



UNIVERSIDAD  
DE LOS ANDES

Norelkys Espinoza  
Leonidas Urdaneta

Nociones básicas de microbiología general para estudiantes de Odontología

universitarios

# Nociones básicas

## de microbiología general para estudiantes de Odontología

• Leonidas Urdaneta • Norelkys Espinoza



PUBLICACIONES  
VICERRECTORADO ACADÉMICO  
C O D E P R E

## • El libro

La obra *Nociones básicas de microbiología para estudiantes de Odontología* presenta de una manera didáctica y eficientemente ejemplificada la información necesaria para que todo estudiante de Odontología aprenda en forma amena, simplificada y agradable aspectos básicos de importancia en su introducción al mundo microscópico que rodea al ser humano y que puede encontrarse también dentro de estructuras anatómicas tales como la cavidad bucal y tejidos relacionados. La información presentada en esta obra permite el conocimiento de aspectos propios de la gran diversidad de microorganismos que encontramos interactuando entre sí y con seres superiores, por medio de diversos mecanismos biológicos, bioquímicos y fisiológicos con la finalidad de garantizar la comprensión de los procesos de salud (eubiosis) o de enfermedad (disbiosis).

Este material constituye una herramienta fundamental para comprender los procesos de patogenicidad en los cuales participan los agentes infecciosos, y brinda la oportunidad de adquirir la iniciativa necesaria para abordar con suficientes argumentos las diversas enfermedades infecciosas de la cavidad bucal que podrán ser estudiadas en asignaturas más específicas de la carrera de Odontología, sin embargo, no es limitativo ya que puede ser empleado por cualquier estudiante de carreras afines al área de la salud, como punto cardinal dentro de su formación en Microbiología Básica.

El desarrollo en formato multimedia permite realizar avances importantes en los medios educativos y las tecnologías de la información, proponiendo y manejando estrategias que persiguen no solo la adaptación de la transmisión del conocimiento a una nueva era de la educación, sino también permitiendo un aprendizaje significativo fundamentado en la posibilidad de acceder a la información de manera rápida, gráfica y cómoda, incluso, en oportunidades animada o documentada a través de videos que permiten además de la abstracción, la descripción precisa y confiable de aspectos que estimulan la mayoría de los sentidos necesarios para el aprendizaje significativo de manera directa o indirecta, prestando el medio apropiado para desarrollar habilidades del pensamiento en distintos niveles.



ISBN: 978-980-11-1653-0



# Nociones básicas de microbiología general para estudiantes de Odontología

# Nociones básicas de microbiología general para estudiantes de Odontología

- Leonidas Urdaneta
- Norelkys Espinoza

## UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

### Autoridades Universitarias

- *Rector*  
Mario Bonucci Rossini
- *Vicerrectora Académica*  
Patricia Rosenzweig Levy
- *Vicerrector Administrativo*  
Manuel Aranguren Rincón
- *Secretario*  
José María Andrés
- *Coordinador de la Comisión de Desarrollo del Pregrado*  
Hugo Leiva

### PUBLICACIONES VICERRECTORADO ACADÉMICO

- *Presidenta*  
Patricia Rosenzweig Levy
  - *Director*  
Víctor García
  - *Coordinador*  
Ricardo R. Rafael Contreras
- Unidad operativa
- *Supervisora de procesos técnicos*  
Yelliza García
  - *Asesor editorial*  
Freddy Parra Jahn
  - *Asistente*  
Yoly Torres
  - *Asistente técnico*  
Ricardo Huggines

Los trabajos publicados en esta colección han sido rigurosamente seleccionados y arbitrados por especialistas en las diferentes disciplinas

## COLECCIÓN

Textos Universitarios  
Publicaciones  
Vicerrectorado  
Académico

### **Nociones básicas de microbiología general para estudiantes de Odontología**

Primera edición digital, 2014

© Universidad de Los Andes  
Vicerrectorado Académico  
con el financiamiento de la  
Comisión de Desarrollo del Pregrado  
(CODEPRE)  
© Leonidas Urdaneta y Norelkys Espinoza

### HECHO EL DEPÓSITO DE LEY

Depósito Legal:  
Ifi23720146004071  
Ifx23720146004072  
ISBN: 978-980-11-1633-2  
ISBN: 978-980-11-1653-0

Esta obra es producto del proyecto de investigación O-094-04-04-A. financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes.

- *Corrección de texto*  
Freddy Parra Jahn
- *Concepto de colección*  
Kataliñ Alava
- *Fotografía de portada*  
Leonidas Urdaneta y Norelkys Espinoza
- *Diseño de portada*  
Jessica López
- *Diseño y programación multimedia*  
Leonidas Urdaneta y Norelkys Espinoza

Se permite la reproducción parcial y sin fines comerciales de esta obra, siempre que se cite adecuadamente a los autores y su fuente original.

Universidad de Los Andes  
Av. 3 Independencia  
Edificio Central del Rectorado  
Mérida, Venezuela  
[publicacionesva@ula.ve](mailto:publicacionesva@ula.ve)  
[publicacionesva@gmail.com](mailto:publicacionesva@gmail.com)  
<http://www2.ula.ve/publicacionesacademicas>

Editado en la República Bolivariana de Venezuela

## PREFACIO

El libro *Nociones básicas de microbiología general para estudiantes de odontología* presenta de forma didáctica y eficientemente ejemplificada la información necesaria para que el estudiante de Odontología encuentre una manera interesante, interactiva, agradable y sencilla de aprender aspectos básicos de importancia en su introducción al mundo microscópico que rodea al ser humano, y que también está presente dentro de estructuras anatómicas tales como la cavidad bucal y tejidos relacionados. La información presentada en esta obra, permite el conocimiento de aspectos propios de la gran diversidad de microorganismos que pueden interactuar entre sí y con seres superiores, por medio de múltiples mecanismos biológicos, bioquímicos y fisiológicos con la finalidad de garantizar la comprensión de los procesos de salud (eubiosis) o de enfermedad (disbiosis).

Este material constituye una herramienta fundamental para comprender los procesos de patogenicidad en los cuales participan los agentes infecciosos, e incentiva a abordar, con suficientes argumentos, las diversas enfermedades que estos producen en la cavidad bucal y que podrán ser estudiadas en asignaturas más específicas de la carrera de Odontología. Sin embargo, su uso no es limitativo, ya que esta obra puede ser útil para cualquier estudiante de carreras afines al área de la salud, como punto cardinal dentro de su formación en microbiología básica.

El desarrollo de contenidos en formato web y multimedia permite realizar avances en la práctica educativa, al proponer y manejar estrategias que persiguen no solo la adaptación de la transmisión del conocimiento a una nueva era de la educación, sino también permitir la instrucción fundamentada en la posibilidad de acceder a la información de manera rápida, gráfica y atractiva, como también animada en oportunidades, o documentada a través de videos. Esta multiplicidad de formatos estimula en el lector, al mismo tiempo, diferentes sentidos, y propicia en este la producción de aprendizajes significativos de manera directa o indirecta, prestando el medio apropiado para desarrollar habilidades del pensamiento en distintos niveles.

## ÍNDICE

	Pág.
Prefacio	4
Capítulo 1. Fundamentos básicos de microbiología y taxonomía bacteriana	7
Capítulo 2. Caracterización morfofuncional de las bacterias	27
Capítulo 3. Genética microbiana e ingeniería genética	68
Capítulo 4. Mecanismos de patogenicidad y resistencia bacteriana. Procedimientos de control de microorganismos	77
Referencias	107

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. La otra perspectiva.	7
Figura 2. Industria.	8
Figura 3. Agricultura.	9
Figura 4. Ecosistema marino.	9
Figura 5. Veterinaria.	9
Figura 6. Tecnología de alimentos.	10
Figura 7. Árbol filogenético de la vida.	21
Figura 8. <i>Streptococo</i> .	25
Figura 9. <i>Lactobacillus bulgaricus</i> .	25
Figura 10. Micrococos, diplococos, estreptococos, tétrada, sarcina, estafilococos.	27
Figura 11. Bacilos.	28
Figura 12. Vibrios, espirilos y espiroquetas.	28
Figura 13. Estructura de la célula procariota.	29
Figura 14. Pared celular en bacterias gram positivas y gram negativas.	32
Figura 15. Membrana citoplasmática.	33
Figura 16. Citoplasma.	34
Figura 17. Retorcimientos y enrollamientos del ADN circular.	34

Figura 18. ADN extracromosómico, plásmido o episoma.	35
Figura 19. Clasificación de las bacterias según el número y posición de los flagelos.	38
Figura 20. Sífilis congénita. Aspecto sugestivo de células B en la corteza tímica.	42
Figura 21. Incubadora.	46
Figura 22. Medios de cultivo.	47
Figura 23. Medios de cultivo para identificación.	49
Figura 24. Medios de cultivo en placa.	49
Figura 25. Microbiología e inmunidad.	50
Figura 26. Fases de crecimiento bacteriano en sistema cerrado.	51
Figura 27. Curva de crecimiento exponencial en sistema continuo.	52
Figura 28. Técnica de recuento en placa.	53
Figura 29. Cámara de recuento de Petroff-Hauser.	54
Figura 30. Método de turbidimetría.	55
Figura 31. Respiración aeróbica.	59
Figura 32. Degradación de carbohidratos.	60
Figura 33. Degradación de lípidos.	60
Figura 34. Degradación de proteínas.	61
Figura 35. Ciclo de Calvin-Benson.	62
Figura 36. Síntesis de polímeros.	64
Figura 37. Síntesis de proteínas en los ribosomas.	66
Figura 38. Cadena epidemiológica.	82
Figura 39. Proceso de producción de anticuerpos.	89
Figura 40. Secuencia de antibiograma.	105



# CAPÍTULO 1. FUNDAMENTOS BÁSICOS DE MICROBIOLOGÍA Y TAXONOMÍA BACTERIANA

## Definición de microbiología

Se entiende por microbiología al estudio de todos aquellos organismos vivos que no pueden observarse a simple vista debido a su pequeño tamaño (microorganismos, microbios o gérmenes). El término 'microbiología' fue introducido, por primera vez, por Louis Pasteur. Es una palabra compuesta, proveniente del latín (*micro* = pequeño, *bios* = vida; y *logos* = tratado o estudio).



Figura 1. La otra perspectiva.

Se incluye como una rama de la biología que se encarga de estudiar aspectos de morfología, fisiología, genética y relaciones con el medio ambiente de organismos celulares que solo pueden ser observados con el uso del microscopio, tales como bacterias, hongos, algas y protozoarios; además de organismos subcelulares o acelulares (no celulares) como los virus, y partículas aún más pequeñas como los viroides y los priones.

## Importancia y aplicaciones de la microbiología

La importancia de la microbiología yace en su condición de disciplina científica encargada del estudio de los microorganismos, lo cual le confiere la característica de ser una ciencia en continuo cambio y desarrollo, que aporta la capacidad de interactuar íntimamente con otras áreas del conocimiento científico básico y aplicado, tales como la biología, bioquímica, inmunología y genética molecular, entre otras.

Los aportes brindados por los estudios en el campo de la microbiología han permitido entender, con el estudio de los microorganismos, muchos mecanismos fisiológicos, genéticos y bioquímicos que ocurren de manera semejante en seres superiores. De igual manera ha contribuido en dilucidar muchos enigmas en los campos de la salud, aclarando procesos de salud-enfermedad infecciosa, y permitiendo el desarrollo de nuevos sistemas de diagnóstico y tratamiento de infecciones.

En el área odontológica en particular, la microbiología ha conseguido explicar el origen de muchas patologías bucales (caries dental, enfermedad periodontal, etc.), así como exponer de manera más sencilla las herramientas adecuadas para determinar el manejo de las mismas y evitar complicaciones que comprometan la salud integral del ser humano.

### **Ramas de la microbiología**

De acuerdo al objeto de estudio de la microbiología podemos encontrar las siguientes ramas:

- a. Bacteriología:** Es la rama de la microbiología encargada del estudio de las bacterias.
- b. Virología:** Se encarga del estudio de los virus.
- c. Micología:** Acreditada de estudiar los hongos.
- d. Ficología:** Estudia particularmente las algas microscópicas.
- e. Protozoología:** Es la rama que estudia los protozoos.

### **Campos de aplicación de la microbiología**

Tanto desde un punto de vista general como sistemático existen varias disciplinas que surgen del tronco inicial de la microbiología, entre las cuales se encuentran:

- a. Microbiología industrial:** En este campo se incluyen todas aquellas industrias que utilizan microorganismos para producir en gran escala diversas sustancias como medicamentos, bebidas alcohólicas, químicos orgánicos, etc.

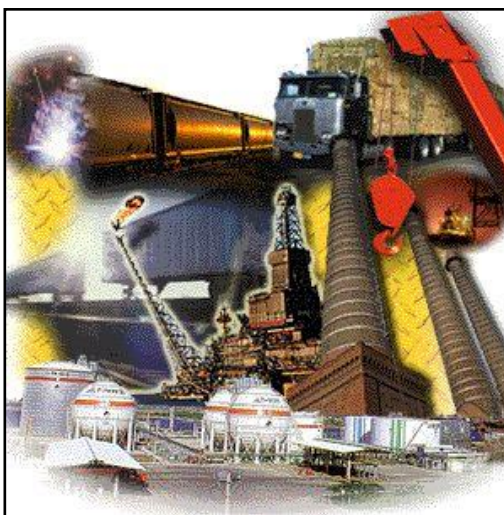


Figura 2. Industria.  
Fuente: Universidad Nacional de Colombia (s.f.)

**b. Microbiología del suelo o agrícola:** Se encarga del estudio de aquellos microorganismos que afectan la productividad del suelo y la fertilidad, y de las enfermedades infecciosas de las plantas.



Figura 3. Agricultura.

Fuente: Instituto de Ecología Política (2007).

**c. Microbiología marina:** Estudia todos aquellos microorganismos que permiten mantener el equilibrio de la biota marina.



Figura 4. Ecosistema marino.

Fuente: Sala (2011).

**d. Microbiología veterinaria:** Estudia específicamente el diagnóstico y tratamiento de patologías infecciosas en animales.



Figura 5. Veterinaria

Fuente: Universidad Nacional Autónoma de México (s.f.)

**e. Microbiología sanitaria:** Es un campo de aplicación bastante importante pues maneja el estudio preventivo de la contaminación microbiológica, incluyendo el

tratamiento de aguas de consumo, control de expendio de alimentos, desinfección y saneamiento ambiental y de utensilios, manejo de aguas negras y desarrollo de estrategias en biodegradación de desechos humanos en general.

**f. Microbiología de los alimentos:** Es aquella que determina la idoneidad de los alimentos para el consumo humano, controlando la presencia de patógenos.



Figura 6. Tecnología de alimentos.  
Fuente: Laboratorio de Propiedades Físicas  
y Tecnologías Avanzadas en Agroalimentación-  
Universidad Politécnica de Madrid (2009).

**g. Microbiología médica y clínica:** Aplica los conocimientos de la microbiología al estudio de las enfermedades infecciosas de los seres humanos, con la misión y visión diagnóstica y terapéutica. Dentro de esta se incluye la microbiología oral encargada de comprender los microorganismos que intervienen en los diversos procesos de cavidad bucal y su relación con otros sistemas del cuerpo humano.

### **Evolución histórica de la microbiología en el mundo**

El desarrollo del conocimiento en el campo odontológico trasciende el tiempo e, incluso, la conciencia acerca del concepto de microbiología. Desde la aparición del ser humano en su forma más primitiva, ha existido la necesidad de comprender aunque sea de manera empírica el origen de las dolencias que le aquejan y la búsqueda de alivio para las mismas. Es así que podemos dividir la historia de la microbiología en cuatro grandes épocas, las cuales se describen con detalle a continuación, seguidas de la evolución de la microbiología en Venezuela:

**a. Época de las especulaciones (antes del descubrimiento del microscopio hasta 1870)**

Es un período que abarca desde la aparición de conciencia en el ser humano, el cual reconoció en su proceso de vida el surgimiento de afecciones físicas y la capacidad de mejoría recurriendo a creencias culturales diversas, es entonces cuando se pueden mencionar los sucesos incluidos en el Cuadro 1:

**Cuadro 1. Cronología de sucesos en la época de las especulaciones**

<b>Fecha</b>	<b>Suceso</b>
4000 a.C.	Costumbres populares que indican el comienzo de la microbiología, creencia en el origen sobrenatural de las enfermedades, curadas con rituales, sacrificios, brebajes y exorcismos.
1850-1400 a.C.	Una de las primeras señales de control sanitario con la presencia de desagües y letrinas en la cultura griega.
1500 a.C.	Los hindúes describen 1120 enfermedades en un manuscrito conocido como el Susrata.
1000 a.C.	La cultura egipcia manejaba conocimientos del poder antiséptico de elevadas concentraciones de sal. Los hebreos registran en su libro Levítico las condiciones de purificación de la mujer después del parto y medidas de prevención y control para la peste, sarna, tuberculosis y sífilis.
460-377 a.C.	Hipócrates rechaza el origen divino de las enfermedades y lo atribuye a alteraciones en los fluidos vitales por transmisión de un factor extrínseco o miasma. Dividió las enfermedades en crónicas, agudas, epidémicas y endémicas.
450 y 420 a.C.	Empédocles y Aristófanes estudiaron el paludismo.
210-130 a.C.	Claudio Galeno describió las falsas membranas de la difteria.
Siglo II a.C.	Aristóteles y Marcus T. Varro establecen el principio de contagio por criaturas invisibles, concepto manejado por griegos, romanos y árabes.
70-19 a.C.	Virgilio estudió la enfermedad del carbunco.
-	El Viejo Testamento hace referencia a la contagiosidad de la lepra.
Siglos XII y XIII d.C.	Roger Bacon introduce el concepto de la sepsis en algunas enfermedades y fabrica las primeras lentes simples.
1546	Girolamo Fracastorius expuso la teoría de los mecanismos de contagio de las enfermedades transmisibles.
1590	Zacarías Janssen es el primero en construir un sistema de lentes compuesto.

