streptococcus pyogenes, 122, 185, 380, 495, 895, 917, 921, 923, 942, 980, 1005, 1013, 1017, 1025, 1029, 1038, 1062, 1066, 1077-1078, 1096
Streptococcus sanguis, 906-907, 932
Streptococcus sobrinus, 907, 908, 932
Streptomyces, 46, 310, 379, 812, 814, 819, 890, 893, 898
  aislamiento, 508-510
  características, 507-511
  ecología, 508-510
  producción de antibióticos, 510-511
Streptomyces aureofaciens, 511, 822, 823
Streptomyces coelicolor, 380, 509
Streptomyces erythreus, 818
Streptomyces fradiae, 511, 818
Streptomyces griseus, 511, 818, 885
Streptomyces kanamyceticus, 818
Streptomyces lincolnensis, 511, 818
Streptomyces nodosus, 511
Streptomyces noursei, 511, 818
Streptomyces orchidaceus, 818
Streptomyces rimosus, 818
Streptomyces thermoautotrophicus, 670, 672, 674
Streptomyces venezuelae, 511, 818
Streptosporangium, 508
Streptoverticillium, 508
Stygiolobus, 559
Subsuperficie. *Véase* Microbiología de la subsuperficie
Subunidad
  estructural, 276
  grande rRNA(LSU-rRNA), 417
Succinato, 143, 504, 685, 705, 710
  bioquímica de la fijación del nitrógeno, 806
  fermentación, 504, 680, 681, 685-686
  metabolismo, 716
  producción en el rumen, 791
  producto de la fermentación, 463, 464, 680, 682, 771
Succinil-CoA, 143, 679, 680, 685
  carboxilación, 656
Succinomonas amylolytica, 791, 792
Suelo
  actividad de agua, 182, 757
  ciclo del nitrógeno, 774
  columna de Winogradsky, 723
  como hábitat microbiano, 756-757
  del desierto, 514
  encharcado, 777
  formación, 755-756
  metanogénesis, 774
  mineral, 755
  nutrientes, 757
  orgánico, 755
  Streptomyces, 508-510
Suero, 937, 962, 972, 981
  de la leche, 10, 494, 812
  hepatitis. *Véase* Hepatitis B
Suillus bovinus, 800
Sulbactama, 898
Sulfanilamida, 881
Sulfato, 661, 746-747
  aceptor de electrones, 692
  ciclo del azufre, 776
  de cobre, 876
  donador de electrones, 660
Sulfhídrico, 46, 499, 747, 1010
  ciclo del azufre, 777
  donador de electrones, 651, 654, 660
  fuente de energía, 144
  producción a partir de la reducción del sulfato, 693-696
  reducción del azufre, 696
  test de producción, 1010, 1011-1013
Sulfidogénesis, 774
Sulfito, 661
  desproporcionado, 696
  en alimentos, 1165
  oxidasa, 120, 661
  producción en sulfato, 695
  reducción, 695
  reductasa, 694
Sulfobacillus, 782
Sulfolobales, 558
Sulfolobus, 181, 228, 398, 539, 558, 559, 567, 617, 658, 782
  virus, 617-618
Sulfolobus acidocaldarius, 560, 660, 729
Sulfolobus islandicus, 617
Sulfolobus solfataricus, 338, 380, 618
Sulfonamida, 880, 1015
  resistencia, 892

www.elsolucionario.net

Sulfophobococcus, 559
Sulfurisphaera, 559
Sulfuro
  aceptor de electrones, 692
  donador de electrones, 651
  ferroso, 779
  fraccionamiento isotópico, 739
  oxidación, 662, 776, 781
  toxicidad, 776
Sulfurococcus, 559
Sulfurospirillum, 486, 488
Suministros médicos, esterilización radiación, 871
Superantígeno, 979, 981, 1096, 1170-1171
  exotoxina A, 1079
  toxina, 922, 927
    Staphylococcus aureus, 1170-1171
Superenrollamiento
  negativo, 196
  positivo, 196
Superfamilia de genes, 986-987
Superficie
  como hipótesis del origen, 408
  crecimiento microbiano, 748-749
  partícula de suelo, 756
Superintegrones, 399
Superóxido
  anión, 187, 941
  dismutasa, 120, 187-188
    fijación de nitrógeno, 672
  reductasa, 188
Sustancias metiladas, 549
Sustitución del par de bases, 315
Sustrato, 127
  de inicio, 710
SV40, 630
Synechococcus, 512, 515
Synechococcus lividus, 512, 568
Synechocystis, 512, 647, 857
  genoma, 380
Syntrophobacter, 442
Syntrophobacter wolinii, 772
Syntrophomonas, 688-690, 772
Syntrophomonas wolfei, 771
Syntrophospora, 497
Syntrophus aciditrophicus, 681
Syntrophus gentiane, 772

2,4,5-T, 787, 788
T4 lisozima, 292
T7 RNA polimerasa, 613-614
Tabla periódica, 118
Talasemia, 1132, 1140
Tamaño
  celular, 38, 39, 75-77, 501, 554
    límites inferiores, 77
  de la explosión, 283
  molecular,
    inmunogenicidad, 946
Tampón, 182, 1095
  de fosfato potásico, 182
Tanino, 510, 831
Tanque
  abierto, producción de vinagre, 836
  de almacenamiento de combustible, 786
  de almacenamiento de gasolina, 786
  del bioreactor, 783
Transposón compuesto, 339, 340
T-antígeno, 630
Tapetes microbianos, 407, 738
Taq polimerasa, 180, 357, 529
TaqI, 346
Taquizoitos, 1180
Tar transductor, 257
Tasa
  de crecimiento, 162
  de dilución, quimiostato, 165-167
  de división, 163
  de error en un punto caliente, 317
  específica de crecimiento, 163
  sexual de espiroplasma, 502
Tatum, Edward L., 24
Taxias, 111-115
  fototaxis, 113, 115
  otras, 114
  quimiotaxis, 111-113
Taxonomía, 426-437, 438
  análisis fenotípico, 426-427
  análisis genotípico, 428-431
  características fenotípicas de valor taxonómico, 427
  categoría formal taxonómica, 437
  clasificación y nomenclatura, 435-437
  estudio polifásico, 426
  halófilos extremos, 544
  hibridación DNA-DNA, 428-429
  proporción GC, 430
TBP (TATA-proteína de unión), 229
3TC. *Véase* Lamivudina
TCR. *Véase* Receptor de la célula T
TCR-péptido-complejo proteico MHC, 993
T-DNA, 860
  transferencia, 801-802
Técnica aséptica, 124, 152, 1165
Técnica de anticuerpos,
  detección del clon deseado, 366-367
Técnica de capilaridad, estudios de quimiotaxis, 112-113
Técnica de cultivo de enriquecimiento, 21
Técnica de la difusión en disco, 874, 1013
Técnica de la dilución en tubo, 874
Técnica de reducción del acetileno, 672-673
Técnica del número más probable (NMP), 726, 742
coliformes, 1143
Técnicas *in silico*, 355, 395
Técnicas *in vitro*, 345-351
  bacteriófago lambda como vector de clonación, 371-373
  clonaje molecular, 348-349
  DNA sintético, 356
  enzimas de restricción, 345-347
  fusión de genes, 363, 376
  gen indicador (gen testigo), 363
  mutagénesis dirigida, 360-361
  plásmidos como vectores de clonación, 349-351
  reacción en cadena de la polimerasa (PCR), 356-360
Teflón, 789
Tegumento, herpesvirus, 631
Telomerasa, 235, 236, 244
Telómero, 235, 375
TEM. *Véase* Microscopio electrónico de transmisión
Temblor, 789 de las ovejas, 301
Temin, Howard, 25
Temperatura
  alteración de los alimentos, 1163
  cardinal, 172, 174, 189
  clases de microorganismos, 174
  efecto en el crecimiento, 172-180
  efecto en la estructura del DNA, 195
  límite superior para el crecimiento, 178, 179
  límite superior para la vida, 569
  límites de la existencia microbiana, 564-565
  máxima, 172, 174
    para el crecimiento, 172, 174
  mínima, 172, 174
    para el crecimiento, 172, 174
  óptima, 172
Tenofovir, 888
Tensión superficial, alta, 60
Teoría microbiana de las enfermedades infecciosas, 16-18
Terapia
  antirretroviral muy activa (HAART), 1112
  de sustitución génica, 859
  fágica, 898
  génica, 858, 864
    problemas técnicos, 859
Terbenafina, 890
Terminación, 224
  de la transcripción, 208, 210-211, 369, 370
    intrínseca, 211
Termitas, 772, 773
Termoacidófilo, 49, 50
Termociladores, 357
Termoclina, 753
Termófilo, 174, 177, 178-179, 189
  aplicaciones biotecnológicas, 180
  cultivos de enriquecimiento, 1164
  estabilidad al calor de las proteínas y membranas en, 179
Termoplasmatales, 550-552
Termoproteales, 558-560
Termosoma, 566, 569
Terramicina. *Véase* Oxitetraciclina
Test cis-trans, 337
Test de aglutinación, 1018, 1019, 1110
  aglutinación pasiva, 1024.1025
Test de Ames, 322-323
Test de anticuerpos
  fluorescentes, 720, 1025-1028, 1039
  aplicaciones clínicas, 1026-1028
  directa, 1026
  indirecta, 1026
  microorganismos en partículas de suelo, 756
  muestras naturales, 727
Test de complementación, 337-338
Test de embarazo, ELISA, 1029
Test de floculación, 1019
Test de hidrólisis del almidón, 1011
Test de inmunofluorescencia, 1019
Test de la catalasa, 1010
Test de la coagulasa, 1010
Test de la desaminación de la fenilalanina, 1011
Test de la oxidasa, 463, 467, 1011
Test de la tuberculina, 967, 975, 978, 1019, 1084
Test de la ureasa, 1011
Test de oxidación-fermentación, 1011
Test de reducción de nitrato, 1011
Test de Schick (prueba cutánea), 1019
Test de susceptibilidad a los antibióticos, 1013-1016
  dispersión, 893
  mecanismo, 892-893
  pasos para la prevención, 877
Test de utilización del citrato, 1010
Test del indol, 1010
Test directo de anticuerpos fluorescentes, 1025
Test indirecto de anticuerpos fluorescentes, 1026
Test miniaturizado, 1012
Test MPN. *Véase* Técnica del número más probable
Test para coliformes
  método de filtración por membrana, 1143
  método del número más probable, 1026
Test rápido de identificación, 1010-1013
Test rojo de metilo, 1010
Test SPIA. *Véase* Test inmunoensayo de partículas de suelo
Test VDRL, 1019
Test Voges-Proskauer, 1011
Testa, 589
Testosterona, 1032
Tétano, 499, 921, 926, 932, 1042, 1044, 1057, 1139-1140
  control, 1139-1140
  diagnóstico, 1139-1140
  epidemiología, 1139
  patogénesis, 1139
  prevención y tratamiento, 1139-1140
Tetraciclina, 881, 880, 886, 896, 900, 1015, 1097, 1124, 1126, 1127
  estructura, 886
  modo de acción, 219, 887
  producción, 511
    comercial, 817, 822-823, 883
  síntesis, 813
Tetracloroetileno, 706