1564-1642	Galileo construye el primer instrumento de amplificación visual con lentes simples.
1669	Athanasius Kircher vinculó las formas microbianas y la enfermedad.
1632-1723	Anthony Van Leeuwenhoek inventó el microscopio, descubrió los protozoos y las bacterias en agua de lluvia y sarro dental. Describió el movimiento browniano de las bacterias.
Siglo XVII	John Needham defendió la teoría de la generación espontánea de la vida.
1668	Francesco Redi aportó pruebas contra la generación espontánea.
1737	Carl Von Linnaeus establece la nomenclatura binomial de los microorganismos y otros seres vivos.
1745	Pierre Fauchard relacionó la placa y sarro dental con la aparición de enfermedad periodontal.
1770	Von Plencizk estudia la diversidad morfológica microbiana y su relación con la enfermedad.
1775	Spallanzani rechazó la teoría de generación espontánea demostrando el error cometido por Needham.
1798	Edward Jenner inventa la vacuna al estudiar la viruela. Es llamado el "Padre de la inmunología".
1837	Schwann y Schulze demuestran la posibilidad de esterilizar el aire.
1857-1864	Louis Pasteur plantea la teoría de la enfermedad infecciosa. En este período realizó estudios de fermentación, desarrolló la pasteurización y rebatió la generación espontánea. Es conocido como el "Padre de la bacteriología".
1864	Joseph Lister planteó las técnicas de asepsia quirúrgica, estudió la fiebre puerperal y el uso de desinfectantes.
1870	Ernest Abbe desarrolla el condensador y el objetivo de inmersión para el microscopio compuesto.

### **b. Época de oro (de 1870 a 1910)**

Conocida de tal manera debido a que es el momento más brillante en la evolución de la microbiología como ciencia. Es una época de florecimiento, trabajo arduo y perfeccionamiento en temas referentes a etiología, tratamiento y prevención de enfermedades infecciosas y en técnicas y métodos de bacteriología. A continuación, en el Cuadro 2, se explican con detalle los sucesos más importantes de esta época.

Cuadro 2. Cronología de sucesos en la época de oro

Fecha	Suceso
1872-1905	Robert Koch demostró el agente etiológico del carbunco, aisló el bacilo de Koch conocido como <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , descubrió la tuberculina utilizada en la actualidad para determinar infección tuberculosa. Estableció los cuatro postulados o leyes de Koch referentes a la etiología de las enfermedades infecciosas: 1. El microorganismo debe estar presente en las lesiones del individuo enfermo, 2. Debe ser aislado en cultivo puro, 3. Al inocularse en animales de experimentación debe reproducir la enfermedad y, 4. Debe ser recuperado de los animales infectados experimentalmente. Koch también introdujo métodos y técnicas bacteriológicos.
1886	Smith y Salmon demostraron el poder inmunizante de suspensiones salinas bacterianas de patógenos muertos.
1887	Petri, discípulo de Koch perfeccionó las investigaciones en creación de medios de cultivo sólidos, substituyendo la gelatina por el agar e introduciendo la "placa de Petri".
1888	Emile Roux y Alexandre Yersin purificaron la toxina diftérica.
1890	Emile Von Behring determinó la presencia en sangre de la antitoxina diftérica.
	Chamberland ideó métodos de filtración que permitieron el descubrimiento e identificación de los virus como agentes infecciosos.
1892	Iwanoski demostró que el "mosaico" del tabaco era producido por agentes filtrables.
1898	Beijerinck denominó "VIRUS" a estos agentes filtrables ultramicroscópicos.
1898	Frosch descubrió el virus de la fiebre aftosa.
1898	Nocard y Roux identificaron el agente de la pleuroneumonía bovina y lo denominan <i>Micoplasma mycoides</i> .
1898	Ricketts descubrió microorganismos diferentes a las bacterias, dentro de las células sanguíneas de individuos con fiebre machada o enfermedad de las Montañas Rocosas.
	Sergei Winogradsky estudió la microbiología del suelo describiendo el papel de las bacterias en el proceso de fijación del nitrógeno.
	Martinus Beijerinck aisló una bacteria del género <i>Rhizobium</i> responsable de la fijación del nitrógeno y bacterias de los géneros <i>Nitrosomonas</i> y <i>Nitrobacter</i> capaces de metabolizarlo.
1910	Paul Erlich inició los estudios en quimioterapia antimicrobiana introduciendo la arsfenamina (compuesto 606) para tratar la sífilis.

	John Tyndall ideó un método de esterilización conocido como “tindalización”, basado en ebullición intermitente.
	Hans Gram creó una técnica de coloración con su nombre para diferenciar dos grupos bacterianos por sus características de tinción.

### c. Época contemporánea o moderna (desde 1910 hasta nuestros tiempos)

Desde 1910 la inclusión de nuevas técnicas de estudio microbiológico han permitido ilustrar con mayor exactitud la ultraestructura de los microorganismos, así como los procesos genéticos, permitiendo que la microbiología madure como disciplina científica. En especial los últimos 30 años han marcado un gran avance y afianzamiento de los conocimientos al incursionar a nivel molecular en el diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades infectocontagiosas.

A continuación, en el Cuadro 3, se explican con detalle los sucesos más importantes de esta época.

Cuadro 3. Cronología de sucesos en la época contemporánea o moderna

Fecha	Suceso
	Twort y D’Herelle descubrieron los virus capaces de infectar bacterias, conocidos como bacteriófagos.
1910	Rous Peyton aísla el primer retrovirus causante de sarcoma en las aves.
1919	Jules Bordet obtuvo el Premio Nobel por estudiar la reacción serológica de fijación del complemento.
1924	Albert y Güerin Calmette preparan la vacuna BCG para profilaxis de la tuberculosis.
1929	Alexander Fleming descubre la penicilina producida por el hongo <i>Penicillium notatum</i> .
1934	H. A. Gins logró cultivar la mayoría de las bacterias orales demostrando su requerimiento de anaerobiosis.
1935	Gerard Domagk descubre el efecto antimicrobiano del Protoncil (sulfanilamida).
	Ernest Chain y Howard Florey profundizan el estudio de la penicilina.
1939	René Dubos descubre la tirotricina.
1940	Diseño e implementación de técnicas de microscopía más avanzadas como el microscopio electrónico y el de fluorescencia.



1943	Selman Waskman descubre la estreptomina producida por el género <i>Streptomyces</i> .
1944	Avery MacLeod estudia los fenómenos de transformación genética, demostrando que el factor transformante y hereditario es ADN.
1949	Selman Waskman descubre la neomicina.
1949	B. M. Dugar descubre la aureomicina y desde entonces se han descubierto, implementado y sintetizado industrialmente muchos antibióticos y quimioterápicos.
1950	Ludwik Gross halla un retrovirus causante de tumores en ratones y pollos.
1954	John Enders, Frederick Robbins y Thomas S��ller implementaron técnicas de cultivo celular para el estudio de los virus.
	Thomas Rivers se dedica a estudiar la coriomeningitis linfocítica, entre otras virosis.
	Salk y Sabin desarrollan la vacuna contra la poliomielitis a partir de cultivos en tejidos de mono.
1958	George Beadle, Joshua Lederberg y Edward Tatum ganan el Premio Nobel al demostrar que los caracteres hereditarios dependen de estructuras denominadas genes y que estos pueden alterarse por recombinación.
1959	Arthur Kornberg y Severo Ochoa ganan el Premio Nobel por aislar, purificar y sintetizar ARN y ADN
1965	François Jacob, André Lwoff y Jacques Monod proponen el modelo de regulación enzimática conocido como "operon lac".
1978	Robert Gallo aisla el primer retrovirus humano denominado virus linfotrópico de células T (HTLV-I).
1979	Sigmund Socransky formuló los postulados de Socransky, demostrando que las enfermedades gingivoperiodontales son procesos infecciosos.
1980	Luc Montagnier descubre el primer retrovirus humano.
1982	Robert Gallo descubre un segundo retrovirus humano conocido como HTLV-II.
1984	Robert Gallo identifica un tercer retrovirus humano causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, conocido como HTLV-III.
	Essex y Hanki aislan un retrovirus de monos relacionado al HTLV-III humano y lo denominan STLV-III
1985	Essex y Hanki aislan otro retrovirus humano que puede causar inmunodeficiencia (HTLV-IV).

#### d. Microbiología oral

A continuación, en el Cuadro 4, se presentan en orden cronológico las contribuciones de personajes importantes en el área de la microbiología oral.

Cuadro 4. Cronología de aportes en el área de la microbiología oral

Personaje- Fecha	Aporte
Pierre Fauchard (1745)	Intentó relacionar la placa dental y el sarro con las infecciones gingivoperiodontales.
John Hunter (1773)	Señaló que las gingivitis y las piorreas podían causar afecciones a distancia en el organismo.
Willoughby Miller (1890)	Publicó un libro acerca de los microorganismos de la boca humana, planteando la teoría quimioparasitaria según la cual los microorganismos al degradar los carbohidratos de la dieta producen ácidos que desmineralizarían los tejidos duros del diente. Relacionó además los procesos gingivoperiodontales con la presencia de microorganismos
Vincent y Plaut (1896)	Asociaron la presencia de espiroquetas y fusobacterias con las infecciones periodontales.
Leon Williams (1897)	Encontró bacterias adheridas al esmalte cariado y pensó que la causa era la producción de ácido.
Greene Black (1898)	Estableció el término placa dental y estudió los estreptococos de la misma.
J.K. Clark (1924)	Descubrió la bacteria <i>Streptococcus mutans</i> causante de la caries.
H. A. Gins (1934)	Destacó la importancia de los anaerobios en las zonas más afectadas del periodonto.
Robert Stephan (1944)	Demostró que no todas las placas dentales son cariogénicas.
Paul Keyes (1950-1960)	Demostró la capacidad de <i>Streptococcus mutans</i> de producir caries dental gracias a la ingesta de carbohidratos de la dieta. También demostró que la caries dental es una enfermedad infecciosa y transmisible.
J.B. MacDonal y colaboradores (1956)	Estudiaron las bacterias anaeróbicas productoras de pigmento negro.

Paul Keyes y Robert Fitzgerald (1965)	Indican el origen multifactorial de la caries dental. Asimismo demuestran la transmisibilidad de la caries y la posibilidad de prevenirla con antibióticos.
Sigmund Sockransky (1979)	Emitió los postulados para establecer la relación entre un microorganismo y la enfermedad periodontal.
Max Listgarten (1988)	Logra determinar la invasión microbiana en los tejidos periodontales.

### e. Microbiología en Venezuela

Nuestro país ha sido partícipe directo de la evolución de la microbiología desde 1891, con importantes investigadores que han dedicado su vida a este fin. A continuación, en el Cuadro 5, se presentarán las contribuciones de dichos investigadores en orden cronológico.

Cuadro 5. Cronología de aportes en el área de la microbiología oral

Personaje- Fecha	Aporte
José Gregorio Hernández (1864-1919)	Creó la Cátedra de Bacteriología en la Universidad Central de Venezuela en 1891. Médico de los pobres. Estudió la fiebre amarilla y la bilharziosis.
Luis Daniel Beuperthuy	Estudió el mecanismo de transmisión de la fiebre amarilla atribuido a los mosquitos. Estudió la fiebre de los pantanos, el cólera y el tratamiento de la lepra.
Bernardino Mosquera (1855-1923)	Demostó la existencia de la fiebre ondulante o brucelosis en el país. Descartó que todo proceso febril se debiera al paludismo al detectar casos de fiebre tifoidea por medio de la reacción de Widal. Propuso la existencia de fiebres paralíticas y evidenció la presencia de amibas en pacientes con disentería.
Rafael Rangel (1877-1909)	Fundador de la parasitología en Venezuela, padre del bioanálisis. Descubrió el <i>Necator americanus</i> en pacientes con anemias y el <i>Ancylostomo duodenalis</i> . Estudió numerosas enfermedades de ganado caprino y bovino. Identificó el agente causal del paludismo ( <i>Plasmodium</i> ) y descubrió la especie de <i>Trypanosoma venezuelae</i> .

Enrique Meire Flegel (1864-1927)	Se dedicó a la purificación de las aguas de consumo, a estudiar la morfología del agente causal de la tuberculosis, al diagnóstico de la sífilis y al tratamiento de la difteria y la lepra.
Santos Aníbal Dominici (1869-1954)	Fundó el Instituto Pasteur en Caracas en 1895. Estudió los ciclos vitales y cuadros clínicos de la infección por <i>Plasmodium falciparum</i> .
Jesús Rafael Rísquez (1883-1947)	Dedicado al estudio del <i>Schistosoma mansoni</i> y a los aspectos anatomopatológicos de la enfermedad que causa.
Juan Iturbe (1883-1962)	Estudió al parásito <i>Schistosoma mansoni</i> , el primer caso de leishmaniasis cutánea descrito en Venezuela, la blastomycosis, la derrengadera y el ciclo vital de <i>Tripanosoma venezuelae</i> .
Félix Pifano, José Torrealba, Enrique Tejera y Arnoldo Gabaldón	Dedicados al estudio de enfermedades endémicas venezolanas como paludismo, enfermedad de chagas, leishmaniasis, tripanosomiasis equina entre otras enfermedades tropicales.
Jacinto Convit (1913-)	Descubrió la vacuna contra la lepra, preparada infectando el armadillo o cachicamo con <i>Mycobacterium leprae</i> combinado con activador de macrófagos.
José Vicente Scorza (1924-)	Uno de nuestros más grandes investigadores en el área de la parasitología, aún hoy día se esfuerza por producir conocimientos acerca de enfermedades tropicales producidas por el género <i>trypanosoma</i> entre otros.

### Microorganismos, clasificación y diferenciación

El término microorganismo se refiere a todo ser viviente de tamaño microscópico que posee cualidades estructurales y funcionales, y el cual solo puede ser observado por medio de un instrumento denominado microscopio.

El primero en clasificar los organismos vivos, aun cuando se desconocía la existencia de los microorganismos en la naturaleza, fue Linnaeus, quien en el año 1753 estableció un sistema de clasificación según el cual los organismos vivos deberían estar incluidos en uno de los dos grandes reinos por él señalados. Estos reinos eran el **animal** y el **vegetal**, estableciendo como características diferenciales primordiales entre uno y otro, la propiedad de movimiento y la capacidad de realizar la fotosíntesis.

Numerosos investigadores de la época estaban en desacuerdo con dicha clasificación, motivados por la existencia de ciertos organismos que no compartían características con ninguno de los reinos, haciéndose necesario crear otro reino específicamente para ellos. Fue Haeckel, en 1800, quien se encargó de identificar los organismos que entrarían en el reino *protista*. Dicho reino incluía a todos los seres microscópicos unicelulares con organización biológica relativamente simple (bacterias y protozoos).

Poco tiempo después, con la aparición del microscopio electrónico, fue posible observar diferencias significativas entre los organismos del reino *protista*, determinándose la existencia de dos tipos celulares conocidos como *eucariotas* y *procariotas*. Los eucariotas son del tipo celular que conforma la unidad estructural de animales, protozoos, hongos y algas; mientras que los procariotas son células menos diferenciadas encontradas en las bacterias y en las algas verde azuladas (ver cuadro 6). Debido a esto, los protistas pueden ser: *protistas superiores* y *protistas inferiores*. Hasta este momento los virus permanecen sin una clasificación específica.

Cuadro 6. Diferencias estructurales entre células *eucariotas* y *procariotas*

Característica	Eucariota	Procariota
Estructuras nucleares		
• Membrana nuclear	Presente	Ausente
• Cromosomas	Varios	Uno circular
• Nucleolo	Presente	Ausente
• División celular	Mitosis	No hay mitosis
• Histonas	Presentes	Ausentes
Estructuras citoplasmáticas		
• Membrana	Esteroles	Sólo en <i>Mycoplasma</i>
• Mitocondrias	Presentes	Ausentes
• Vacuolas	Presentes	Ausentes
• Pared celular	Ausente o de celulosa	Presente de peptidoglicano
• Aparato de Golgi	Presente	Ausente
• Ribosomas	80S (60S+40S)	70S (50S+30S)
• Movimiento ameboide	Presente	Ausente

Fuente: Barrios (1988).

Las discrepancias continúan, esta vez debido a las características peculiares del material nuclear de los protistas, motivo por el cual Whittaker en 1969 sugiere un esquema de clasificación con cinco reinos: **animal**, **vegetal**, **monera** (bacterias), **protista** (protozoos y algas) y **fungi** (mohos y levaduras), excluyendo aún de cualquier clasificación a los virus.

En 1974, fue aceptado el reino **monera** propuesto por Whittaker, denominándolo **procaryotae** y destacando dos divisiones: una para cianobacterias (algas verde azuladas) y otra para las eubacterias (bacterias verdaderas).

En 1978, Woese establece la necesidad de diferenciar con mayor propiedad los diversos organismos de la naturaleza y señala la existencia de 3 grandes dominios: **eukarya** (plantas, animales, protozoos, etc.), **eubacteria** (procariotas con paredes celulares de peptidoglicano) y **archaeobacteria** (procariotas sin peptidoglicano en su pared celular), englobando a su vez a los reinos antes señalados.

En resumen, podemos encontrar organismos celulares y acelulares. Los celulares (eucariotas y procariotas) incluidos en tres dominios o imperios, dos de los cuales pertenecen a las bacterias (reino monera); y el otro incluye a los reinos animal, plantae, fungi y protista.

Debido a que los virus no pueden ser clasificados dentro de los organismos celulares, ya que los mismos solo poseen un tipo de ácido nucleico y carecen de metabolismo intermediario, estos forman un grupo aparte, propuesto si se consideraran seres vivos, como el nuevo imperio o dominio **viridae**.

# Árbol filogenético de la vida

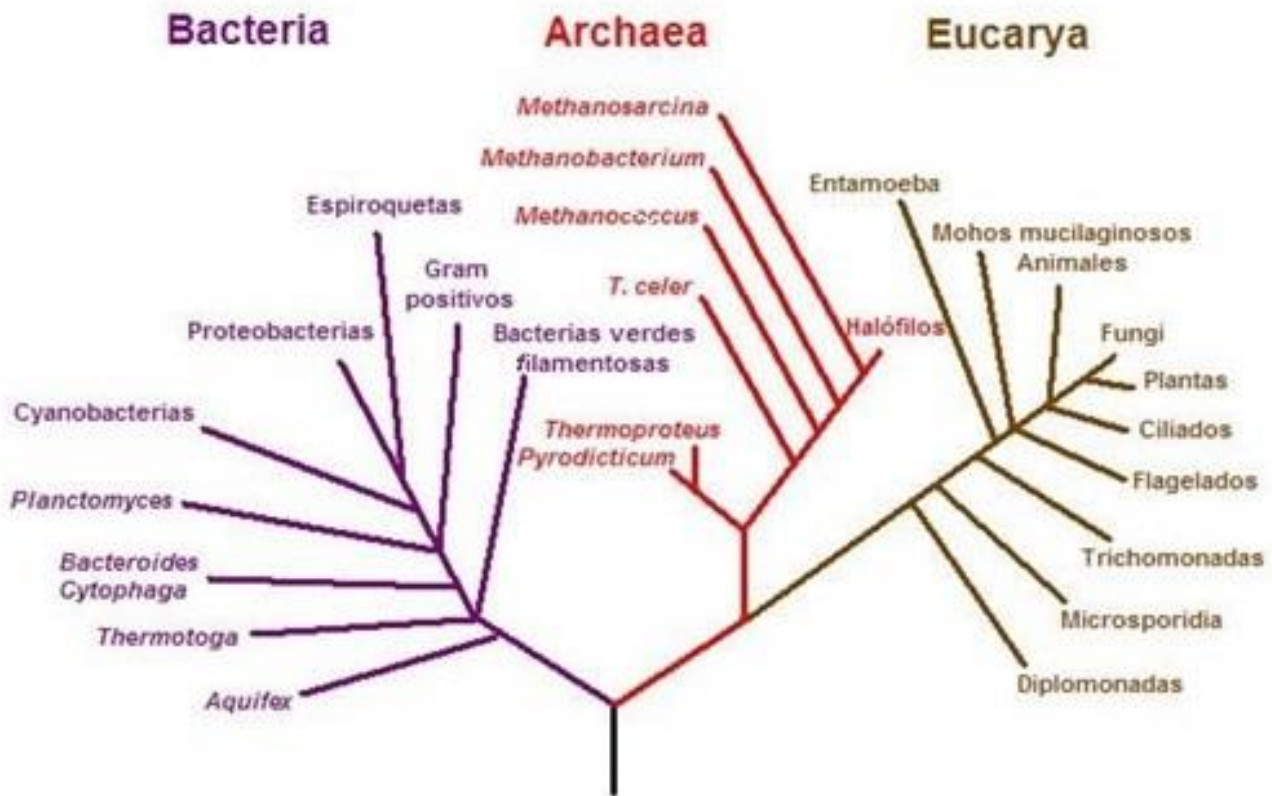


Figura 7. Árbol filogenético de la vida.  
Fuente: Woese, Kandler y Wheelis (1990).

En resumen podríamos considerar el siguiente cuadro de clasificación, que se muestra en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Clasificación de microorganismos

Científico	Clasificación
Linnaeus (1753)	<u>Reinos:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Animal: no fotosintéticos, ausencia de pared celular, móviles</li> <li>• Plantae: fotosintéticos, pared celular rígida, inmóviles</li> </ul>
Haeckel (1866)	<u>Reinos:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Animal: Animales multicelulares</li> <li>• Plantae: plantas multicelulares</li> <li>• Protista: organismos unicelulares</li> </ul>
Whittaker (1969)	<u>Reinos:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Animal: Animales multicelulares</li> <li>• Plantae: plantas multicelulares</li> <li>• Fungi: hongos y levaduras</li> <li>• Protista: protozoarios y algas unicelulares</li> <li>• Monera: organismos procariotas</li> </ul>
Woese (1978)	<u>Imperios o dominios:</u> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Eukarya: todos los organismos eucariotas</li> <li>• Eubacteria: procariotas con pared celular de peptidoglicano y membranas lipídicas unidas con enlaces éster</li> <li>• Archaeae: procariotas sin peptidoglicano y membranas lipídicas unidas con enlaces éster</li> </ul>

### Taxonomía y nomenclatura microbiana

La taxonomía puede definirse como una rama de la biología encargada de proporcionar un sistema de clasificación de los organismos vivos, permitiendo la identificación de una muestra en particular y la relación de un organismo con otros grupos cercanos.

Inicialmente se podía establecer una relación entre organismos por su morfología y compatibilidad reproductiva, posteriormente se descubrieron las relaciones entre propiedades bioquímicas, y no fue sino hasta 1900 cuando comenzó a desarrollarse un sistema de clasificación válido. A partir de este momento se comenzaron a estudiar diversas propiedades que permitían clasificar con más confiabilidad a los seres vivos, entre estas las características genéticas.



Una vez establecido un sistema ordenado de clasificación se hizo necesario asignar nombres apropiados a las diferentes entidades. Esta asignación de nombre a cada organismo vivo es lo que define el concepto de nomenclatura.

### **Reglas de nomenclatura**

El sistema de nomenclatura aún vigente en nuestros días, fue propuesto por Carolus Linnaeus en 1753. Según este sistema, se deben utilizar dos palabras para nombrar un organismo, por ello se conoce como **nomenclatura binomial**. Estas dos palabras constituyen el **género** y la **especie**.

Las dos partes del nombre son palabras latinas o latinizadas, considerando que siempre se indica primero el género con la primera letra en mayúscula y posteriormente se escribe la especie totalmente en minúsculas. Existe la tendencia a que los nombres asignados para géneros estén relacionados con características principales del organismo o con la persona que lo descubrió, o el lugar donde se mencionó por primera vez. Por su parte, la especie generalmente es un adjetivo que nos describe una propiedad distintiva del organismo en particular. Algo muy importante en este sistema binomial radica en que tanto **género** como **especie** deben ser siempre resaltados del resto del texto haciendo uso de caracteres o formatos especiales como lo son las letras *cursivas*, **negritas** o el subrayado.

Por encima del género debemos considerar otras normas para una taxa o jerarquía superior como lo es la familia. Los nombres asignados a las familias son fácilmente reconocibles por el sufijo que contiene la palabra, el cual por lo general es “aceae” o “aeae” (ejemplo: Enterobacteriaceae)

Otro aspecto a considerar es la agrupación conocida como orden. Los órdenes pueden reconocerse por la presencia del sufijo “ales” (ejemplo: Rickettsiales).

### **Categorías taxonómicas**

Dentro del sistema de clasificación taxonómica se pueden destacar diversas agrupaciones denominadas taxas o jerarquías. Estas van agrupando dentro de cada una de ellas a las de menor jerarquía hasta llegar a las más particulares como son el **género** y la **especie**.

De tal manera podemos mencionar en orden jerárquico de la más general a la más específica, las siguientes taxas:

Imperio o Dominio (agrupa varios reinos)  
Reino (agrupa varias divisiones)  
División (agrupa varios phylum)  
Phylum (agrupa varias clases)  
Clase (agrupa varios órdenes)  
Orden (agrupa varias familias)  
Familia (agrupa varias tribus)  
Tribu (agrupa varios géneros)  
Género (agrupa varias especies)  
Especie (agrupa subespecies, serotipos, etc).

## Sistemas de identificación

### a. Sistema de clasificación adansoniano

Fue ideado por Michel Adanson, quien estableció que para vincular un organismo vivo a una taxa específica se debería cumplir con un porcentaje de similitud superior al 85% cuando se comparan entre 100 y 300 características bien definidas y establecidas para un organismo de referencia (A) con aquel que se pretende clasificar (B). De esta manera, se calcula un coeficiente de semejanza basado en la siguiente fórmula:

$$\text{Coeficiente de semejanza} = \frac{a}{a+b+c}$$

Donde:

A = cepa 1

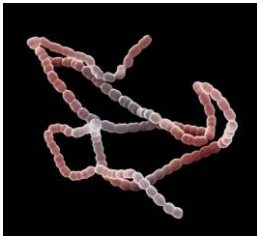
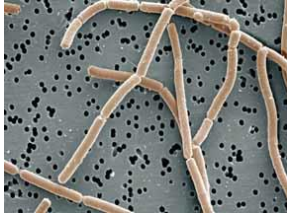
B = cepa 2

a= caracteres compartidos por ambas cepas

b= caracteres positivos en cepa A negativos en cepa B

c= caracteres positivos en cepa B y negativos en cepa A

A continuación se demostrará con un ejemplo el cálculo de este coeficiente:

	Organismo "A"	Organismo "B"
Característica a comparar	 Figura 8. <i>Streptococo</i> Fuente: Phillips - Visuals Unlimited/Getty Images (2011)	 Figura 9. <i>Lactobacillus bulgaricus</i> . Fuente: Utah State University (2010).
Forma esférica	+	-
Agrupación en cadenas	+	+
Color rosado	-	+
Extremos afilados	+	-
Se observa división celular	+	+
Células ramificadas	-	+
Tamaño menor a 5 μ	+	-

$$\text{Coeficiente de semejanza} = \frac{2}{2+3+2} = 0,29$$

### b. Sistema de clasificación por homología de ADN

Este sistema fue formulado luego del gran impacto generado por el estudio del ADN, y se basó en analizar el contenido de guanina y citosina de la bacteria, considerando que el mismo debería ser característico de especie. Para ello, se considera que una molécula de ADN está constituida por bases nitrogenadas complementarias del tipo Adenina (A), Timina (T), Guanina (G) y Citosina (C), y que el total de bases representa el 100% de la cadena de ADN. Además es conocido que por lo general el contenido de CG puede oscilar entre 22 y 74 %.

Sin embargo, este sistema no tomó en cuenta que la secuencia de ordenamiento de esas bases nitrogenadas es más determinante que la cantidad en que se encuentran presentes, por lo cual sólo resultó útil para clasificar hasta género y no hasta especie.

### **c. Otros sistemas de identificación bacteriana**

Considerando las dificultades presentadas por los sistemas antes descritos, se ha optado por adaptar las nuevas herramientas de avance tecnológico y científico, incluyendo el estudio del ADN, como parte de las características a considerar para clasificar a los seres vivos. En este sentido, han sido muy importantes para clasificar a las bacterias los estudios referentes a:

- Morfología y características de tinción
- Características de cultivo
- Reacciones metabólicas
- Composición antigénica
- Pruebas de patogenicidad (pruebas bioquímicas)
- Composición bioquímica
- Características genéticas

## CAPÍTULO 2. CARACTERIZACIÓN MORFOFUNCIONAL DE LAS BACTERIAS

### Morfología bacteriana

#### a. Características morfológicas: forma, tamaño y agrupación

La morfología bacteriana puede ser muy variada dependiendo de la elasticidad o rigidez de la pared celular. Sin embargo, es necesario destacar que los elementos más comúnmente encontrados son los cocos, bacilos, vibrios, espirilos y espiroquetas. El tamaño de estos organismos es tan pequeño que solo pueden observarse a través del microscopio, y el mismo puede variar entre 1 y 5 micras.

Los **cocos** son estructuras redondeadas o esféricas que en algunas oportunidades pueden presentarse ligeramente ovoides, con una cara aplanada o con un extremo afilado. Estos a su vez pueden mantenerse sueltos (**micrococos**) o agruparse dependiendo de los planos en que la bacteria pueda dividirse espacialmente. En un solo plano pueden agruparse en pares (**diplococos**), y si la división es consecutiva puede formar cadenas cortas o largas (**estreptococos**). Si por el contrario la división se realiza en dos planos, uno perpendicular al otro, los mismos pueden agruparse en **tétradas** y si se agrega un tercer plano paralelo a los dos anteriores entonces se forma un cubo denominado **sarcina**. Finalmente si los planos de multiplicación celular son irregulares, se pueden formar racimos de bacterias conocidos como **estafilococos** (ver figura 10).

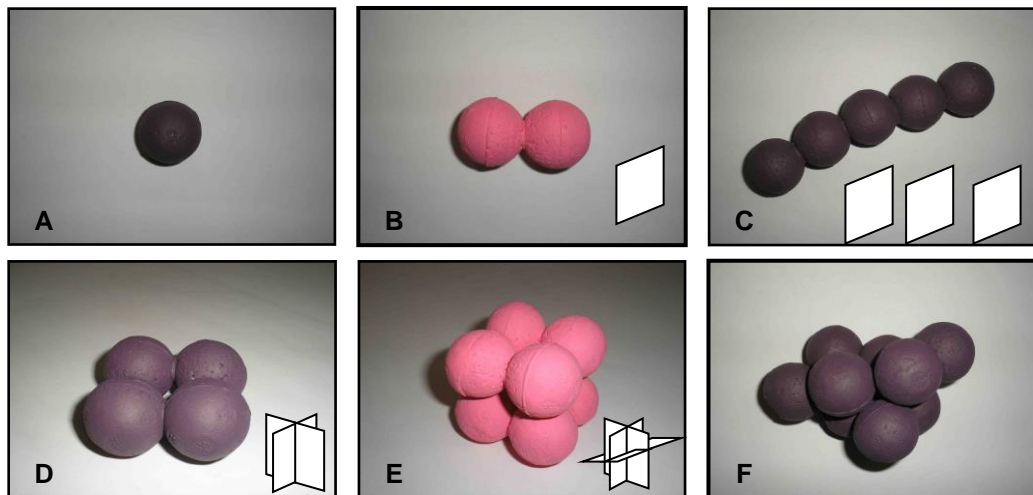


Figura 10. A. Micrococos, B. Diplococos, C. Estreptococos, D. Tétrada, E. Sarcina, F. Estafilococos.

Los **bacilos** son formas alargadas que en ocasiones pueden ser cortas o largas, con extremos redondeados, rectos o afilados. También pueden estar sueltos o agruparse como letras chinas, en empalizada, en cadenas cortas y largas y en ocasiones pueden ser ramificados (ver figura 11).

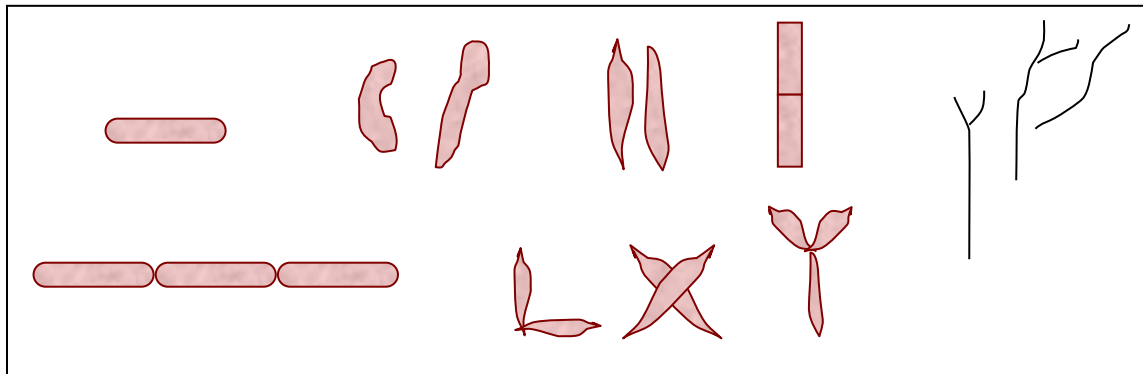


Figura 11. Bacilos.

Las últimas formas bacterianas correspondientes a vibrios, espirilos y espiroquetas se caracterizan por presentar curvaturas o inflexiones en su cuerpo celular. De esta manera, los vibrios se pueden observar con una o dos inflexiones como si se tratara de una coma o un dibujo de alas de gaviota. Los espirilos tienen varias inflexiones consecutivas demostrando mayor rigidez en su pared celular, mientras que las espiroquetas con sus curvaturas más estrechas presentan más flexibilidad.

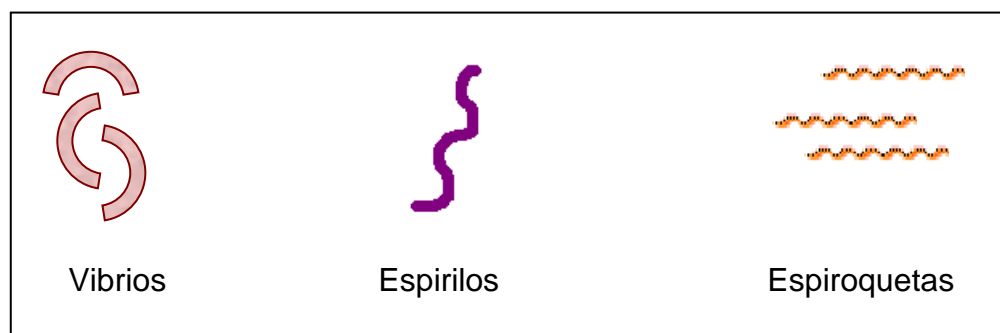


Figura 12. Vibrios, espirilos y espiroquetas.

## b. Estructuras bacterianas: composición química y funciones

El estudio de las estructuras bacterianas se puede facilitar al dividir las en estructuras de **envoltura**, **estructuras internas** y **apéndices**. De esta manera podemos encontrar: capa mucilagenosa o slime, cápsula, pared celular, membrana citoplasmática, mesosomas, citoplasma, ribosomas, nucleóide o falso núcleo (genoma o cromosoma bacteriano), plásmidos, gránulos, flagelos, fimbrias, cilios y pilis.

No todas las estructuras antes mencionadas son necesarias para la célula bacteriana, por lo cual algunas de ellas pueden encontrarse habitualmente (estructuras esenciales) y otras no (estructuras no esenciales). Las estructuras esenciales están constituidas por pared celular, membrana citoplasmática, citoplasma, mesosomas, nucleóide, ribosomas. Todas las demás estructuras pueden considerarse no esenciales.

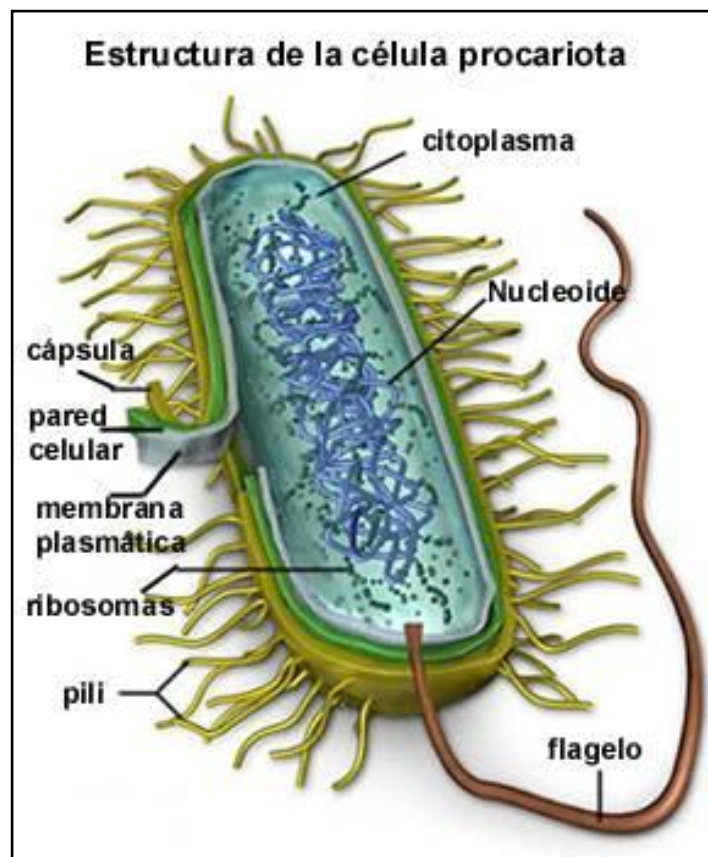


Figura 13. Estructura de la célula procariota.  
Fuente: Luengo (2006).