www.medilibros.com

Tetrahidrofolato, 698
5,7,3',4'-Tetrahidroxiflavona, 806
Tetrahymena, 239
Tetrahymena thermophila, 579
Tetrametilamonio, 453
Tetrapirrólica, 646, 647
TFB (factor de transcripción B), 229
Thalassiosira, 588
The Prokaryotes, 436
Thelophora terrestris, 800
Themobispora, 508
Thermoactinomyces, 102, 508
Thermoanaerobacter, 497, 508
Thermochromatium, 442, 444
Thermocladium, 559
Thermococcus, 422, 539, 540, 552-553, 558, 559
Thermococcus celer, 174, 552
Thermocrinis, 534-535
Thermocrinis ruber, 534-535
Thermodesulfobacterium, 422, 441, 486, 533-534
Thermodesulfobacterium mobile, 533
Thermodesulforhabdus, 486
Thermodesulfovibrio, 535
Thermodiscus, 559
Thermofilum, 558, 559
Thermofilum librum, 560
Thermomicrobium, 531
Thermomicrobium roseum, 531
Thermomonospora, 508
Thermoplasma, 50, 90, 181, 422, 423, 539, 550-552, 780
Thermoplasma acidophilum, 228, 380, 550, 551
Thermoplasma volcanium, 550-551
Thermoproteus, 422, 423, 539, 558, 559, 656
Thermoproteus neutrophilus, 560
Thermosphaera, 559
Thermothrix, 448
Thermotoga, 48, 412, 422, 441, 533-534, 568
Thermotoga maritima, 533
genoma, 381, 382, 384
rutas metabólicas, 383
sistema de transporte, 383
transferencia horizontal de genes, 398
Thermus, 327, 529
Thermus aquaticus, 179, 346, 357, 529
Thermus thermophilus, 854
Thioalkalicoccus, 444
Thiobacillus, 442, 448, 670, 776, 794
Thiobacillus denitrificans, 448, 662
Thiobacillus thioparus, 122, 448
Thiocapsa, 444, 670
Thiocapsa roseopersicina, 74
Thiococcus, 444
Thiocystis, 444, 445
Thiodictyon, 444
Thioflavicoccus, 444
Thiohalocapsa, 444
Thiolamprovum, 444
Thiomargarita namibiensis, 75, 76
Thiomicrospira, 442, 448, 657, 794
Thiomonas intermedia, 448
Thiopedia, 444
Thiopedia rosea, 444
Thioploca, 448, 450, 451
Thiorhodococcus, 444
Thiorhodospira, 444
Thiorhodovibrio, 444
Thiosphaera, 448
Thiospirillum, 442, 444, 472
Thiospirillum jenense, 114, 444, 724
Thiothrix, 448, 450, 662, 794
Thiovulum, 442, 448, 488-489
Thiovulum majus, 75
Tiamina, 121, 911
Tiempo
de duplicación. *Véase* Tiempo de generación
de generación, 161, 162, 163, 189, 749
cálculo, 163
de muerte térmica, 866-867
de reducción decimal, 866, 867
Tierra
evidencia de vida microbiana, 406-407
evolución, 406-416
formación e historia temprana, 406-407
origen del planeta, 406
primitiva
microorganismos, 406-407
origen de la vida, 567-569
vida, a través del tiempo, 7
Tifus
epidémico. *Véase* Fiebre tifus murino, 1124
Tilacoide, 512, 515, 575, 605, 643, 675
Timina, 63, 64, 193, 194, 207, 882
Timo, 939, 962, 995, 997
Tinción
de flagelos, 106
de Gram, 31, 46, 86, 92
de viabilidad, 728-729
de Ziehl-Neelsen. *Véase* Bacterias ácido-resistencia
diferencial, 31
filogenética, 425, 730
microorganismos en partículas del, 756
fluorescente, 728-730
genética, 730-732
microscopio, 30
negativa, 35
no específica, 728, 729
simple, 30
Tinta china, 95, 1137
Tiña, 1049, 1138
Tioéster, 58
Tioglicolato, 185-186
Tiosulfato, 661
aceptor de electrones, 694
desproporcionado, 695
donador de electrones, 660, 661
Tipaje sanguíneo, 1024
Tipificación de la secuencia de multilocus (MLST), 430, 438
Tipo
de hipersensibilidad retrardada, 976, 977-978
de ratón (*Peromyscus maniculatus*), 1120
sexual, 599-600
levadura, 599-600
Tiramida, 732
Tirocidina, 496
Tirosina, 814
código genético, 212
codón, 315
estructura, 65
fermentación, 679
síntesis, 148, 149, 150
Titanospirillum velox, 75
Título, anticuerpo, 971-972, 1018-1019, 1039
Tivelosa, 90
Tizón (patata), 587
Tm, 196
TMAO. *Véase* Óxido trimetilamina (TMAO)
*tm*RNA, 220
Tobramicina, 880, 885, 1015
Togavirus, 296
Tolerancia, 946, 962, 966, 981, 995-996
Tolueno, 704, 708, 710
dioxigenasa, 710
Tonegawa, Susumu, 25
Tonsilitis, 921
Topoisomerasa, 203, 206
Topoisomerasa I, 196, 197
Topoisomerasa II, 196, 197
Topoisomerasa IV, 202, 206
Torre redox, 129, 690
Torula, 1163
Torulopsis, 905, 915
Toser, 1048, 1076, 1092
Tox gen, 924
Toxicidad, 915, 919, 933
selectiva, 873, 880, 881, 883
antibióticos y, 882-883
α-Toxina, 921, 923
β-Toxina, 921
δ-Toxina, 921
γ-Toxina, 921
κ-Toxina, 921
λ-Toxina, 921
Toxina, 921, 922-929, 1067. *Véase también* Endotoxina; Enterotoxina; Exotoxina
AB, 923, 924, 925
armas biológicas, 1067, 1068
botulina, 924, 925, 1068, 1172
Bt, 497, 498, 862
citolítica, 923
codificadas en plásmidos, 311
colérica, 926-927, 1032, 1066
de distensión citoletal, 921
del síndrome del choque tóxico, 921, 1066, 1096
del tétano, 919, 924-926, 1139
diftérica, 330, 921, 923-924, 1066, 1081
edema, 1071
ensayo de neutralización, 1022, 1023
epsilon, 1067
eritrogénica, 1066
exfoliante, 933
letal, 1071
murina, 1066, 1135
Pertussis, 921
ricina, 1067
shiga, 921, 1066, 1175
shiga-similar, 1066
Toxoide, 971, 981
del tétano, 972
Toxol, 891
Toxoplasma, 587
Toxoplasma gondii, 578, 1064, 1107, 1169, 1179, 1180
Toxoplasmosis, 587, 1032, 1064, 1107, 1179-1180
toxR gen, 927
Tracoma, 516-517, 1038, 1063, 1104
Tracto gastrointestinal
anatomía, 910
microbiota normal, 905, 909-912, 931, 932
Tracto respiratorio, 1076-1077
anatomía, 911
microbiota normal, 905, 911-915
inferior, 913, 933, 1077
superior, 912-913, 933, 1077
barrera a la infección, 931
espécimen de colección, 1005
microbiota normal, 912-915
Tracto urogenital
anatomía, 914
microbiota normal, 905, 912-915
Traducción, 5, 192, 211, 217-220, 224, 232
ϕX174, 611
acoplado a la transcripción, 270
bacteriófago T4, 290
cola de poli(A), 238
comparación de, 242
efecto de los antibióticos, 220
elongación, 218
en *Archaea*, 231
eucariótico, 231, 241-242
iniciación, 213, 217, 218
pasos, 217
procariótico, 193
proteínas mitocondriales, 386, 387-389
replicación, 611
terminación-liberación, 219
Transaminasa, 147, 1125
Transcarbidasa, 120
Transcripción, 5, 192, 206-212, 224, 232, 391
ϕX174, 611
bacteriófago T4, 290-291
dirección, 207, 306-307
efecto de los antibióticos, 883
elongación, 207
en *Archaea*, 229-230
control de, 259-260
ensayo fluorescente, 729
eucariótica, 193, 240-241
iniciación, 207-208
inversa, 192, 286, 297, 298, 302, 635, 636, 637-639, 730-731, 845, 864
de DNA vírico, 637-638
in situ (FISH), 730, 731-732
reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR), diagnóstico del sida, 360, 1037, 1110
virus de DNA con retrotranscriptasa, 637-638
virus de RNA con retrotranscriptasa, 635-637
ligada a la traducción, 271
procariótica, 194