## 1. Elementos de la envoltura

- **Glicocáliz, capa mucilaginosa, limo o slime**

Es toda sustancia polimérica extracelular situada por encima de la pared celular. Posee una consistencia gelatinosa a viscosa constituida por ácidos lipoteicoicos en el caso de las bacterias gram positivas y por polisacárido O (antígeno somático) en el caso de las bacterias gram negativas.

Es una estructura importante en la formación de biopelículas bacterianas, ya que favorece los procesos de adhesión, agregación y coagregación que se observan en microambientes como es el caso de la placa dental.

- **Cápsula**

Es una cubierta bien definida que se encuentra adherida por encima de la pared celular constituida por polisacáridos y en algunos casos polipéptidos que le brindan una carga eléctrica importante para hacerla impermeable a algunas sustancias.

Sus funciones incluyen el evitar la desecación de la célula, impedir la difusión de algunos compuestos tóxicos electronegativos e hidrófobos, bloquear los sitios de fijación de bacteriófagos, proporcionar factores de virulencia como la capacidad de evadir la fagocitosis, evitar la acción del complemento y la opsonización. Tiene un componente antigénico conocido como antígeno K y permite la identificación y elaboración de vacunas a partir de polisacáridos capsulares.

- **Pared celular**

Es la estructura de envoltura esencial más externa y rígida de la célula bacteriana, aunque no está presente en los micoplasmas. Su composición es básicamente de polisacáridos, proteínas y lípidos, los cuales se organizan de manera diferente dependiendo de si es una bacteria gram positiva o gram negativa.



La estructura elemental o esqueleto de la pared celular es un complejo de mucopolisacárido conocido como peptidoglicano o mureína, constituido por una red de cadenas paralelas de N-acetilglucosamina y N-acetil murámico entrelazadas por cadenas laterales tetrapeptídicas. Existen muchas variedades del peptidoglicano, por lo cual, esta estructura permite caracterizar a todas las bacterias que la poseen.

Las bacterias gram positivas poseen una capa bastante gruesa constituida por el peptidoglicano, la cual presenta además otros componentes químicos importantes como lo son los ácidos teicoicos, teicurónicos y lipoteicoicos, los cuales son factores de virulencia que le confieren cargas eléctricas negativas, facilitando la adherencia de la bacteria a superficies como la de los dientes, la coagregación entre bacterias y le confieren toxicidad.

En el caso de las bacterias gram negativas, la pared está organizada desde afuera hacia adentro por la membrana externa fosfolipídica en la cual podemos encontrar algunas proteínas integrales, superficiales, funcionales (porinas) y estructurales (lipoproteína de Braun). Seguidamente encontramos el espacio periplásmico, que se delimita entre la cara interna de la membrana externa y la cara externa de la membrana citoplasmática. En este espacio encontramos el líquido periplásmico el cual alberga la capa delgada de peptidoglicano o mureína con la misma función que en las grampositivas y algunas proteínas metabólicamente activas entre otras sustancias.

La función primordial de la pared celular es mantener la forma bacteriana y protegerla del medio externo. Es responsable de algunas características de clasificación, sirve de sitio de acción para algunos antibacterianos, permite la fijación de bacteriófagos, participa en la adhesión, la división celular y es antigénica.

Las bacterias pueden carecer de pared celular de manera natural como los micoplasmas (formas L) o se pueden crear de manera artificial, destruyendo parcial o totalmente esta estructura. Así podemos encontrar **protoplastos**

que carecen totalmente de pared celular y se producen a partir de células gram positivas; y **esferoplastos** que carecen parcialmente de algunos componentes de la pared celular y se generan de bacterias gram negativas.

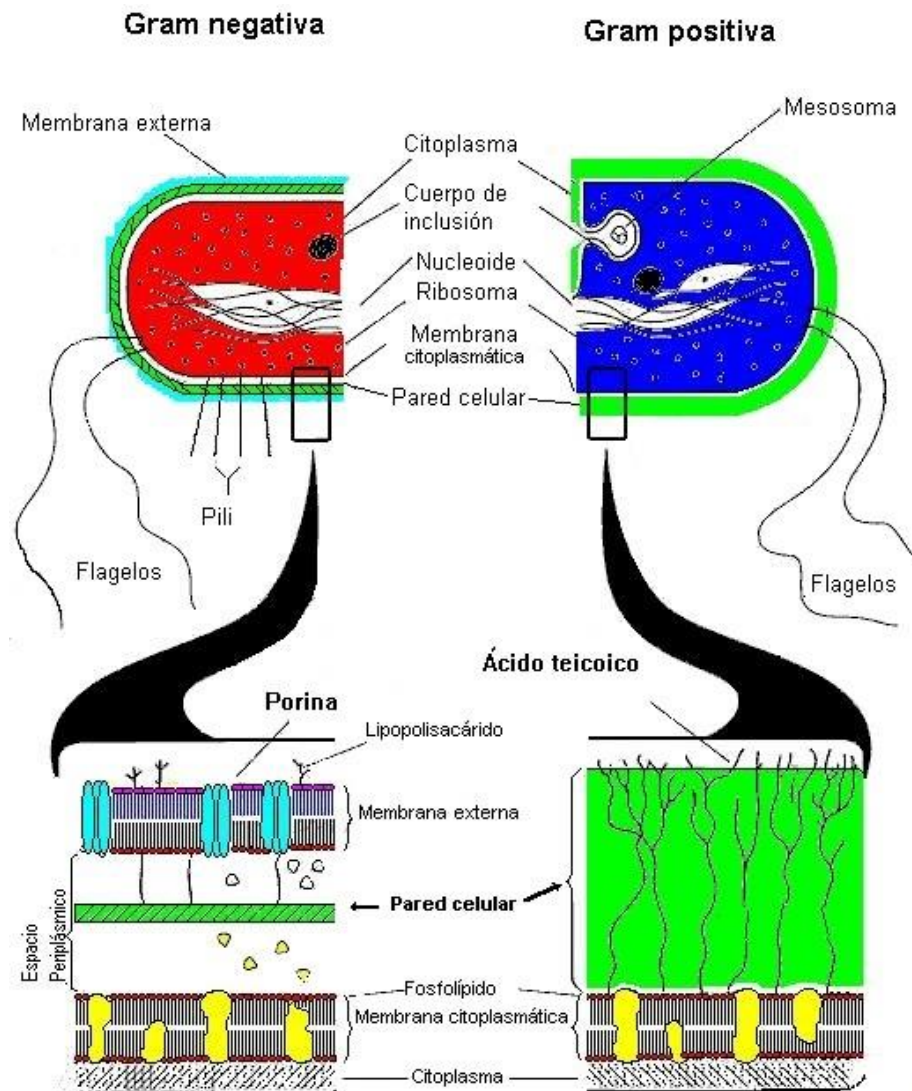


Figura 14. Pared celular en bacterias gram positivas y gram negativas.  
Fuente: Raisman y González (2007a).

- **Membrana citoplasmática**

Es otra estructura de envoltura esencial, más flexible y constituida por una bicapa fosfolípida y proteica. Los componentes principales son las fosfatidiletanolaminas, fosfatidilglicerol y glucolípidos; y raramente podemos encontrar colina, esfingolípidos, ácidos grasos poliinsaturados y esteroides. Presenta una organización referida por algunos autores como mosaico fluido,

donde las diferentes sustancias que la componen se estructuran de acuerdo a las necesidades de funcionalidad de la célula.

Se puede entonces atribuir a la membrana plasmática una función como barrera osmótica que permite a la bacteria soportar cambios osmóticos extremos del medio, sin embargo, pueden ocurrir fenómenos de **plasmólisis** (en solución hipertónica) o **plasmóptisis** (en solución hipotónica).

Sus funciones además incluyen actividad enzimática relacionada con transporte de electrones, respiración celular y producción de energía, transporte de sustancias teniendo una permeabilidad selectiva.

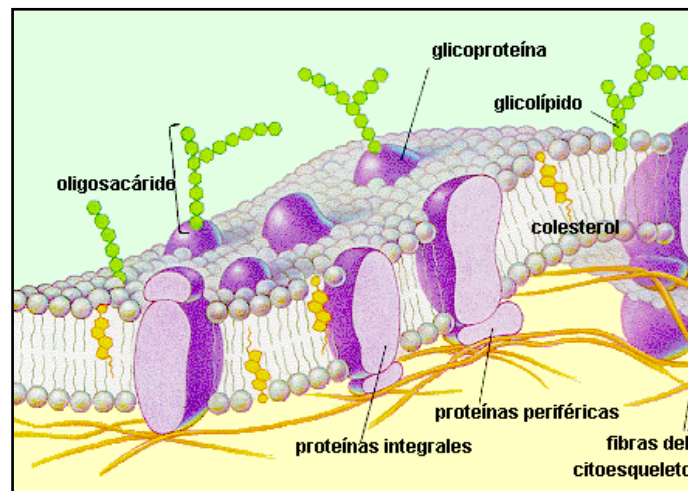


Figura 15. Membrana citoplasmática.  
Fuente: Sánchez (2001a).

- **Mesosomas**

Son organelas directamente relacionadas con la membrana citoplasmática, parecidas a sacos o invaginaciones asociadas a la replicación del ADN bacteriano y a la división celular por formación de tabiques o septas.

## 2. Elementos internos

- **Citoplasma**

Es la porción celular que constituye mayor porcentaje de la bacteria conformada principalmente por agua (80%). En el citoplasma se encuentran

en suspensión todos los elementos internos celulares (ribosomas, inclusiones, etc.) además de algunas sustancias libres como ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, carbohidratos, iones inorgánicos y compuestos de bajo peso molecular.



Figura 16. Citoplasma.  
Fuente: Mateu y Chartre (2001).

- **ADN bacteriano, nucleoide, genoma o cromosoma**

En el caso particular de los organismos procariotas, como lo son las bacterias, el ADN de doble cadena se encuentra conformando una estructura única circular que constituye el genoma y único cromosoma bacteriano. Por no poseer membrana nuclear se refiere al mismo como un falso núcleo o nucleoide.

Está constituido, como todo ADN, por bases nitrogenadas púricas y pirimídicas, fosfato y desoxirribosa. Su función principal es garantizar la preservación de la información genética que será transmitida a la descendencia, así como mantener la regulación genética sobre la expresión de las funciones celulares y características observables.

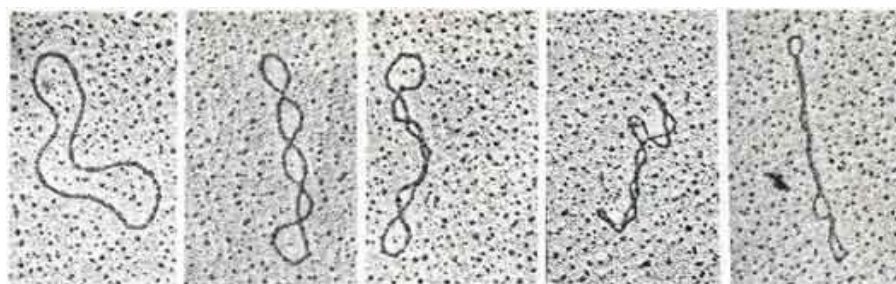


Figura 17. Retorcimientos y enrollamientos del ADN circular.  
Fuente: Benito (s.f.)

- **Transposones**

Los transposones son también llamados genes saltarines y se caracterizan por ser secuencias de información genética que se duplican y se van insertando en otras zonas del cromosoma modificando la información del mismo y llevando a mutaciones.

- **ADN extracromosómico**

También conocido como plásmido o episoma. Un plásmido es material genético extracromosomal y autorreplicante, compuesto por ADN capaz de transmitir información genética relacionada con factores de virulencia y patogenicidad entre células bacterianas, sobretodo relacionados con resistencia a los antibacterianos. Cuando un plásmido se integra al cromosoma bacteriano se denomina episoma, el cual puede permanecer allí o desincorporarse en cualquier momento recuperando su autonomía.

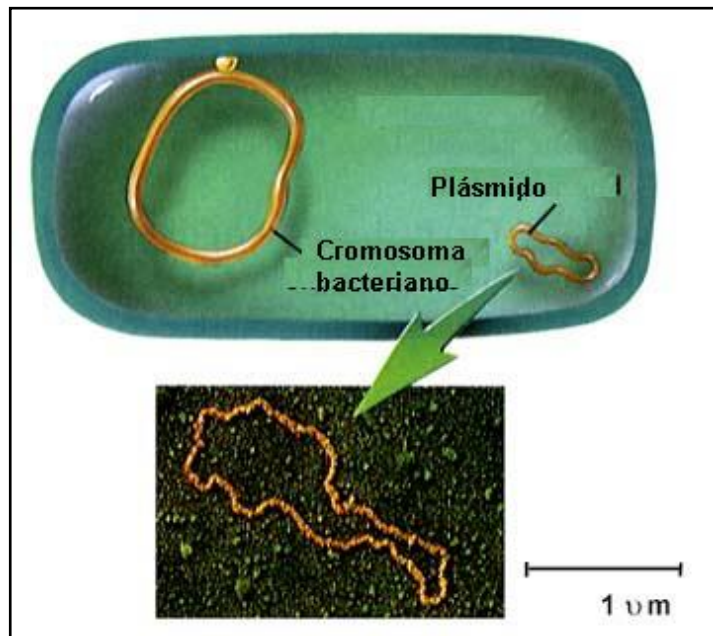


Figura 18. ADN extracromosómico, plásmido o episoma.  
Fuente: Raisman y González (2007b).

- **Ribosomas**

Se encuentran empaquetados en el citoplasma como organelas esenciales, conformados por ARN (ribosomal y de transferencia) y proteínas.

La función de los ribosomas al igual que en otros tipos celulares es la de sintetizar proteínas. El ribosoma bacteriano se caracteriza por tener una velocidad de sedimentación de 70S (Unidades Svedverg); conformado por dos subunidades que por separado se conocen como subunidad mayor o 50S y subunidad menor o 30S.

Es en los ribosomas donde podemos encontrar secuencias de ARN ribosomal que permiten caracterizar, identificar y clasificar las bacterias con alta confiabilidad, como es la secuencia de ARNr 16S. Esto debido a que son secuencias que se preservan casi invariables a través de los procesos de evolución, lo cual facilita el establecimiento de relaciones interespecies y, por ende, la clasificación bacteriana.

- **Inclusiones y gránulos**

En el citoplasma también pueden encontrarse fragmentos de material que no son parte integral de la estructura celular, llamados inclusiones. Las inclusiones pueden parecer pequeños gránulos dispersos y estar conformadas de diferentes sustancias.

Existen gránulos de glucógeno, ácido polihidroxitúrico, fosfato inorgánico, azufre o compuestos nitrogenados. Los gránulos metacromáticos están compuestos de polifosfato y también se les conoce como gránulos de volutina, los cuales toman un color rojizo al colorearse con azul de metileno.

La principal función de las inclusiones es mantener las reservas nutricionales, aunque algunas de estas inclusiones también son materia de desecho celular.

- **Esporas**

Las esporas son estructuras bacterianas no esenciales que brindan un mecanismo de resistencia a las condiciones adversas que se pueden presentar en el medio. Sólo dos géneros de importancia médica son capaces de producirlas: *Bacillus* y *Clostridium*. Se caracterizan por ser cuerpos

altamente resistentes, rígidos, durables, pequeños, formados dentro de la célula y capaces de desarrollarse en un nuevo organismo vegetativo al encontrar las condiciones apropiadas.

La constitución de la pared de la spora es básicamente de ácido dipicolínico o dipicolinato de calcio, el cual brinda la rigidez necesaria para que esta pared sea lo suficientemente resistente e impermeable. Internamente la spora contiene todos los elementos de una célula bacteriana en estado de latencia, con suficientes reservas nutricionales que fueron recogidas en esa estructura para mantener la célula en ese estado hasta hallar las condiciones ambientales más adecuadas.

### 3. Apéndices

- **Flagelos**

Los flagelos son apéndices no esenciales de tipo helicoidal en forma de hilo que le brindan motilidad a las bacterias. Por lo general son largos y delicados, constituidos por una serie de subunidades proteicas conocidas como flagelinas.

Los flagelos se insertan a través de la membrana externa de la pared celular y llegan hasta la membrana citoplasmática. Entre sus funciones, además de la motilidad, se encuentra el favorecer la penetración en tejidos y vencer fuerzas contracorriente, tienen poder antigénico constituyendo el antígeno H (flagelar) que resulta también inmunógeno, y bajo la coordinación de algunas estructuras “sensoriales” pueden actuar como factores quimiotácticos.

Dependiendo del número y posición de los flagelos, las bacterias reciben diversas denominaciones:

- Átricas: no tiene flagelos
- Monótricas: un solo flagelo polar
- Perítricas: varios flagelos alrededor
- Lofótricas: un penacho de flagelos en un extremo
- Anfítricas: uno o varios flagelos en ambos extremos

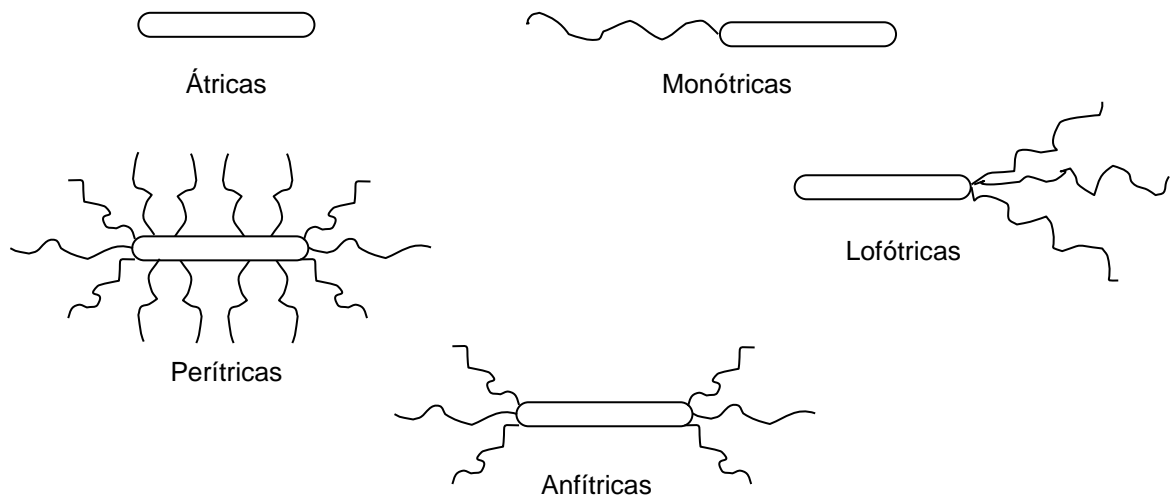


Figura 19. Clasificación de las bacterias según el número y posición de los flagelos.

- **Fimbrias o cilios y pilis**

Aunque pueden ser utilizados erróneamente como sinónimos debido a su similitud morfológica, cada una de estas estructuras facultativas tiene diferente función.

Las fimbrias o cilios son prolongaciones delicadas o vellosidades semejantes a pelos. Su composición química es proteica dentro de la clase de las lectinas y en ocasiones también se les llama adhesinas, pues permiten reconocer receptores tipo carbohidrato o proteico de otras células bacterianas o tisulares para facilitar la adhesión, agregación y coagregación.

Por su parte, los pilis son más largos y anchos que las fimbrias, presentando una estructura hueca que termina en una especie de botón y sirven principalmente para transferencia de material genético entre bacterias por medio de procesos de conjugación con el pelo sexual. Su composición química también es proteica.



- **Filamentos axiales**

Estas estructuras solo se encuentran en las espiroquetas y consisten de fibrillas proteicas localizadas en espiral alrededor del microorganismo y unidas a los dos polos celulares para brindar movimiento rápido espirilar.

### c. Características tintoriales de las bacterias

Una de las características de gran importancia en la clasificación e identificación bacteriana es el estudio de su morfología y sus peculiaridades tintoriales, y para poder llevar a cabo este tipo de estudio se debe contar con la herramienta del microscopio. Este instrumento ha avanzado en tecnología en los últimos años, permitiendo estudiar, cada vez con más detalles, incluso las ultraestructuras celulares, lográndose encontrar diversos tipos de microscopio de acuerdo a su utilidad. En el cuadro 8 se presentan los tipos de microscopio y sus características.

Cuadro 8. Tipos de microscopio

Microscopio	Características	Utilidad
De fondo claro	-Luz visible -0,23 $\mu\text{m}$ -Fondo brillante	- Tinciones - Fácil uso
De fondo oscuro	-Luz visible -Fondo oscuro	- Díficil tinción
De contraste de fases	-Luz difractada -Grados de brillo y contraste	- Estudio de estructuras internas
De fluorescencia	-LUV -Fluorescente en fondo no fluorescente	- Inmunofluorescencia - Auramina y rodamina
Electrónico	-Haces de $e^-$ -< 0,23 $\mu\text{m}$	- Virus - Ultraestructura

Fuente: Liébana (2002).

Además, es necesario hacer uso de diversas técnicas que nos facilitan la observación microscópica, tales como:



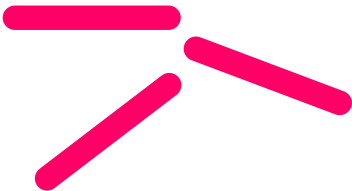
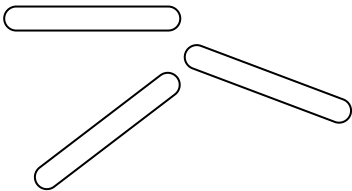
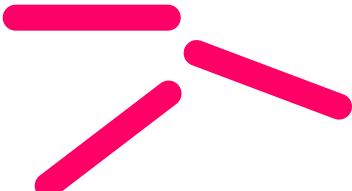
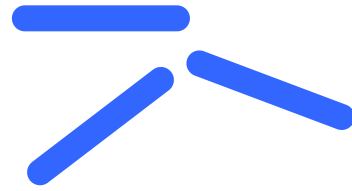
1. **Examen en fresco:** Es aquel donde la muestra se observa directamente sin uso de ningún tipo de tinción. Hay dos maneras de realizarlo:

- **Simple:** Se observa la muestra entre lámina y laminilla
- **Gota pendiente:** Es una técnica que permite observar aparte de cantidad y morfología predominante, la movilidad.

**2. Exámenes tintoriales:** Se aplican sustancias colorantes diluidas o concentradas para lograr una mejor diferenciación de las estructuras. Previo a este procedimiento es necesario fijar la muestra a una lámina porta objetos, por lo que las bacterias pierden viabilidad y mueren. Entre estos tenemos:

- **Simples:** Se hace uso de un solo colorante.
- **Diferenciales o compuestas:** En este tipo de técnicas, se utilizan dos o más sustancias colorantes. Los mejores ejemplos son:
  - Coloración de gram: Se fundamenta en la composición de la pared celular, permitiéndonos diferenciar dos grandes grupos bacterianos: gram positivos (violeta) y gram negativos (fucsia o rosado). La técnica incluye el uso de violeta de genciana o cristal violeta, lugol como mordiente para fijar el primer colorante, alcohol acetona para decolorar aquellas bacterias con alto contenido lipídico en pared celular y finalmente la fucsina como colorante de contraste.
  - Coloración de Ziehl Neelsen: Se utiliza para diferenciar aquellas bacterias que por su alto contenido de lípidos y esteroides en la pared celular, no pueden colorearse con otras técnicas. Básicamente, permite identificar bacilos ácido alcohol resistentes (BAAR) relacionados al género *Mycobacterium*. Esta técnica utiliza carbol fucsina con calentamiento continuo para permitir su penetración por la pared bacteriana, luego se decolora con ácido-alcohol para agregar un segundo colorante conocido como azul de metileno (ver cuadro 9).

Cuadro 9. Pasos de la coloración de Ziehl Neelsen

Organismos ácido alcohol resistentes	Pasos de la coloración de Ziehl Neelsen	Organismos no ácido alcohol resistentes
	1. Elaborar extendido y fijarlo con calor	
	2. Cubrir el frotis con Carbol Fucsina por 3 minutos someter a llama directa hasta que se emitan vapores sin dejar secar. Lavar con agua corriente	
	3. Decolorar con Alcohol ácido (30/70) por dos minutos y lavar con agua corriente	
	4. Cubrir con azul de metileno por 30 segundos, lavar y secar.	

- **Específicas:**

- Shaeffer-Fulton: Esta técnica utiliza verde de malaquita y calor para teñir las gruesas y rígidas paredes de las esporas bacterianas.
- Leifson: Por medio de una mezcla de rosanilina y ácido tánico se colorean y engruesan estas estructuras para su fácil observación.
- Negativa: Esta técnica se basa en las diferencias de cargas eléctricas entre algunas estructuras y las sustancias colorantes. Permite observar la cápsula bacteriana añadiendo tinta china negra a una muestra en fresco.

- **Fluorescentes**: Estas técnicas hacen uso de colorantes fluorescentes como la rodamina y la auramina. Es necesario disponer de un microscopio de fluorescencia. Útiles en la detección de anticuerpos por diagnóstico indirecto (ver figura 20).

- **Otras:** Giemsa, tinciones argénticas, azul de bromocresol, lugol, etc.

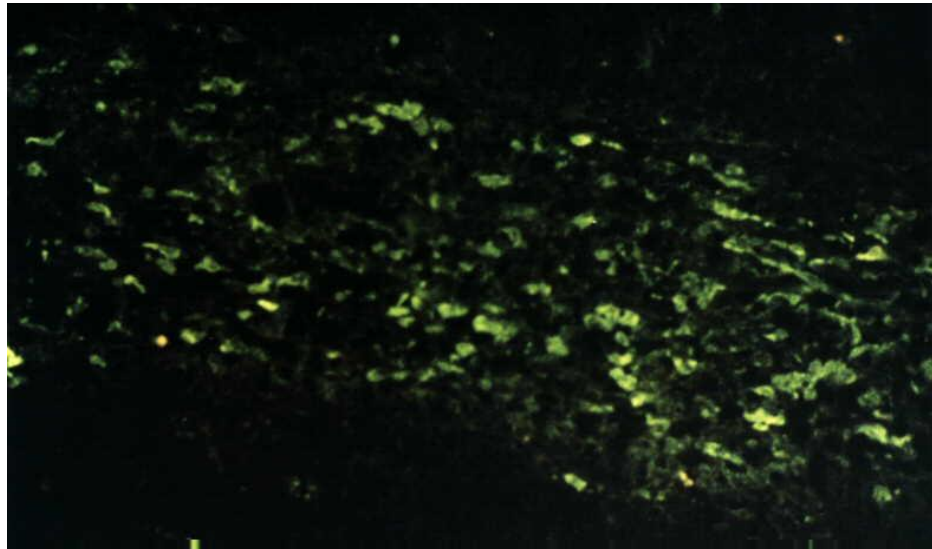


Figura 20. Sífilis congénita. Aspecto sugestivo de células B en la corteza tímica. Inmunofluorescencia indirecta, anticuerpo anti-Ig humana, 250 x.  
Fuente: Fonseca y otros (1997).

## **Fisiología bacteriana. Medios de cultivo. Reproducción. Curva de crecimiento**

### **a. Requerimientos nutricionales para el desarrollo bacteriano: fuentes de energía, nutrientes adicionales**

Como todo organismo viviente, las bacterias necesitan de fuentes nutricionales que garanticen el aporte suficiente para la generación de energía a ser utilizada en los procesos metabólicos celulares.

Las bacterias pueden obtener sus nutrientes a partir de tres fuentes principales: endógenas (productos del propio metabolismo bacteriano), exógenas (obtenidas del medio externo) e interbacterianas (productos excretados por otros microorganismos).

A su vez, los nutrientes que necesita una bacteria se clasifican de acuerdo a la utilidad o importancia que tengan estos en su desarrollo, pudiéndose nombrar:

- 1. Nutrientes básicos:** Estos pueden ser macronutrientes si se necesitan en grandes cantidades, o micronutrientes si es en bajas concentraciones.

Los macronutrientes incluyen: hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, agua, carbono y cationes:  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ . Por su parte, los micronutrientes son por lo general parte de cofactores enzimáticos como:  $Co^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Mo^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$  y  $Mn^{2+}$ .

De acuerdo a la fuente de carbono podemos describir dos tipos de bacterias: las **autótrofas** o **litótrofas** que utilizan como fuente de carbono sustancias inorgánicas como el  $CO_2$ ; y las **heterótrofas** u **organótrofas** cuya fuente de carbono es un compuesto orgánico preformado (carbohidratos, proteínas, lípidos). Esto resulta importante considerando que algunas bacterias pueden ser clasificadas como **capnófilas**, es decir, que tienen afinidad por el  $CO_2$ .

- **Metabolitos esenciales:** son aquellos sin los cuales la bacteria no podría continuar sus vías metabólicas ya que se encargan de conectar vías de síntesis y degradación. Entre ellos se encuentra el piruvato y el acetil coenzima A.
- **Factores de crecimiento:** son compuestos que no representan fuentes energéticas ni de carbono pero que son necesarios para el crecimiento de la bacteria, tales como: vitaminas, aminoácidos esenciales, bases púricas y pirimídicas y factores sanguíneos como el X (hemina) y V (NAD). Las bacterias capaces de sintetizar sus propios factores de crecimiento son llamadas **protótrofas** y las que no pueden, son llamadas **auxótrofas**.
- **Factores estimulantes:** son todos aquellos que sin ser necesarios al estar presentes potencian y aceleran la multiplicación. Como por ejemplo el estradiol, la progesterona, la testosterona que potencian el crecimiento de bacterias de importancia oral tales como *Prevotella intermedia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, etc.

Otro aspecto importante a considerar es la fuente principal de energía, ya que de acuerdo a esta podemos encontrar dos tipos de bacterias:

- **Fotótrofas:** obtienen energía a partir de la luz solar. No se incluyen bacterias de interés clínico humano.
- **Quimiótrofas:** obtienen la energía a partir de la degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos por medio de reacciones de oxidorreducción.

Considerando todo lo anteriormente expuesto podríamos encontrar diversas categorías bacterianas de acuerdo a sus fuentes energéticas y de carbono: fotoautótrofas, fotoheterótrofas, quimioautótrofas y quimioheterótrofas.

Por otra parte, para garantizar el adecuado desarrollo de las bacterias se deben, además, proporcionar las condiciones fisicoquímicas más cercanas a las que ellas encuentran en la naturaleza para su crecimiento. Estas condiciones incluyen: presión osmótica, luz, temperatura, pH, humedad, oxígeno, potencial de oxidorreducción y dióxido de carbono.

La presión osmótica es la fuerza que se encarga de mantener el equilibrio hidroelectrolítico en la célula, por tanto, un medio isotónico garantiza concentraciones de soluto apropiadas, mientras que un medio hipotónico puede llevar a la lisis celular, y uno hipertónico a la deshidratación.

Generalmente las bacterias de interés médico se desarrollan muy bien en condiciones de humedad atmosférica y en oscuridad. Particularmente en el caso de la mayoría de los patógenos orales, se debe tomar muy en serio el potencial de oxidorreducción, ya que las bacterias aeróbicas se desarrollan a  $E_h$  de +200 a +300 mV, mientras que las anaeróbicas estrictas necesitan que el  $E_h$  sea mucho menor a -200 mV.

## **b. Requerimientos de oxígeno, temperatura y pH**

De acuerdo a los requerimientos de oxígeno, las bacterias pueden clasificarse en:

**1. Aeróbicas estrictas:** Necesitan presiones de oxígeno equivalentes a una atmósfera (20%).

**2. Anaeróbicas:** Pueden ser:

- **Moderadas:** Crecen a presiones de oxígeno entre 2 y 8% y toleran el oxígeno atmosférico solo por 60-90 minutos.
- **Estrictas:** Solo pueden vivir a presiones de oxígeno menores a 0,5 %.
- **Facultativas:** Pueden subsistir en presencia o ausencia de oxígeno ya que cuentan con la maquinaria metabólica para resistir ambas condiciones.
- **Aerotolerantes:** Son capaces de tolerar la presencia de oxígeno pero no lo utilizan metabólicamente.
- **Microaerófilas:** Se desarrollan mejor en presiones de oxígeno entre 2 y 10%, pero el oxígeno atmosférico no resulta tóxico para ellas.

Con respecto a la temperatura, podemos encontrar tres categorías:

**1. Psicrófilas o criófilas:** Crecen de 5 a 35 °C.

**2. Mesófilas:** La mayoría de los patógenos humanos crecen bien a temperaturas de 20 a 40 °C.

**3. Termófilas:** Son bacterias que toleran temperaturas de 40 a 80 °C o superiores.



Figura 21. Incubadora.

Finalmente, considerando las condiciones de pH, podemos mencionar:

1. **Acidófilas:** Prefieren vivir en pH de 5 a 6 y pueden además tener la característica de ser acidógenas produciendo más ácido y acidúricas llevando a cabo con mayor eficiencia sus funciones metabólicas en pH bajo.
2. **Neutrófilas:** Prefieren pH de 6,8 a 7,6.
3. **Alcalófilas o basófilas:** Tienen afinidad por pH mayor a 8.

### c. Medios de cultivo: tipos, clasificación y utilidad

Los medios de cultivo son considerados uno de los sistemas más importantes para la recuperación e identificación de microorganismos. Estos pueden definirse como toda suspensión de elementos, en estado líquido, sólido o semisólido, en la cual un microorganismo puede encontrar las características nutricionales mínimas necesarias para crecer y llevar a cabo todas sus reacciones metabólicas.

Se ha descrito que existen más de 10.000 medios de cultivos diferentes. Esto puede deberse a que cada bacteria tiene requerimientos nutricionales específicos y también a que para aislar algunos microorganismos se deben utilizar sustancias que inhiban el crecimiento de otras bacterias o que nos permitan diferenciar entre un grupo, una en particular, por alguna característica distintiva de la colonia. Es por ello, que en los



medios de cultivo se estudian inicialmente las características macroscópicas del crecimiento o de las colonias bacterianas.



Figura 22. Medios de cultivo.

A manera general, un medio de cultivo debe cumplir con las siguientes condiciones:

1. Debe brindar los nutrientes adecuados, conteniendo como mínimo fuentes de carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y sales inorgánicas y en el caso de bacterias exigentes, algunas vitaminas y sustancias inductoras de crecimiento.
2. Su consistencia debe ser la adecuada, comenzando por medios líquidos. Estos pueden variar en grados hasta la solidez por medio del uso de sustancias como albúmina, gelatina o agar.
3. Garantizar la presencia o ausencia, parcial o total de oxígeno, para el crecimiento adecuado de todas las bacterias de acuerdo a sus exigencias atmosféricas.
4. Proporcionar la humedad adecuada imprescindible para el desarrollo de las células vegetativas microbianas.
5. Tener un pH adecuado, el cual por lo general se acerca a la neutralidad aunque pueden existir medios más ácidos o más alcalinos.
6. Brindar el resguardo de la esterilidad para evitar el crecimiento de bacterias contaminantes que puedan obstaculizar nuestra evaluación.

De esta manera podemos encontrar y clasificar los medios de cultivo de la siguiente manera:

- 1. Según su origen:** En vivos (huevos embrionados, animales de experimentación), naturales (leche, sangre, papa) y artificiales (agar o caldo nutriente).
- 2. Según su estado físico:** líquido (caldo), semisólido (gelatina) y sólido (agar).
- 3. Según su composición química:** complejos (compuestos químicos desconocidos como un caldo de carne), y químicamente conocidos como cualquiera de los medios comercialmente disponibles.
- 4. Según la utilidad en el laboratorio:** básicos o comunes (agar o caldo tripticasa soya), enriquecidos (agar sangre y chocolate), de enriquecimiento (caldo tetraciónato y selenito), selectivos (caldo bilis, caldo con NaCl 6,5 %), diferenciales (agar kligler y caldo urea), selectivos diferenciales (agar manitol salado, agar mitis salivarius con bacitracina y sacarosa), de transporte (medio Stewart y medio Cary Blair) y para ensayos (especiales para vitaminas, antibióticos).