www.libros.com

regulación, 246-253
terminación, 210-211, 229, 270
unidad de, 211-212
vectores de expresión, 368-371
Transcriptasa inversa
actividades enzimáticas, 297, 635
síntesis de DNA a partir del mRNA aislado, 391, 845
telomerasa, 235
virus utilizan, 635-638
Transcriptoma, 391, 392, 403
Transcrito primario, 230, 237, 239, 244
Transducción, 322-323, 328-331, 338, 342
especializada, 328, 329-330, 371
generalizada, 328-329
mapeado genético, 305
Transductor, 257
Transfección, 327, 365
Transferasa CoA, 685
Transferencia de genes en *Archaea*, 338-339
horizontal (lateral), 307, 397-399, 402, 416, 422, 435, 438
Transferencia de hidrógeno interespecies, 688-689
Transferencia horizontal de genes, 307, 397-399, 402, 403, 416, 422, 435, 438
estabilidad del genoma y, 398-399
Transferencia Northern, 348, 376
Transferencia Southern, 347, 348, 359, 376
Transferencia Western. *Véase* Inmunotransferencia
Transferrina, 918
Transformación
celular (por virus), 296, 631
en *Archaea*, 338
en bacteria, 95, 302, 325-328, 342, 350
captación de DNA, 327
competente, 326
descubrimiento, 326
integración del DNA, 327, 862
mapa genético, 305
en eucariotas. *Véase* Transfección
genética. *Véase* Vacunas geneticamente transformadas, 852
Transfusión sanguínea, 1024, 1053
Transgen, 854, 859
Transiciones, 316, 342
Translocación (mutación), 218, 316
Translocasa, 85
Transmisión, 1042, 1049. *Véase también* Enfermedad transmitida por alimentos; por el agua; Zoonosis
aérea, 1048-1050, 1076-1094
controles dirigidos a, 1055-1056
directa hospedador a hospedador, 1048-1049
hospedador a hospedador, 1047, 1048
directa, 1048-1049
indirecta, 1049
indirecta hospedador a hospedador, 1049
infecciones nosocomiales, 1054-1055
persona a persona, 1045
Transpeptidación, 160-161, 189
Transpeptidasa, 884
Transplante de órgano, 930
Transposición de átomos de hidrógeno, 131
Transportador de electrones, 131
asociado a membrana, 137-138
difusible libremente, 131
fijado, 131
no proteico, 138-139
orientación en la membrana, 140
Transportadores asociados con el procesamiento de antígenos (TAP), 949
Transportadores de compuestos de un carbono, metanogénesis, 698-699
Transporte activo, psicrófilo, 177
Transporte de electrones, 143
Archaea, 540
bacterias del azufre, 661-662
bacterias oxidadoras del hierro, 664-665
bacterias sulfato reductoras, 695
conservación de la energía, 140
desacoplar, 142
fijación de nitrógeno, 664-672
fotosíntesis, 647-651
anoxigénica, 647-651
oxigénica, 652
halófilos extremos, 544
inhibidores, 142
inversa, 651, 658, 662, 665
metanogénesis, 702
respiración anaerobia, 690
Transporte inverso de electrones, 651, 658, 665, 667, 675
Transporte mediado por, 82
efecto saturación, 82
especificidad, 82
Transporte nuclear, 573
Transporte simple, 83
Transporte, contribución a la emergencia de patógenos, 1065
Transposición, 339
conservativa, 340
descubrimiento, 339
evolución microbiana, 339
mecanismo, 340
replicativa, 340
Transposón, 199, 339-341, 342
composición, 339, 340
conjugativo, 340, 400
evolución genómica, 398
factores de virulencia, 1066
Tn5, 340, 341
Tn10, 340, 341
Transversiones, 316, 342
Trasiego, 831
Tratamiento aeróbico secundario de aguas residuales, 1147, 1159
Tratamiento de aguas residuales, 450, 476
desnitrificación, 692
Tratamiento de las aguas residuales, 1145-1149
niveles, 1145-1149
primario, 1146, 1159
secundario, 1147-1148
secundario aeróbico, 1147-1149, 1159
secundario anóxico, 1147, 1159
terciario, 1149, 1159
Tratamiento primario de aguas residuales, 1146, 1159
Tratamiento secundario anóxico de aguas residuales, 1147, 1159
Tratamiento secundario de aguas, 1147-1148
aeróbico, 1147-1148, 1159
anóxico, 1147, 1159
Tratamiento terciario de aguas residuales, 1149, 1159
Trehalosa, 183
Treonina
código genético, 212
estructura, 66
fermentación, 679
síntesis, 147
Treponema, 527-528
Treponema azotonutricium, 528
Treponema denticola, 528
Treponema pallidum, 528, 1019, 1032, 1038, 1046, 1049, 1061, 1100, 1102, 1128
genoma, 380, 382
Treponema primitia, 528, 697
Treponema saccharophilum, 528
T-RFLP, 430, 734
Tribus pigmeas africanas, 848
Trichinella spiralis, 1166
Trichodesmium, 761-762
Trichomonas, 389, 574, 580
Trichomonas vaginalis, 390, 574, 583, 1038, 1046, 1100, 1105
Trichophyton, 1137, 1138
Trichophyton rubrum, 1137
Tricloroetileno, 706, 787, 788
Tricomonada, 422
Tricomoniasis, 1038, 1046, 1100, 1105
Trifluridina, 888
Trifolium repens, 805
Triglicérido, 62, 63
5,4′-Trihidroxiisoflavona, 806
Trimethoprima-sulfametoxazol, 898, 1015
2,5,8-Trimetil-8-hidroxi-nonano-4-uno, 484
Trimetilamina, 453, 549, 704, 705
N-Óxido, 453
Trimetilsulfoxido, 453
Trimetoprima, 881
Triosa fosfato, 681
Tripanosoma, 584
Tripanosomiasis, 1044
Tripéptido, 67
Triple
azucar hierro (TSI) agar, 1012
enlace, 56
Triplete (oxígeno), 186
Triptofanasa, 855
Triptófano, 814, 855
código genético, 214
estructura, 65
fermentación, 679, 685
industria alimentaria, 825
permeabilidad de las membranas a, 82
síntesis, 147, 150, 151, 271
Triquinosis, 1057
Trisacárido, 61
Trismo, 925
tRNA. *Véase* RNA de transferencia (tRNA)
Trofozoito, 1154, 1155, 1157-1158
Trombocitopenia, 1062
Trypanosoma, 584, 1038
Trypanosoma brucei, 388, 391, 584
TSI agar. *Véase* Triple azúcar hierro agar
TSS. *Véase* Síndrome del choque tóxico
Tuberculina, 967, 1019, 1084
Tubérculo, 1083
Tuberculosis, 869, 877, 885, 894, 941, 967, 1038, 1044, 1046-1047, 1057, 1062, 1083-1086, 1107
bovina, 1046, 1047, 1056, 1086
cepas multi-droga-resistentes, 1085
control, 1084-1085
epidemiología, 1083
patología, 1083-1084
postprimaria (reinfección), 1083
primaria, 1083
trabajo de Koch, 17-20
tratamiento, 1084-1085
Tubo
de infección, 804, 805
giratorio, 487, 725
Tubulina, 40, 156, 521, 578
Tularemia, 1046, 1057, 1067
Tumor, 296
en la base del tronco, 801-802
maligno. *Véase también* Cáncer
vírico, 630, 631-632
Tundra, 773
Tungsteno, 120
Turbidez, 1149, 1159
Turbina de protones, 107
Twort, Frederick, 24

Ubiquinona, 667
UDPG. *Véase* Uridina difosfoglucosa
Úlcera
gástrica, 1096-1097
péctica, 489, 1062
pilórica, 493
Último ancestro común universal, 410, 412, 421
umuCD gen, 321
Undecaprenolfosfato. *Véase* Bactoprenol
Unidad vírica infecciosa, 280
Unidades
formadoras de calvas, 280
formadoras de colonias (ufc), 170
Svedberg, 217
Unión anhidro, fosfato, 132
Unión cruzada, enzima inmobilizado, 828
Unión del antígeno, 989-990, 998
Unión del patógeno al hospedador, 96
virus, 282, 283, 284, 285

www.edicionesdiaz.com

Unión disulfuro, 66
Unión éster en lípidos, 79, 80
Unión éster, fosfato, 132
Unión éter en lípidos, 80, 533-534, 553
Unión proteínas-antígeno estructura y evolución, 986-987
Unión ptoteína a AMP cíclico, 252
Unión VDJ (VJ), 991-992
Uniones de Holliday, 324
Unión-ribosoma Shine-Dalgarno, sitio, 269
Uniportador, 83, 84
de potasio, 84
Uracilo, 63, 207, 882
Uranio, lixiviación, 782-783
Urea, 732
degradación, 500
Ureaplasma, 501, 905
Ureaplasma urealyticum, 1100
Ureasa, 120, 466, 1066, 1097
Uretra, microbiota normal, 914
Uretritis no gonocócica, 517, 1100
clamidias, 1104
tricomoniasis, 1105
Uridilato, 148
Uridina difosfoglucosa (UDPG), 146, 147
Uroquinasa, 849
Uso de la tierra, contribución a la emergencia de patógenos, 1065
Utilización de levaduras, 839
uvrA gen, 321

V gen, 991
vacA, 1097
Vaccinia generalizada, 1070
Vacula Salk, 971
Vacuna, 16, 633-634, 971, 981. *Véase también* Enfermedades específicas antígeno recombinante, 973
BCG, 974, 1085
carbunco, 1071
comestible-ingerida, 863
conjugadas, 971
contra el cólera, 971
contra el sarampión, 971, 972, 1046, 1056, 1088
contra el SIDA, 1113
contra el tétano, 971, 1057, 1139
contra la difteria, 971, 972, 1056, 1081
contra la enfermedad de Lyme, 1129
contra la fiebre del tifus, 971
contra la fiebre tifoidea, 971, 1060
contra la gripe, 852, 971, 972, 975, 1093
contra la malaria, 863, 975
contra la meningitis, 971
contra la pneumonía bacteriana, 971
contra la rabia, 851, 959, 971, 1056, 1060, 1119
contra la tuberculosis, 971, 975
contra la varicela, 971, 972
contra la viruela, 633, 971, 1056, 1068
de la fiebre amarilla, 971, 1060
de la hepatitis A, 971, 972
de la hepatitis B, 852, 971, 972, 1098
de la polio, 971, 1051, 1057
Sabin, 971
Salk, 971
de la viruela del pollo, 971
de péptidos sintéticos, 973
de vector, 850, 864
del papilomavirus humano, 971, 972, 974
del virus Vaccinia, 1069
difteria, 1081
DNA, 973
DTaP, 1081, 1083
generalizada, 1069
gripe (*influenza*), 625, 1094
HPV, 1106
ingeridas (por vía oral), 863
modificadas genéticamente, 634, 850-853
para la fiebre paratifoide, 971
péptido sintético, 973
Pertussis, 971, 1056, 1083
polivalente, 850, 851, 864
producción, 919
en plantas, 862
recombinante, 850-851
rubéola, 971, 972, 1057, 1089
Streptococcus pneumoniae, 1080
subunidad, 851, 1113
tos ferina (*pertussis*), 971, 1057, 1081-1082
vector, 850, 864
recombinante, 973
viruela, 633, 971, 1057, 1068
viva atenuada recombinante, 851
Vacunación. *Véase* Inmunización
Vacunas
conjugadas, 971
recombinantes, 850-851, 973
Vacunación de recuerdo, 958
Vacuolas
de gas, 99
de nutrientes, 584
Vagina, microbiota normal, 915
Vaina externa, espiroquetas, 526
Valaciclovir, 888
Valencia, inmunoglobulina, 955-956
Valerato, 792
Valil-tRNA síntetasa, 216
Valina
código genético, 212
estructura, 65
fermentación, 679, 684
síntesis, 148
Valor
de la reducción decimal, 870
nutritivo, alteración de alimentos, 1162
van Niel, C.B., 24
Vanadio, 120, 461
Vancomicina, 880, 883, 884, 895, 896, 1015
resistencia intermedia *Staphylococcus aureus* (VISA), 895, 898, 1057
resistente *Enterococcus faecium* (VRE), 895, 898
resistencia *Staphylococcus aureus* (VRSA), 1057
Vanilina, 802
Vapor, 753
Varicela, 1057. *Véase* Viruela del pollo
Vasopresina, 1032
Vector, 1042, 1049, 1050, 1051
artrópodo, 1049, 1065
binario, 861
clonación, 348-349, 376
clonaje. *Véase* Vector de clonación
de clonación, 348
bacteriofago lambda, 371-373
bacteriofago M13, 373
binario, 860
clonaje en plantas, 860-861
cósmido, 372
cromosoma artificial, 374-375
hospedadores para, 364-365
para secuenciar DNA, 373
plásmido, 350-351
vector de expresión vector, 368-371
vector lanzadera, 368, 369
de expresión, 368-371, 376
cambios en la regulación, 370
codón de uso, 370, 846
eucariótico, 370-371, 844-845
iniciación de la traducción, 370
plegamiento de proteínas y estabilidad, 846-847
promotor, 369-370
pSE420, 369
regulación de la transcripción, 369-370
vector de fusión, 847
de fusión, 847
de integración, 371, 376
de sustitución, 372
lanzadera, 368, 369, 376
patógeno, 1073
vírico, 371
terapia génica, 858
Vegetales y productos derivados, fermentado, 1168
Vehículo, 1042, 1049, 1073
Veillonella, 723, 905, 910
Vena, 939
Venter, J. Craig, 23, 379
Verotoxina, 1175, 1177
Verrucomicrobium, 442, 520-521
Verrucomicrobium spinosum, 520
Verrugas genitales, 974, 1038, 1046, 1100, 1106
Vertedero, 773, 788
Vertidos de petróleo, 785, 786
Vesícula,
de gas, 98-99, 424, 513, 548, 665
Frankia, 807
Vía alternativa del complemento activación, 960
Vía de Embden-Meyerhof. Véase glicólisis
Vía de la pentosa fosfato, 715, 719
Vía de la ribulosa monofosfato, 712, 719
Vía de la serina, 454, 712-713, 719
Vía del acetil-CoA, 540, 569, 669, 695, 697, 701, 719
acetogénesis, 696-697
Vía Entner-Doudoroff, 458, 540, 681
Vía hidroxipropionato, 532, 658, 675
Vía lisogénica, 292
Vía lítica, 302
bacteriófago lambda, 293
bacteriófago Mu, 617
Vía Ljungdahl-Wood. *Véase* Vía del acetil-CoA
Viajes
contribución a la emergencia de patógenos, 1064
inmunización para viajar a países en vías de desarrollo, 1060-1061
Vías metabólicas modificadas, 854-855, 856
genes codificantes, 854
Vibrio cholerae, 96, 399, 467, 752, 916, 921, 926, 930, 932, 971, 1019, 1032, 1045, 1049, 1062, 1065, 1067, 1153, 1154, 1157
tipo clásico, 1153
tipo El Tor, 1153
Vibrio, 182, 442, 467-469
Vibrio parahaemolyticus, 468
Vibrionaceae, 467, 1011
Vida
árbol universal, 422, 437
características esenciales, 4
celular, origen de, 408-412
en la Tierra a través del tiempo, 7
origen de la célula, 408-412, 567-568
RNA, 240
Vidarabina, 888
Vigilancia (epidemiología), 1058-1059, 1066, 1073
VIH (HIV), 297, 632, 852, 887, 888, 897-898, 931, 969-970, 975, 1016, 1019, 1038, 1046, 1052-1054, 1057, 1063, 1099, 1100, 1106-1114. *Véase también* Sida
detección de la infección, 1110-1111
genoma VIH-1 (HIV-1), 637
interacciones con las células T, 1108
receptor de la superficie celular, 1108-1109
resistencia a drogas, 1112-1113
test de aglutinación, 1110-1111
test de ELISA indirecto, 1029
VIH-ELISA, 1029-1031, 1034, 1035
Vinagre, 836-837, 1162
destilado, 836
encurtidos, 836, 1164
producción comercial, 459, 836-837
método de la tinaja abierta, 836
método del burbujeo, 837
método del goteo, 837
Vinblastina, 891
Vincristina, 891
Vino, 136, 812, 829-832, 939
blanco, 830, 831, 832