En el caso de los microorganismos de cavidad bucal, la gran mayoría de los patógenos innatos deben cultivarse en medios bien especiales, debido a la gran variedad de flora habitual que puede ocasionar contaminación, así como por la exigencia nutricional o de condiciones atmosféricas de algunos. Por ello se hace necesario conocer las diversas opciones con las que contamos y dominar el manejo de estas herramientas para garantizar el mejor manejo clínico del paciente.



Figura 23. Medios de cultivo para identificación.  
Fuente: Infante (2011).

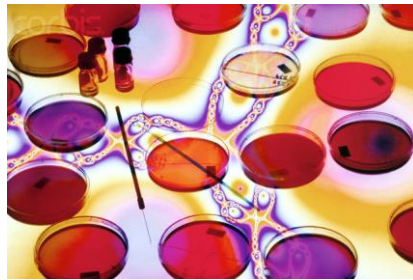


Figura 24. Medios de cultivo en placa.  
Fuente: Firefly Productions/CORBIS (1999).

#### **d. Reproducción y curva de crecimiento**

Las células bacterianas se reproducen por un proceso conocido como fisión binaria o bipartición. En este proceso se generan dos células hijas con idéntica carga genética que la célula progenitora, siendo un proceso de reproducción asexual, exponencial y semiconservativo.

El proceso de replicación se inicia cuando la membrana citoplasmática se invagina originando un mesosoma donde el ADN se va a replicar. La doble hélice de ADN se abre, y cada una de las cadenas va a servir de molde para generar la doble cadena de cada una de las células hijas. Es por ello que este proceso se denomina semiconservativo.

Luego la pared celular comienza a invaginarse formando un tabique o septo que permite separar las dos moléculas de ADN. Finalmente ocurre la separación de las células hijas. Algunas especies bacterianas son capaces de realizar este proceso cada 20 minutos, otras pueden demorar 48 horas o más.

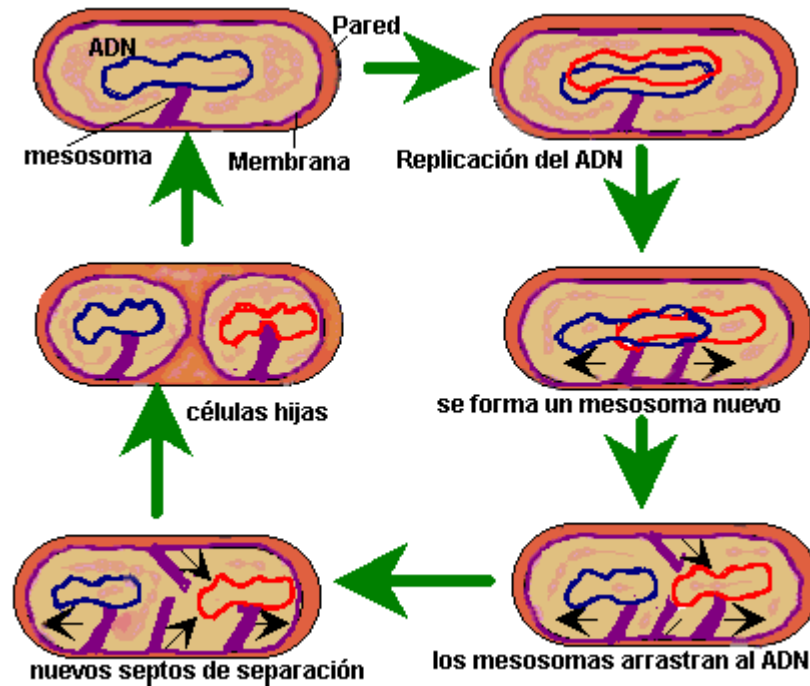


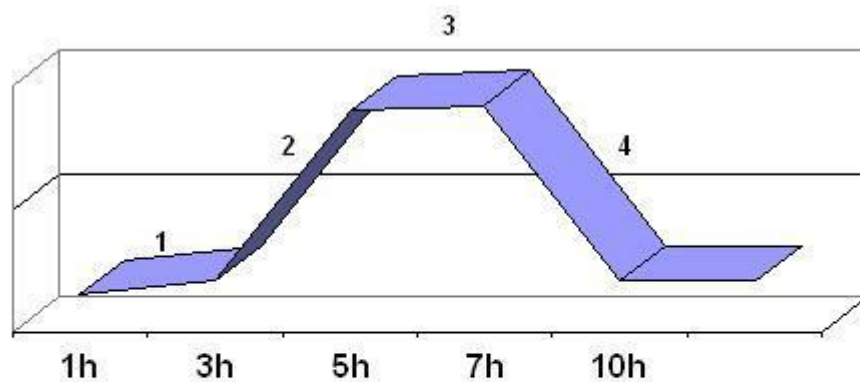
Figura 25. Microbiología e inmunidad.  
Fuente: Sánchez (2001b).

La reproducción es llamada exponencial debido a que cada vez que una célula se divide origina dos descendientes. De esta manera a partir de una célula madre obtendríamos dos células hijas; y de ellas se obtendrían cuatro, luego ocho, dieciséis y así sucesivamente. Esto nos lleva a señalar que la reproducción bacteriana cumple con fases específicas dependiendo de la disponibilidad de nutrientes y características fisicoquímicas del medio.

Se puede hablar entonces de crecimiento bacteriano en tres tipos de sistemas diferentes:

- 1. Sistema cerrado:** Cuando no se produce entrada ni salida de ningún elemento en el medio donde crece la bacteria. De esta manera podemos señalar que todas las células bacterianas tendrían un comportamiento como el que se describe en una curva estándar de crecimiento, con cuatro fases:

- **Fase de adaptación o latencia:** En esta fase las bacterias tratan de adaptarse al medio con aumento del tamaño de algunas.
- **Fase de crecimiento exponencial:** Una vez que la bacteria acciona sus vías metabólicas comienza una fase de replicación activa exponencial que incrementa el número de células viables.
- **Fase de equilibrio o estacionaria:** Conforme las bacterias consumen los nutrientes, el metabolismo se hace más lento y se equilibra el número de células nuevas con las que mueren.
- **Fase de declinación o muerte celular:** En esta fase el número de células disminuye considerablemente debido a que los productos tóxicos y la falta de nutrientes incrementa la muerte celular.



1. Fase de adaptación o latencia
2. Fase de crecimiento exponencial
3. Fase de equilibrio o estacionaria
4. Fase de declinación o muerte celular

Figura 26. Fases de crecimiento bacteriano en sistema cerrado.

2. **Sistema continuo:** En este tipo de sistemas se permite la entrada de nuevos nutrientes y la eliminación de los productos tóxicos del medio, por lo cual se prolonga la fase de multiplicación exponencial casi de manera permanente.

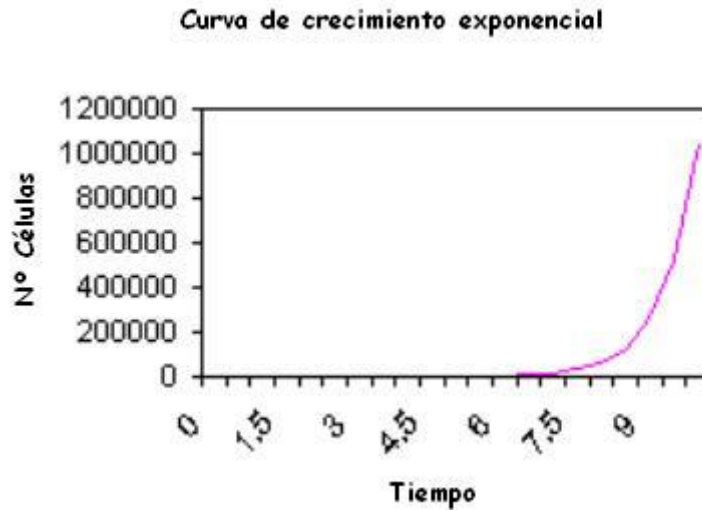


Figura 27. Curva de crecimiento exponencial en sistema continuo.

**3. Sistema sincrónico:** Este es un sistema especial que permite sincronizar todas las células bacterianas a una misma etapa del ciclo celular, haciendo uso de filtros especiales que seleccionan las bacterias más jóvenes (Método de Helmstetter-Cummings).

#### e. Métodos para determinar la población bacteriana

##### 1. Métodos directos

- **Recuento en placa:** las muestras son diluidas consecutivamente al doble del volumen inicial para reducir la cantidad de bacterias viables las cuales serán cultivadas en un medio sólido en placa para posteriormente cuantificar aquellas capaces de formar colonias por cada mililitro de muestra (Unidades Formadoras de Colonias o UFC/mL). Es una técnica muy útil en la determinación de riesgo de caries dental.

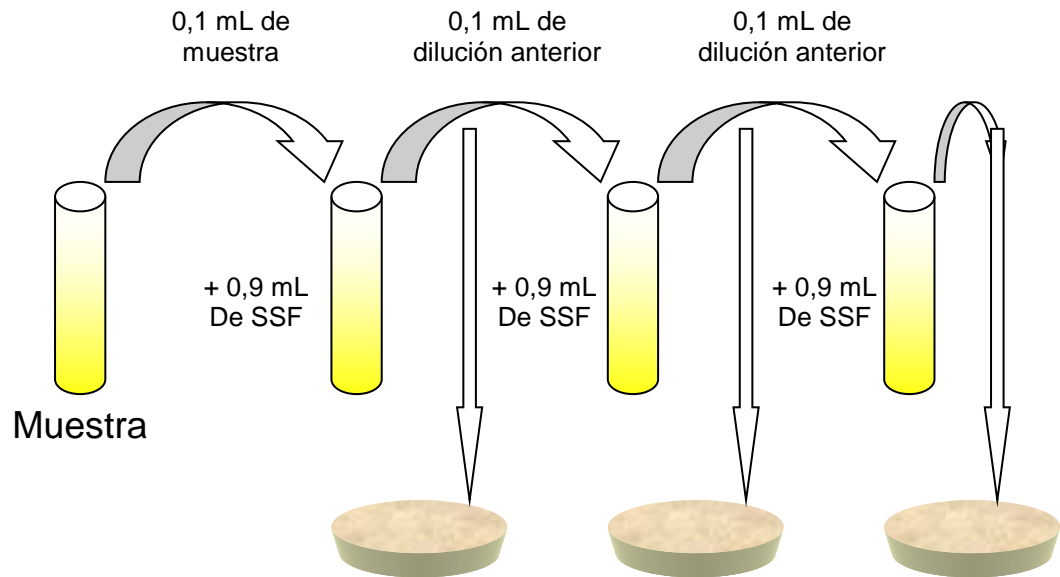


Figura 28. Técnica de recuento en placa.

- **Técnica del número más probable:** Es un método estadístico que permite conocer, de acuerdo al uso de tablas específicas, la posible cantidad de bacterias existentes en una muestra, considerando que a mayor dilución que se deba realizar mayor es el número de células presentes. La desventaja es que no determina células viables.
- **Método de filtración:** Es utilizado cuando tenemos un volumen de muestra muy elevado en el cual sospechamos que la cantidad de bacterias es muy baja, por lo que se hace necesario hacerlas pasar por un filtro donde quedarán depositadas y posteriormente este filtro será superpuesto en un medio de cultivo sólido para coadyuvar al crecimiento de las colonias bacterianas en la superficie del mismo, lo que facilita su cuantificación.
- **Recuento en cámara:** consiste en utilizar herramientas especiales tales como láminas portaobjetos gruesas con pequeñas concavidades calibradas y reticuladas que favorecen la distribución de un volumen estándar de muestra y la cuantificación de las células bacterianas. Conociendo además las medidas de la cámara se puede hacer una determinación del número de células presentes tanto vivas como muertas.

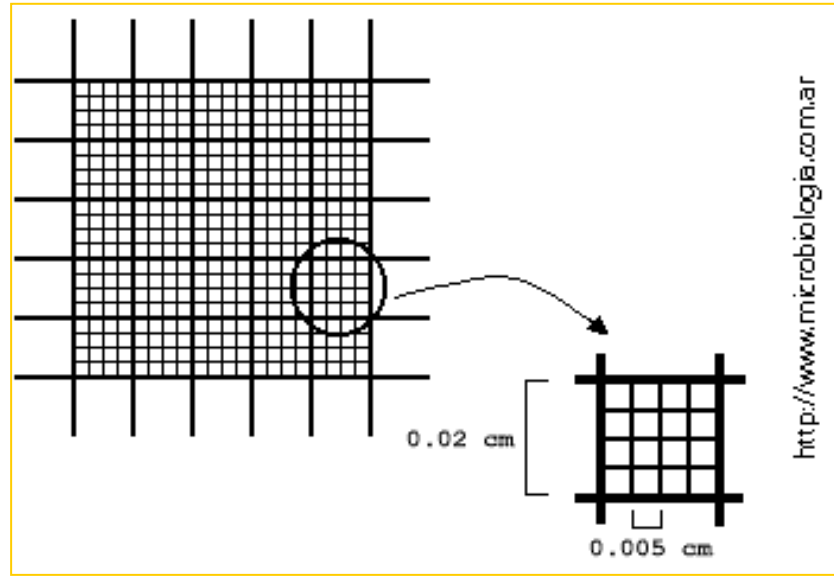


Figura 29. Cámara de recuento de Petroff-Hausser.  
Fuente: Ranea (2005).

- **Citómetro de flujo:** Es un equipo computarizado y automatizado que mide la diferencia de conductividad producida cada vez que pasa una célula bacteriana por un orificio conectado a dos electrodos, sin diferenciar células vivas y muertas.

## 2. Métodos indirectos

- **Medición de peso:** Se puede determinar el peso haciendo uso de instrumentos como las balanzas de precisión de alta sensibilidad. Una vez que tenemos el crecimiento bacteriano en un caldo de cultivo, podemos centrifugarlo y determinar el peso del sedimento (*peso húmedo*). También podemos someter ese sedimento a un proceso de desecación a 105 °C hasta obtener un peso constante, determinando de esta manera el *peso seco*.
- **Métodos analíticos:** Se hace uso de otros equipos e instrumentos analíticos de laboratorio para determinar de manera indirecta la proporción celular.



- Turbidimetría: Se basa en medir la reducción de la transmisión de luz debido a una suspensión de partículas, cuantificando la luz residual.

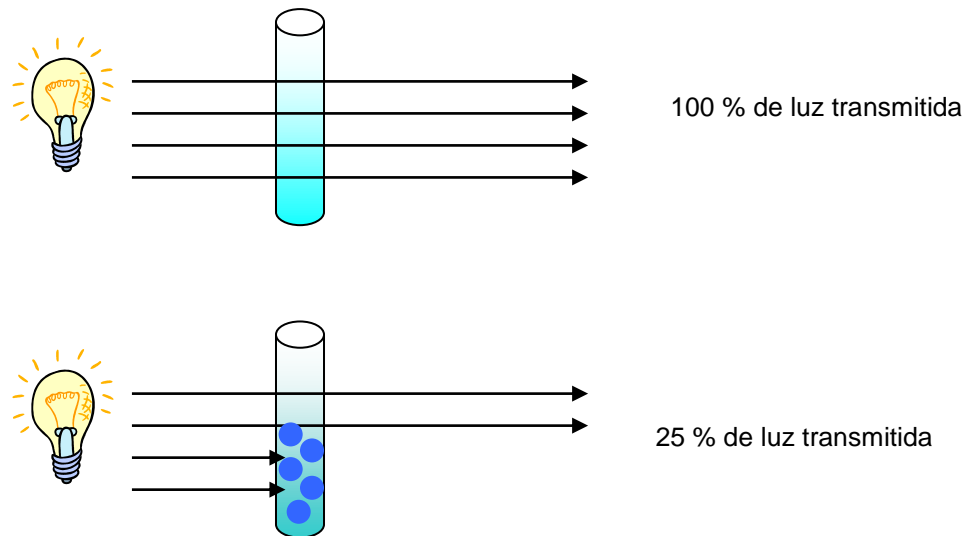


Figura 30. Método de turbidimetría.

- Estudio de la actividad metabólica: se puede evaluar la capacidad que tiene la bacteria para consumir y producir algunos elementos en un medio de cultivo, mediante la observación de las siguientes variantes:

*Producto metabólico natural*: Se observa y cuantifica la aparición en el medio de un producto bacteriano.

*Incorporación de precursores radiactivos*: Se pueden incorporar sustancias marcadas con isótopos radioactivos y determinar por medio de radioinmunoensayos la medida en que la bacteria las utiliza.

*Pérdida de un compuesto preexistente*: Se puede además cuantificar la proporción de desaparición de un compuesto preexistente en el medio debido al consumo bacteriano.

*Asimilación de compuestos preexistentes*: determina la actividad enzimática celular por medio de la utilización de sustancias

cromógenas o fluorescentes (enzimoinmunoanálisis e inmunofluorescencia).

## **Metabolismo bacteriano**

El metabolismo bacteriano, como para cualquier otro ser viviente, se puede definir como todas las reacciones químicas y biológicas de oxidorreducción que lleva a cabo un organismo para mantener su funcionalismo y asegurar su supervivencia.

Este puede ser estudiado más didácticamente separándolo en dos grandes grupos de reacciones metabólicas: catabolismo y anabolismo.

Sin embargo, resulta importante señalar que se han descrito vías que establecen un equilibrio entre el catabolismo y el anabolismo. Estas vías conocidas como anfibólicas son las que permiten que productos intermediarios o finales de cada una de las otras vías puedan ser utilizados en la vía contraria.

### **a. Catabolismo**

El catabolismo se define como todas las reacciones químicas que se realizan con la finalidad de asimilar nutrientes, para lo cual los mismos son degradados desde estructuras muy complejas hasta sustancias simples con la característica producción de energía. También es conocido como proceso de biodegradación.