www.mobilibros.com

dulce, 830
encabezado, 830
espumoso, 830
pasteurizado, 869
seco, 830
tinto, 830, 831, 832
Violaceína, 462
Violeta de crital, 30
vir genes, 802
Virión, 275, 276-279, 297, 302, 608
cadena sencilla filamentosa de DNA, bacteriófago, 611-612
doble cadena de DNA, fago Mu, 617
estructura, 276-277
sin cubierta, 297
Viroide, 299, 300, 302
cadang-cadang del coco, 299
de cítrico, 299
del tubérculo ahusado de la patata, 299
Virología, 24, 276
Viruela, 1056, 1067, 1068
de las vacas, 633
del mono, 1063
del pollo, 631, 1052, 1057, 1088
Virulencia, 903, 915, 918-926, 933
evolución, 400-401
plásmido, 311
Virus, 24, 38-39, 198-199, 274-303. *Véase también* Bacteriófago; Virus DNA; Virus RNA; *Virus específicos*
adeno-asociado (VAA), 299
animal, 275, 295. *Véase* Virus animal
cadena negativa de RNA, 623-626
cadena positiva de RNA, 620-623
clasificación, 295
consecuencias de la infección, 295
cultivo celular, 280
doble cadena de DNA, 629-635
doble cadena de RNA, 626-627
ensayo en placa, 280
infección lítica, 296
infección latente, 296
infección persistente, 297
transformación, 296
Archaea, 617-619
atemperado, 290, 292-, 302
autoensamblaje, 277
auxiliador, 299, 302
bacteriano, 608-617. *Véase* Bacteriófagos
comparación con ricketsia y clamidia, 518
complejo, 278-279
con envoltura, 277, 278, 609, 622, 623-624, 631
control del crecimiento, 887-891
control por interferón, 889, 890
Coxsackie, 870, 1090-1091
críptico, 293
cuantificación, 280-281
Chikungunya, 1062
de *Chlorella*, 627-629
replicación, 627-629
de la anemia del pollo, 285
de la encefalitis equina de Venezuela, 1067
de la encefalitis equina del oeste, 1067
de la encephalitis equina del este, 1067
de la gripe, 278, 285, 624, 966, 1019, 1026, 1046, 1052, 1072, 1076, 1091-1092
cambio antigénico, 625
de la hepatitis, 1032
de la hepatitis A, 1038, 1045, 1098, 1099, 1157
de la hepatitis B humano, 637, 638
de la hepatitis B, 295, 297, 637, 638, 1016, 1038, 1045, 1062, 1098, 1099
de la hepatitis C, 1038, 1045, 1063, 1098
de la hepatitis D, 1038, 1045, 1098
de la hepatitis E, 1038, 1045, 1063, 1099
de la hepatitis G, 1099
de la inmunosuficiencia humana. *Véase* VIH (HIV)
de la rabia, 623-626, 1046
de la rubéola, 1032, 1046
de la viruela, 276, 285, 295, 628-629, 633-634
agente de bioterrorismo, 1068
aviar, 850
propiedades, 633
replicación, 633
vacunas recombinantes, 633-634
de plantas, 275-276, 863
Chlorella, 627-629
mosaico del tabaco, 619
RNA virus, 619-620
de vida atenuada, 1113
defectivo, 299, 302
del conejo mixomatosis, 633
del Ébola virus, 623, 1046, 1062, 1065, 1067, 1120, 1122
del enanismo amarillo de la patata, 623
del mosaico de la coliflor, 277, 297
del mosaico del Caupí, 277
del mosaico del tabaco (TMV), 277, 619
mapa genético, 619
del oeste del Nilo, 1063, 1067, 1132-1134
del sarampión, 1032, 1046
descrito por primera vez, 21
desnudo, 277, 279
DNA de doble cadena, 629-635
lineal, 631, 634, 635
DNA de plantas, 627-629
empaquetamiento de los ácidos nucleicos, 282, 283
enfermedad transmitida por el agua, 1157
enfermedad transmitida por los alimentos, 1168, 1169
ensamblaje, 282
entrada, 282
Epstein-Barr virus, 631, 1038
específico y RNA-dependendiente de la RNA polimerasa, 286
esquema de clasificación de Baltimore, 285, 286
estado intracelular, 275
estomatitis vesicular, 623
etapa extracelular, 275
eucariótico, 619-635
DNA, 627-635
RNA, 619-627
fiebre hemorrágica, 1122
genoma, 275, 276, 277, 285-287, 288-289, 290
grandes DNA nucleocitoplasmático (NCLDV), 629
helicoidal, 278
helicoidales, 278
hemorrágico del conejo (RHDV), 1051
herpes simplex, 296, 631, 639, 1105, 1107
tipo 1, 277, 1105
tipo 2, 1105
hospedador, 276, 280
humano B linfotrófico (HBLV), 1021
icosahédrico, 278, 608, 610
infección, 275, 287, 1057
respiratoria, 1087-1090
Lassa, 1063, 1067, 1120
liberación, 282, 608, 609, 612-613
linfotrópico de las células T humanas, 1063
Marburg, 1062, 1065, 1067
marino, 763
material genético, 275
meningitis, 1086-1087
métodos de diagnóstico, 1028-1035
mixoma, 1050
MS2, 379
Nipah, 1063, 1067
penetración, 282, 283
planta. *Véase* Virus de plantas
polimórfico, 624
producción vírica de ácidos nucleico y proteínas, 285-287
proteínas, 287
tardías, 287
tempranas, 287
replicación, 282-287
respiratorio sincitial, 1026, 1091
Reston, 1065
restricción y modificación por el hospedador, 284-285
RNA, 242, 1065
de doble cadena, 243, 626-627
de una cadena, 275, 287, 297, 299
transcriptasa reversa, 635-638
sarcoma de Rous, 297
satélite, 299-300
simetría, 278
síntesis de ácidos nucleicos y proteínas, 282
sondas de ácidos nucleicos, 1036
SV40, 277, 630-631
células no permisivas, 630
células permisivas, 630
genoma, 629
mapa genético, 630
vector de clonación, 370
tamaño, 276, 277
Torque Teno (TTV), 285
transcriptasa reversa, 635-638
transducido, 328-331, 338
unión, 282, 283, 284, 285
Vaccinia, 370, 633-634
genéticamente modificada, 973
vacunas recombinates vivas, 850-851
vacuna recombinante, 850-851
varicela-zoster, 631, 1089
virulento, 290-292, 302
virulento, 288-290, 302
Vitamina, 120, 128
B_1. *Véase* Tiamina
B_{12}, 121, 698, 911
estructura, 823
producción comercial, 823
B_6, 121
K, 121, 139, 465, 911
producción comercial, 823-824
producción por levaduras, 839
vnfHDK genes, 674
VNTR. *Véase* Número variable de repeticiones en tándem
Vodka, 833, 839
Volta, Alessandro, 546
Volteretas (*Tumbles*), 111, 112
Volvox, 51, 604, 1153
Volvox carteri, 603
Voriconazol, 890
VP1, mapa genético, 630
VP2, mapa genético, 630
VP3, mapa genético, 630

Waksman, Selman, 24
Warren, Robin, 25, 489, 1097
Watson, James, 23, 25, 326
Whisky, 833, 839
Wieringa, K.T., 102
Wilkins, Maurice, 25
WIN 52084, 1091
Winogradsky, Sergei, 21, 22, 24, 447, 660, 666, 723
Woese, Carl, 25, 41, 417
Wolbachia, 470-471
Wolbachia pipientis, 471
Wolinella, 442, 489, 696
Wolinella succinogenes, 489, 705

***Xanthobacter*, 328**
Xanthomonas, 442, 456, 758
Xanthomonas campestris, 458
Xanthomonas holica, 347
Xantopfila, 586
Xenobiótico, 786-789
Xenococcus, 512
Xenopsylla cheopis, 1134
Xerófilo, 183, 189
Xeromyces bisporus, 182
X-gal, 373
XhoI, 347

www.libros.com

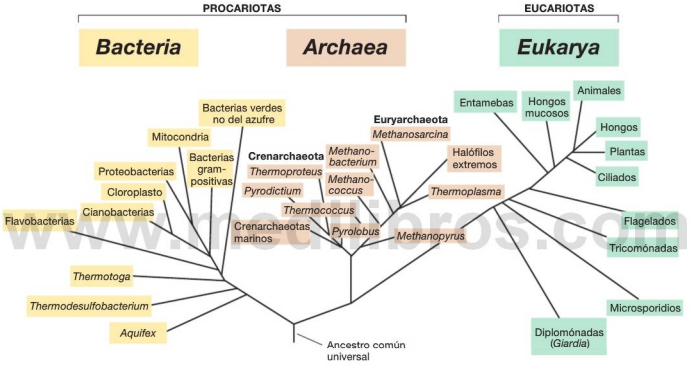
Xilanasa, 713, 827
Xilano, 713
Xilulosa-5-P, 679
X-tirosina-X-X-X-X-X-X-Xisoleucina, 989
X-X-X-X-fenilalanina-X-X-leucina, 989
  productos naturales, 898
  promotores del crecimiento (aditivos alimentarios), 895
  purificación, 820
  semisintéticos, 883, 885
  síntesis de proteínas, 883
  test de susceptibilidad, 1013-1016
  tratamiento del carbunco, 1072
  uso agrícola, 893
  uso inapropiado, 893
  usos no médicos, 895
Xylella, 758

YAC. *Véase* Cromosoma artificial de levadura
Yalow, Rosalyn, 25
Yersinia, 310, 399, 465, 1032
Yersinia enterocolítica, 1152, 1169, 1179
Yersinia pestis, 971, 1046, 1061, 1066, 1067, 1132, 1134-1136
Yeyuno, 910
Yodo-125, 1032
  radioinmunensayo, 1032
Yodóforo, 876
Yoduro de propidio, 728
Yogur, 10