Para que la bacteria pueda llevar a cabo el proceso de degradación de nutrientes, debe haber obtenido inicialmente una molécula compleja por alguna de las fuentes conocidas. Lo más frecuente es que se obtengan los nutrientes de fuentes exógenas, y por ello la bacteria debe llevar a cabo algunos procesos importantes en el catabolismo como son:

- 1. Quimiotaxis:** No es común pero mediante ella algunas bacterias móviles se ven atraídas hacia la fuente de nutrientes.
- 2. Digestión:** Debido a que los nutrientes vienen en presentaciones bastante complejas, la bacteria debe excretar enzimas digestivas (exoenzimas) al medio

externo para degradarlos hasta componentes más simples que sean fácilmente transportables hacia el interior.

- 3. Absorción:** Una vez obtenidas las moléculas sencillas, estas son introducidas a través de la membrana celular por medio de diversos mecanismos con los cuales cuenta la bacteria, tales como la difusión simple o pasiva, ósmosis, transporte asociado a permeasas (difusión facilitada, transporte con consumo energético, transporte ligado al ATP, transporte activo por gradiente de protones) y translocación de grupo.
- 4. Preparación:** Las sustancias introducidas sufren la acción de endoenzimas para prepararse a entrar en una serie de reacciones de oxidación biológica.
- 5. Oxidación biológica:** La oxidación es la separación de electrones de una molécula (molécula donadora de electrones o agente reductor). En la mayoría de estas reacciones al separarse los electrones también se separan átomos de hidrógeno, por lo que se pueden llamar también reacciones de deshidrogenación. Simultáneamente ocurre la reducción de una molécula aceptadora de electrones (agente oxidante) y en ese proceso se lleva a cabo la síntesis de ATP por medio de la fosforilación del ADP.

De las reacciones de fosforilación se pueden describir dos tipos: la **fosforilación a nivel de sustrato** que ocurre en el citoplasma celular, de la cual el mejor ejemplo es la fermentación. La otra, es la **fosforilación oxidativa** que se realiza en la membrana citoplasmática haciendo uso de las cadenas transportadoras de electrones.

La fermentación es un proceso que no requiere de transportadores de electrones y se realiza en ausencia de oxígeno utilizando una molécula orgánica como aceptadora de los electrones. Por lo general el ATP se produce por aporte del grupo fosfato a partir de metabolitos intermediarios. Las bacterias pueden llevar a cabo diversos tipos de fermentación que nos permiten caracterizarlas o utilizarlas para nuestro provecho. En el cuadro 10 se

presentan los tipos de fermentación, sus productos y microorganismos involucrados.

Cuadro 10. Tipos de fermentación

Fermentación	Producto	Microorganismos
Homoláctica	Ácido láctico	Algunos estreptococos y lactobacilos
Ácido mixta	Ácido láctico, acético, succínico, fórmico, etanol, CO <sub>2</sub>	Algunas enterobacterias ( <i>Escherichia coli</i> )
Butanodiólica	2,3-butanodiol, etanol, ácido láctico	Algunas enterobacterias ( <i>Klebsiella, Enterobacter</i> )
Alcohólica	Etanol, CO <sub>2</sub>	Levaduras
Butírica	Ácido butírico, acético, CO <sub>2</sub>	Algunas bacterias anaeróbicas esporuladas o no
Propiónica	Ácido propiónico	<i>Propionibacterium</i>

Dentro de las reacciones de fermentación o fosforilación de sustrato más conocidas podemos mencionar el ciclo de Embden Meyerhoff Parnas o Glucólisis, la vía de las pentosas fosfato y el ciclo de Etner Doudoroff.

Por otra parte, la respiración es uno de los ejemplos de reacción de fosforilación oxidativa. Este proceso de respiración puede ocurrir en presencia de oxígeno (respiración aeróbica) o en ausencia del mismo (respiración anaeróbica) teniendo como aceptor final de electrones a una molécula inorgánica salvo en una excepción.

La respiración aeróbica se reconoce como una oxidación biológica que se lleva a cabo en la membrana siendo los transportadores de electrones más frecuentemente utilizados los citocromos y sustancias como el NAD, NADP, FAD y FMN. Podemos encontrar dos tipos de respiración aeróbica:

- 1. Respiración aeróbica de sustancias orgánicas:** la molécula que se oxida es una sustancia orgánica y el aceptor final de los electrones es el oxígeno, produciéndose H<sub>2</sub>O.

**2. Respiración aeróbica de sustancias inorgánicas:** la molécula donadora es una sustancia inorgánica, generalmente  $H_2$ ,  $NH_3$  o  $H_2S$ .

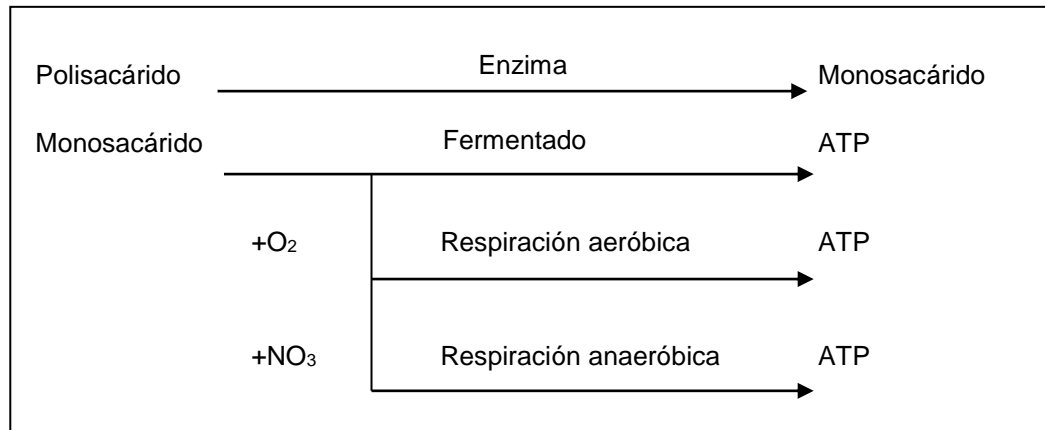


Figura 31. Respiración aeróbica.

La respiración anaeróbica se diferencia de la aeróbica en que el aceptor final de los electrones es una molécula inorgánica diferente al oxígeno o un compuesto orgánico como el fumarato. En esta no se utilizan los transportadores de electrones conocidos para la respiración aeróbica, en cambio, se utilizan proteínas que carecen de grupos hemo como las ferredoxinas (ejemplo: la nitrato reductasa).

## b. Reacciones catabólicas

### 1. Degradación de carbohidratos

Los carbohidratos pueden ser oxidados o reducidos, resultando de gran importancia los procesos de fermentación en la generación de caries dental (fermentación homoláctica).

A manera general, un polisacárido puede ser degradado por exoenzimas hasta monosacáridos los cuales pueden ser introducidos a la bacteria para su degradación total y producción de ATP (ver figura 32).

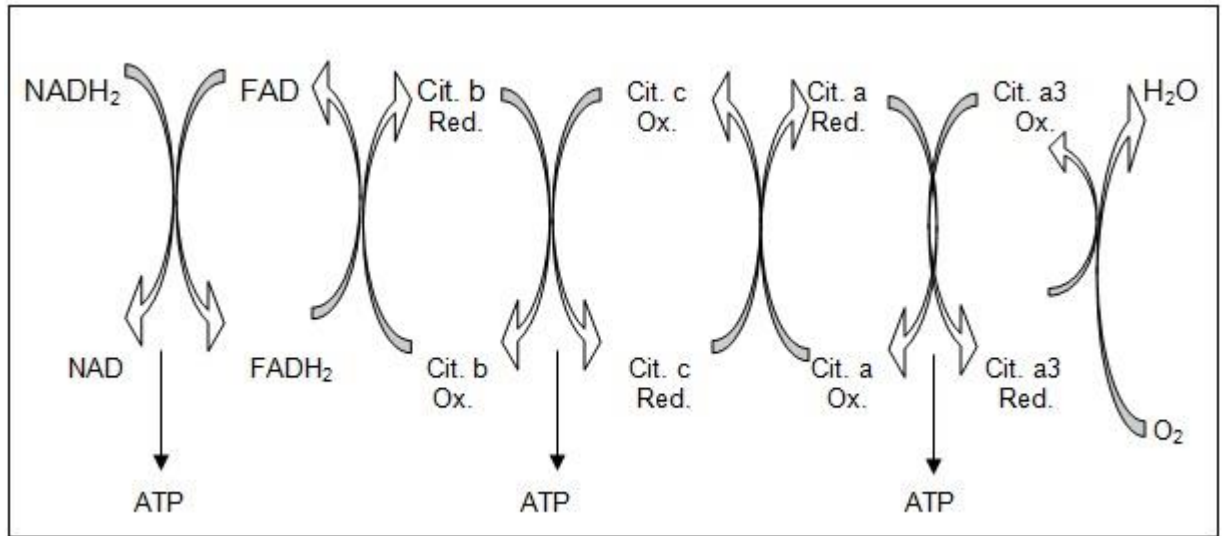


Figura 32. Degradación de carbohidratos.

## 2. Degradación de lípidos

Como sustancias complejas, los lípidos deben ser degradados por exoenzimas (lipasas) hasta sus componentes básicos, es decir, glicerol (alcohol) y ácido graso. El alcohol puede ser utilizado en la glicólisis y el ácido graso puede, por un proceso de beta oxidación, servir como precursor de acetil coenzima "A" que puede entrar al Ciclo de Krebs (ver figura 33).

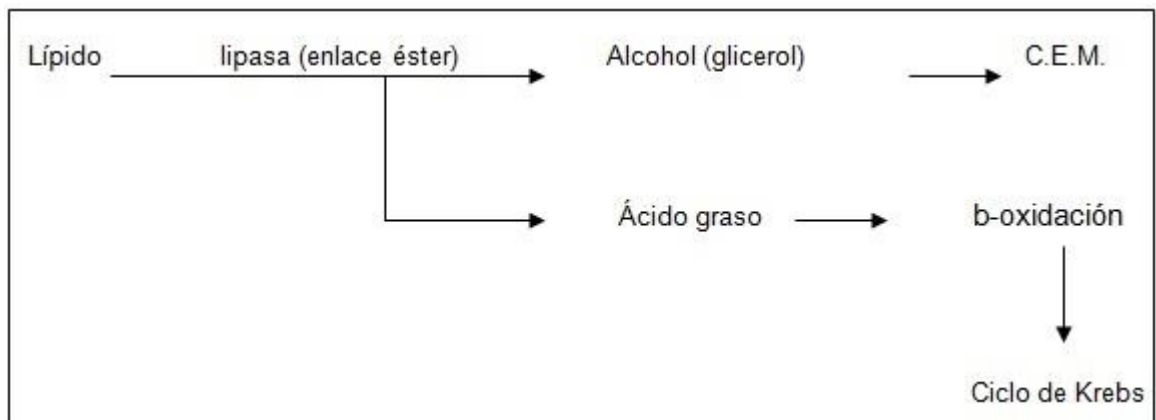


Figura 33. Degradación de lípidos.

### 3. Degradación de proteínas

Las proteínas son afectadas por la acción de las proteasas que permiten la separación en subunidades de péptidos los cuales a su vez serán degradados hasta la unidad fundamental de las proteínas, los aminoácidos, por acción de las peptidasas.

Una vez obtenido el aminoácido, la bacteria puede hacer uso de este por varias vías conocidas, la desaminación, la descarboxilación y la transaminación.

La desaminación es un proceso mediante el cual una enzima desaminasa que se produce en presencia de pH alcalino es capaz de eliminar el grupo amino del aminoácido, convirtiéndolo en un cetoácido.

El proceso de descarboxilación, por su parte, necesita de pH ácido para la liberación de las enzimas descarboxilasas al remover el grupo carboxilo.

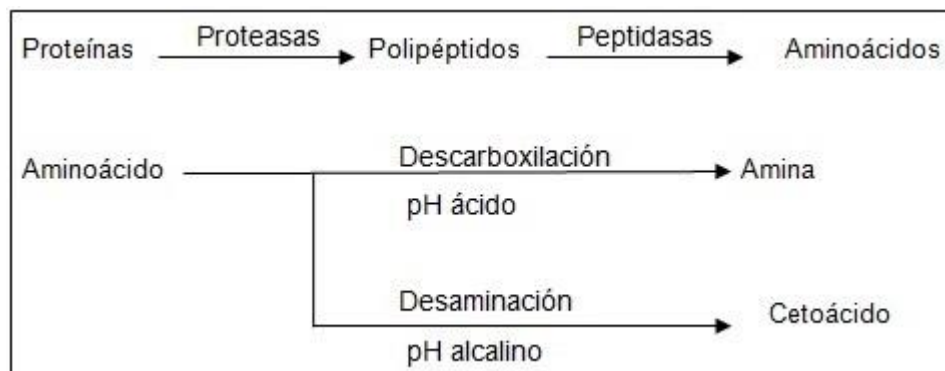
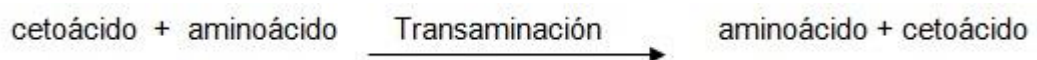


Figura 34. Degradación de proteínas.

Finalmente el proceso de transaminación permite transformar un aminoácido en un cetoácido utilizando el grupo amino que le fue removido para introducirlo en un cetoácido y obtener un aminoácido diferente.



### c. Anabolismo

El anabolismo es la serie de reacciones de biosíntesis que ocurren para el aprovechamiento de sustancias simples y su transformación en sustancias más complejas que pueden ser parte de los componentes celulares en estructuras tales como pared celular, membrana citoplasmática, ácidos nucleicos, enzimas, etc.

### d. Reacciones anabólicas

#### 1. Síntesis de carbohidratos

Las bacterias pueden sintetizar sus carbohidratos a partir de monosacáridos preformados como la glucosa presente en el medio o en reservas internas, así como a partir de compuestos más sencillos como el  $\text{CO}_2$  por medio del ciclo de Calvin Benson.

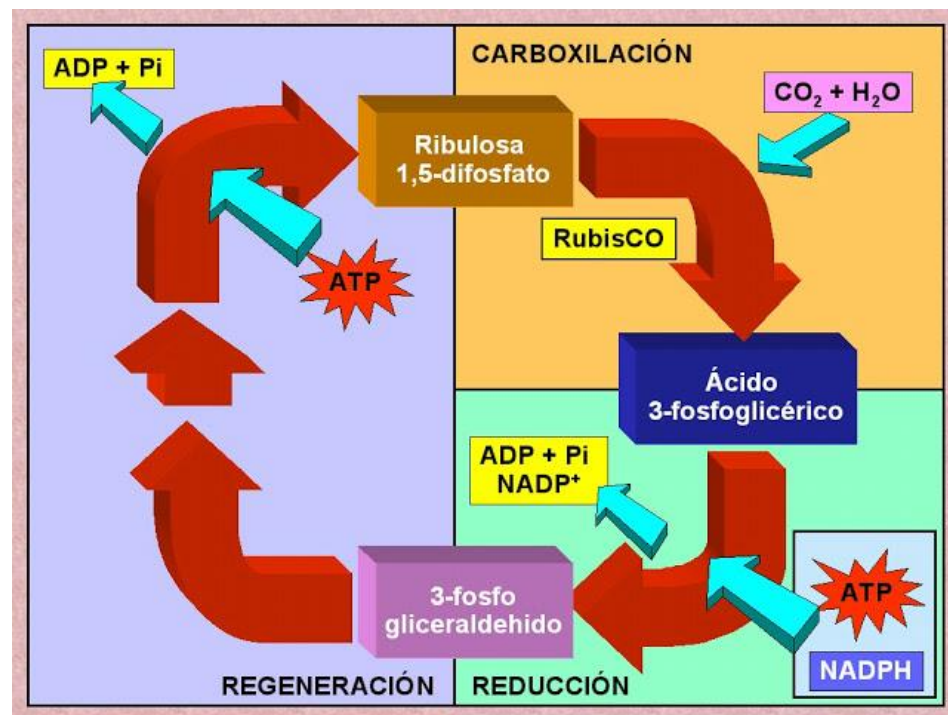


Figura 35. Ciclo de Calvin Benson.

Fuente: García (2004)

Dependiendo de la complejidad del carbohidrato necesario, la bacteria puede hacer uso de diversas vías para la síntesis del mismo, de allí tenemos:



- **Síntesis de hexosas:** Las bacterias pueden obtener hexosas a partir de compuestos como la uridin difosfoglucurónido (UDPG). Este compuesto es particularmente importante en la obtención de UDP-galactosa, UDP-acetilglucosamina y UDP-acetilmurámico, siendo estos dos últimos primordiales en la conformación de la pared celular bacteriana.

Las hexosas pueden, además, sintetizarse a partir de compuestos no glucosídicos como el piruvato por medio de una vía metabólica conocida como la gluconeogénesis.

- **Síntesis de polisacáridos:** A partir de las hexosas la bacteria puede formar enlaces entre ellas para constituir polisacáridos complejos tales como el glicógeno que le sirve de reserva nutricional y energética; y algunos polisacáridos solubles e insolubles como los dextranos y los levanos, muy importantes en procesos de adherencia, agregación y coagregación bacteriana para la formación de placa dental y generación de caries.
- **Síntesis de polímeros:** El polímero más importante sintetizado por las bacterias es el peptidoglicano o mureína, utilizado para la constitución de la pared celular bacteriana.

Este componente se forma por la unión de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina en forma de redes con cadenas laterales tetrapeptídicas. Le confiere la rigidez a la pared y su síntesis se lleva en varias etapas desde el citoplasma hasta llegar a membrana y finalmente en la pared.