Zalcitabina (ddC), 888
Zanamivir, 888, 889, 1094
Zea mays, 386
Zeaxantina, 515
Zernike, Frits, 32
Zidovudina (AZT), 888, 889
Zigomicetos, 597-598
Zigospora, 596
Zigoto, 234, 599
Zimosan, 983
Zinc, 120, 783
Zinder, Norton, 25
ZipA, 156
Zona
  de inhibición, 875
  fótica, 763
  pelágica, 760, 762
Zoogloea, 442, 450, 456
Zoogloea ramigera, 1147, 1148
Zoonosis, 1047, 1073, 1118, 1141
Zoosporangio, 598
Zoosporas, 597
Zóster. *Véase* Herpes
Zumo de fruta, 459
Zymomonas, 442, 459, 680, 682

www.medilibros.com

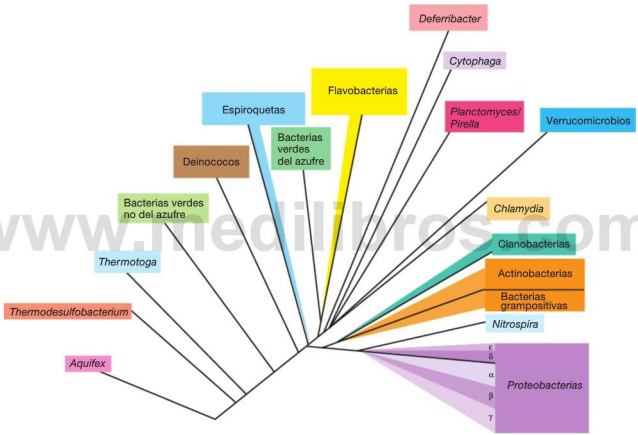
FILOGENIA DE LOS SERES VIVOS-VISIÓN GLOBAL



www.medilibros.com

Árbol filogenético universal. Este árbol se ha construido a partir de la comparación de las secuencias de los RNA ribosómicos del 16S y 18S. Observe los tres dominios de los seres vivos: *Bacteria*, *Archaea* y *Eukarya*. La distancia evolutiva entre dos grupos de organismos es proporcional a la distancia acumulada desde el final de las ramas hasta el punto donde se unen los dos grupos. *Véanse* las Secciones 14.5-14.9 para obtener más información sobre la filogenia basada en el RNA ribosómico. Las relaciones filogenéticas mostradas en este árbol se apoyan en otros datos genotípicos y fenotípicos. *Datos obtenidos de la Base de Datos del Proyecto Ribosoma (Ribosomal Database project)*. **http://rdp.cme.msu.edu**

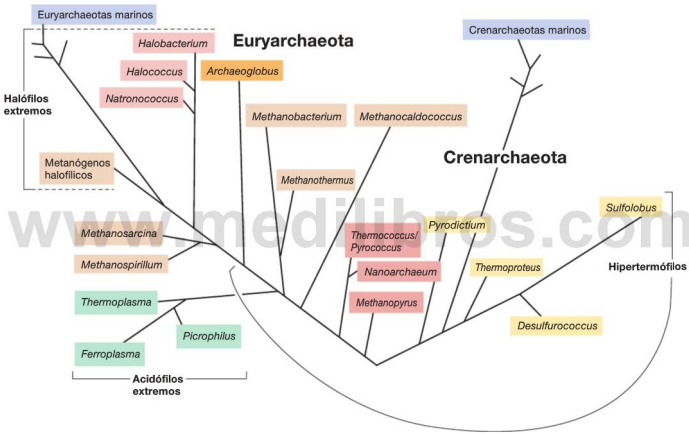
FILOGENIA DE LOS SERES VIVOS-*BACTERIA*



www.medilibros.com

Árbol filogenético de *Bacteria*. Este árbol se ha construido a partir de las secuencias de RNA ribosómico 16S. Como se indica, al menos pueden definirse 17 grupos principales de *bacteria*. Se conocen muchos otros grupos a partir del DNA del ambiente, pero aún no contienen representantes en cultivos. *Véanse* las Secciones 14.5-14.9 para obtener más información sobre la filogenia basada en el RNA ribosómico. *Datos obtenidos de la Base de Datos del Proyecto Ribosoma (Ribosomal Database project).* **http://rdp.cme.msu.edu**

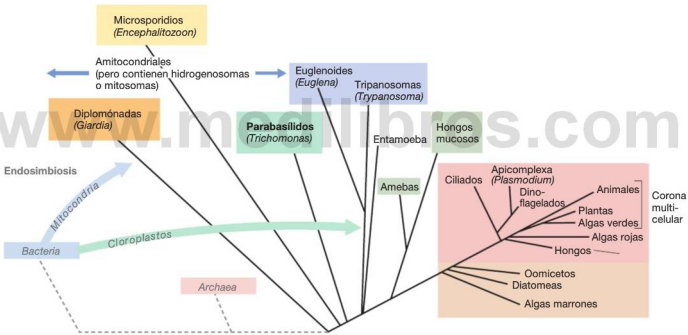
FILOGENIA DE LOS SERES VIVOS-*ARCHAEA*



www.medilibros.com

Árbol filogenético de *Archaea*. Este árbol se ha construido a partir de las secuencias de RNA ribosómico 16S. En *Archaea* se pueden definir dos phyla principales: el phylum *Crenarchaeota*, constituido por especies hipertermófilas y especies que viven en ambientes fríos; y el phylum *Euryarchaeota,* formado por metanógenos, halófilos extremos, acidófilos, alcalófilos y especies marinas de aguas frías. *Véanse* las Secciones 14.5-14.9 para obtener más información sobre la filogenia basada en el RNA ribosómico. *Datos obtenidos de la Base de Datos del Proyecto Ribosoma (Ribosomal Database project).* **http://rdp.cme.msu.edu**

FILOGENIA DE LOS SERES VIVOS-*EUKARYA*



www.mediLibros.com

Árbol filogenético de *Eukarya*. Este árbol se ha construido a partir de las secuencias obtenidas de la subunidad pequeña de los ribosomas citoplasmáticos y muestra cómo los principales orgánulos de las células eucariotas, las mitocondrias y cloroplastos, tienen un origen en *Bacteria*. La filogenia de los eucariotas en base a las secuencias de RNA ribosómico no son tan precisas como los obtenidos para *Bacteria* y *Archaea*. *Véanse* las Secciones 14.5-14.9 para obtener más información sobre la filogenia basada en el RNA ribosómico y la Sección 18.6 sobre la filogenia de los eucariotas microbianos. *Datos obtenidos de la Base de Datos del Proyecto Ribosoma (Ribosomal Database project)*. **http://rdp.cme.msu.edu**