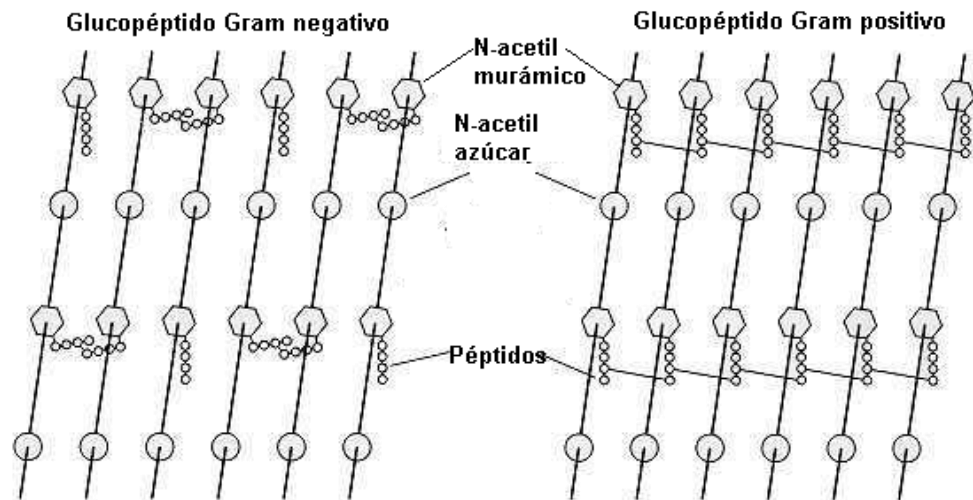


Figura 36. Síntesis de polímeros.  
Fuente: Raisman y González (2007c).

## 2. Síntesis de lípidos

El proceso de síntesis de lípidos es similar a observar el proceso de degradación en sentido inverso, ya que se necesita de ácidos grasos y de glicerol.

El glicerol es obtenido a partir del fosfato de hidroxiacetona generado como metabolito intermediario en el ciclo de Embden Meyerhof Parnas. Por su parte, el Acetil coenzima A (AcoA) se produce como consecuencia del ciclo de Krebs. Este AcoA va cediendo pares de átomos de carbono hasta formar una molécula de ácido graso saturado, al cual se le pueden incluir insaturaciones y cadenas laterales dependiendo de la necesidad celular.

Una vez que la célula tiene ambos componentes, es capaz de formar un enlace éster entre ellos para de esta manera producir un lípido (triglicérido).

## 3. Síntesis de proteínas

La síntesis proteica comienza por la captación de estos preformados, o de ser necesario, realiza la síntesis de los mismos.

Para que la célula bacteriana pueda sintetizar un aminoácido, utiliza precursores obtenidos a partir del ciclo de Krebs y debe realizar los procesos siguientes:

- En primer lugar, la bacteria lleva a cabo un proceso de desaminación de un aminoácido de reserva que no necesita.
- Posteriormente, el grupo amino es introducido por transaminación en un cetoácido intermediario del ciclo de Krebs o algún otro presente de reserva en la célula y que pueda ser precursor del aminoácido que se quiere obtener.

Una vez que la célula está provista de los aminoácidos necesarios, entonces lleva a cabo la síntesis de proteínas en los ribosomas, siguiendo los siguientes pasos:

- **Activación:** Al llegar el ARNm hasta el citoplasma, se produce un proceso de activación de los ribosomas permitiendo que las subunidades ribosomales localicen esta secuencia de bases nitrogenadas y se produzca la unión de cada aminoácido con su ARNt correspondiente. En este proceso actúan las aminoacil-ARNt-sintetasas, iones magnesio y ATP.
- **Iniciación:** El ribosoma es capaz de reconocer en el ARNm el triplete de bases AUG, denominado triplete de iniciación el cual va a permitir el ingreso al ribosoma del aminoácido metionina y comenzar de esta manera a sintetizar un péptido.
- **Prolongación o elongación:** El ribosoma bacteriano posee dos sitios de unión a los aminoácidos, el locus A o aminoacil y el locus P o peptidil. La iniciación se produce en el locus P, permitiendo que los demás aminoácidos se vayan agregando en el locus A, formándose un enlace peptídico con el aminoácido del locus P por medio de la peptidiltransferasa.

- **Translocación:** El ARNt que ya entregó su aminoácido sale del locus P y se desplaza el ribosoma en la hebra de lectura quedando libre el locus A para un nuevo codon del ARNm y un anticodon del ARNt con su respectivo aminoácido.
- **Terminación:** Conforme se ha formado una cadena polipeptídica, el ribosoma es capaz de reconocer una secuencia del ARNm llamada secuencia de terminación, conformada por cualquiera de los codones: UAG o UAA que provocan la liberación de la proteína del ribosoma.

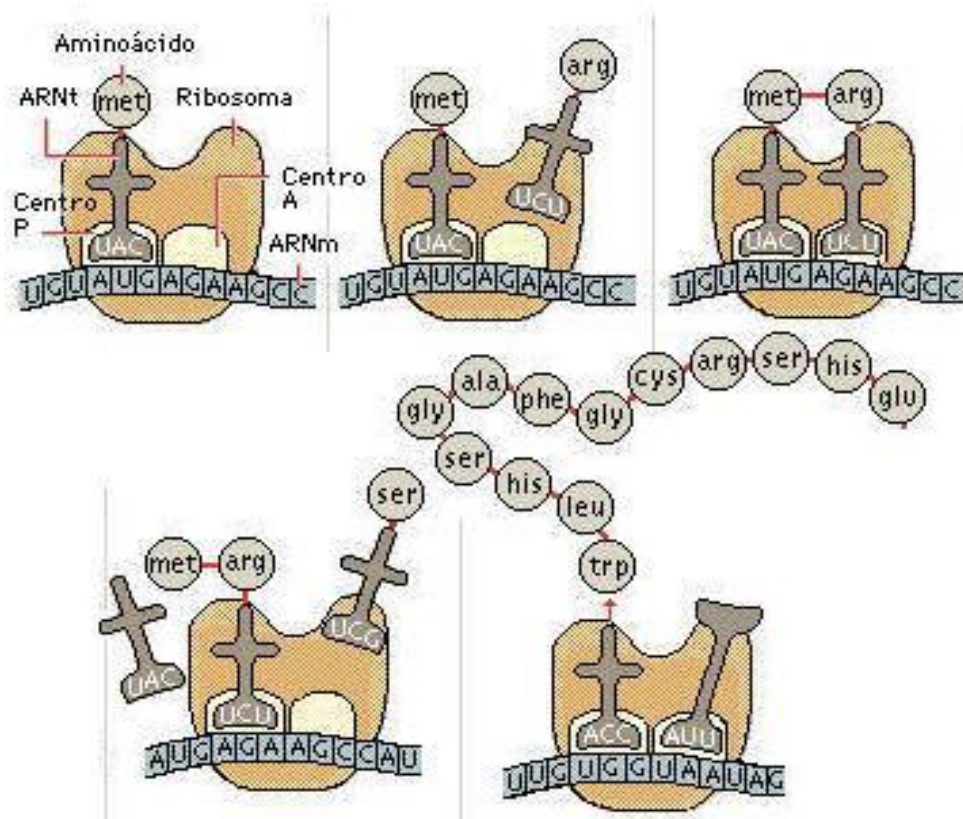


Figura 37. Síntesis de proteínas en los ribosomas.  
Fuente: Sokolovsky (2002)

La importancia del metabolismo bacteriano radica en que ha permitido entender en organismos mucho más sencillos las reacciones biológicas que pueden ocurrir en organismos superiores, por otra parte, nos permite por medio de su estudio, la clasificación e identificación de las bacterias al

determinar productos de síntesis o vías degradativas específicos. En este mismo sentido se ha logrado comprender y describir con mayor detalle los procesos por medio de los cuales las bacterias son capaces de producir una patología infecciosa. Finalmente, un aspecto muy relevante es que el conocimiento sobre metabolismo bacteriano ha favorecido además el desarrollo de estrategias para prevenir y controlar el crecimiento de estos organismos, ampliando los horizontes en la terapia antibacteriana.

## CAPÍTULO 3. GENÉTICA MICROBIANA E INGENIERÍA GENÉTICA

### Genética bacteriana

#### a. Definición e importancia del estudio de la genética microbiana

La genética es la rama de la biología que se encarga de estudiar la información hereditaria, su composición, conformación, estructura, características de expresión y regulación, etc. En síntesis, es la parte de la biología que estudia los genes.

Esta rama incluye el estudio de conceptos que permiten entender con mayor facilidad todo el conocimiento generado alrededor de la misma. Por ejemplo:

- 1. Cepa o clon:** Todo organismo idéntico a otro en todas sus características observables y codificadas genéticamente, se denomina clon. En el caso de las bacterias, aquel grupo de bacterias que son idénticas entre ellas se pueden llamar cepa bacteriana. Una especie bacteriana puede tener distintas cepas.
- 2. Genoma y gen:** El genoma es la estructura celular que contiene la información genética para determinar las características de un individuo y cuya unidad estructural de información más simple es el gen.
- 3. Genotipo:** Son las características codificadas en el genoma que son hereditarias.
- 4. Fenotipo:** Se denomina a todas las características evidenciables u observables en un organismo vivo, no sólo sus características físicas o morfológicas, sino también su actividad metabólica, funcionalismo, etc.

La importancia de la genética bacteriana radica en que esta ha facilitado el estudio de la genética en organismos superiores, ya que es mucho más sencillo ilustrarse en un ser cuyo genoma constituye su único cromosoma, pequeño y circular, para luego extrapolar la información hacia los procesos genéticos que se observan en seres celularmente más complejos.

Los estudios de genética bacteriana han aportado grandes avances en información científica, en el desarrollo de nuevas áreas de estudio y en tecnologías de vanguardia mucho más confiables, para contemplar el intrincado mundo de la constitución genética desde una perspectiva más cercana a la realidad.

Se han logrado desarrollar en los últimos años, diversidad de técnicas y procedimientos que facilitan la identificación y clasificación de las bacterias, así como el estudio de muchos procesos celulares y subcelulares haciendo uso de herramientas de biología molecular e ingeniería genética.

#### **b. Variación fenotípica: concepto y ejemplos**

La variación fenotípica se puede definir como una modificación en las características observables de la bacteria. Este tipo de alteraciones son de alta frecuencia, reversibles y no hereditarias. Resultan de la presión ejercida por factores externos o ambientales sin modificar el genoma. A las variaciones fenotípicas también se les denomina “adaptaciones”.

Dentro de los ejemplos más comunes se pueden destacar: variaciones morfológicas espontáneas que ocurren en cultivos envejecidos o inducidas por la presencia de algunos nutrientes (sacarosa) que favorecen la aparición de capas mucosas; producción de pigmentos en presencia de temperaturas o condiciones de luminosidad específica, capacidad de liberar enzimas específicas en presencia del sustrato adecuado (penicilinasas en presencia de penicilina) y liberación de toxinas en presencia de cofactores enzimáticos disponibles en el medio, entre otras.

#### **c. Variación genotípica: concepto y ejemplos**

La variación genotípica se puede reconocer como toda alteración o cambio que ocurre en la secuencia de información genética, es decir, una variación en el ADN bacteriano. Suelen reconocerse como mutaciones.

Este tipo de modificaciones pueden ocurrir al azar y espontáneamente en la naturaleza o de manera inducida en el laboratorio. Ocurren con muy poca frecuencia y dependen de la exposición ante agentes mutágenos. Son irreversibles y

hereditarias, afectando a uno o más caracteres específicos; en algunos casos la mutación está presente antes de la exposición al agente selector.

Dentro de los ejemplos más clásicos se pueden mencionar: alteraciones en la virulencia bacteriana por aparición o desaparición de apéndices, cápsula, resistencia a los antibacterianos, pérdida o aparición de características metabólicas, etc.

#### **d. Concepto de mutación y agentes mutagénicos (físicos, químicos y biológicos).**

##### **Mecanismo de acción**

La definición de mutación está directamente ligada a la de variación genotípica, ya que una mutación es la consecuencia del cambio en la secuencia del ADN.

De acuerdo al tipo de cambio que se produzca en la secuencia del ADN se pueden producir: **mutaciones por sustitución**, en las cuales una base o una secuencia de estas es cambiada por otra, **mutaciones por inserción**, en las que el mensaje original se corre en la secuencia a la cual se le introduce una base o un grupo de estas; y **mutaciones por delección**, en las que se elimina o borra una base nitrogenada o un grupo de estas en la secuencia original.

Las mutaciones también pueden ser espontáneas o inducidas. Las **mutaciones espontáneas** se relacionan con los procesos de evolución, por lo cual son procesos naturales de toda especie viva. Suelen ocurrir en baja proporción casi siempre por sustitución de bases nitrogenadas y por causas no bien determinadas.

Por su parte, las **mutaciones inducidas** son aquellas que se deben a la acción de agentes mutágenos físicos, químicos y biológicos.

Dentro de los agentes mutagénicos de tipo físico se encuentran las radiaciones ionizantes (rayos gamma, rayos equis, etc.) y no ionizantes (luz ultravioleta o LUV). Las *radiaciones ionizantes* producen mutaciones irreversibles y letales que llevan a la generación de radicales libres tóxicos para la célula y modificaciones moleculares en el ADN debido a su alto grado de penetración y su longitud de onda muy corta de alta frecuencia. Las *radiaciones no ionizantes* poseen una longitud de onda más amplia y



de menor frecuencia con menor poder de penetración que llevan a la formación de dímeros de timina en la secuencia genética. Estas últimas pueden ser reversibles si la célula bacteriana cuenta con el mecanismo enzimático necesario para realizar la reparación de la secuencia dañada (proceso de fotorreactivación).

Los agentes mutagénicos de tipo químico incluyen sustancias como: *agentes alquilantes* (mostaza nitrogenada, óxido de etileno o nitroso de guanidina), que cambian la estructura química de las bases nitrogenadas ocasionando sustituciones; *agentes análogos de bases nitrogenadas* como el 5 bromo uracilo y la 2 amino purina, que sustituyen a la timina y a la adenina respectivamente, el ácido nitroso que sustituye los grupos amino por hidróxilo o la hidroxilamina que cambia los pares de GC por AT.

En último lugar, los *agentes biológicos*, incluyen los plásmidos y los transposones, descritos con anterioridad en el tema de estructuras bacterianas.

#### **e. Transferencia del material genético:**

Las células bacterianas cuentan con mecanismos especiales de transferencia de material genético. Esto les permite compartir y difundir información, pero también, en momentos específicos, pueden incrementar la virulencia y patogenicidad de las mismas.

Tales mecanismos son los siguientes:

##### **1. Transformación**

La transformación ocurre cuando una bacteria capta ADN exógeno libre del medio externo. Este ADN ha sido el resultado de la lisis o muerte de otras bacterias, y su disponibilidad para ser incorporado a otra bacteria depende del tipo celular. En el caso de las bacterias gram positivas, la célula bacteriana debe estar en un estado de competencia, el cual se logra en la fase de replicación exponencial. Esta competencia también es posible alcanzarla por medio de inducción en el laboratorio. Las bacterias gram positivas se caracterizan por realizar el proceso de manera inespecífica, es decir, captando

casi cualquier ADN disponible aunque su destino intracelular dependa de la homología con el mismo.

Las bacterias gram negativas, por su parte, son muy selectivas, realizan una transformación específica, uniéndose sólo a secuencias concretas de nucleótidos homólogos, con una longitud no mayor a los 14 pares de bases.

Por medio de la transformación se obtiene material genético que codifica la producción de cápsula, producción de pigmentos, variación en necesidades nutricionales, resistencia a los antibacterianos, etc.

## 2. Transducción

La transducción es un proceso que se lleva a cabo por medio de la intervención de bacteriófagos, es decir, un virus capaz de introducir material genético en una célula bacteriana.

El proceso puede llevarse a cabo de dos maneras diferentes: generalizada o especializada. En la **transducción generalizada**, una vez que el virus infecta la célula y se replica, puede fragmentar el genoma bacteriano y conformar, en un momento dado, parte del material genético que se incluye en las nuevas estructuras virales. Es decir, algunas de las nuevas partículas de virus pueden llevar material genético viral, mientras que otras llevarán material genético del cromosoma bacteriano.

En la **transducción especializada** el material genético del bacteriófago induce un ciclo lisogénico donde se puede incorporar al genoma bacteriano conformando un profago. Este, al desincorporarse del genoma, se lleva un fragmento específico del mismo que codifica información importante de la bacteria referente a virulencia, resistencia u otro, por lo que el ácido nucleico de los virus ensamblados para la liberación en el ciclo lítico, llevan un fragmento viral y una porción bacteriana codificando información muy específica.

En el caso de que las partículas virales se ensamblen sin contener material genético, ni bacteriano, ni viral, se puede hablar de **transducción defectuosa**. En otros casos, el ADN del fago no puede llevar a cabo ninguno de los procesos y la célula bacteriana entra en división celular, por lo que dicho fago puede perderse en la progenie. A esto se le denomina fenómeno de **transducción abortiva**.

### 3. Conjugación

La conjugación es un mecanismo de transferencia de material genético en el que existe contacto directo entre dos células bacterianas, de hecho, es necesario destacar que aun cuando se habla de estructuras sexuales y de un proceso similar al de reproducción sexual en organismos eucariotas, las bacterias (procariotas) no llevan a cabo la reproducción sexual y este proceso se limita a transmisión de información genética.

Este proceso se asocia a la presencia del plásmido “F” que otorga la característica de producir un pelo sexual en la bacteria que lo posee (bacteria macho o F+). Esta bacteria es capaz de reconocer a otras bacterias que no poseen este plásmido (bacteria hembra o F-) debido a que las mismas liberan péptidos señal que las atraen. Una vez que la bacteria F+ se acerca a la bacteria F- entonces establece un puente de comunicación a través del pili sexual (tubo de conjugación) y comienza a replicar la información contenida en el plásmido, siendo capaz de transferirle una copia del mismo a la bacteria F-. El proceso no permite el tiempo necesario para transferir información del genoma, ya que una vez que el plásmido es transmitido ocurre la separación celular y la bacteria F- se convierte en una bacteria F+ siendo capaz, a partir de ese momento, de producir pelos sexuales y dando como resultado dos bacterias macho.

Cuando ese plásmido se integra al cromosoma formando un episoma, la bacteria F+ adquiere la capacidad de replicarse con mayor velocidad y por tanto puede replicar su cromosoma con más eficiencia. De esta manera, la bacteria macho pasa a denominarse “de alta frecuencia de recombinación” (célula Hfr),

la cual, al conjugarse con otra bacteria F- puede transferirle la información del cromosoma pero no la del plásmido, debido a que la replicación del ácido nucleico en este estado se realiza en sentido contrario al del episoma.

Cuando el episoma vuelve al estado autónomo como plásmido extracromosómico puede llevarse consigo algún fragmento del cromosoma bacteriano. Esta bacteria también es capaz de producir pelo sexual, pero al tener información cromosómica en el plásmido se denomina célula F'.

El entender a nivel molecular todas las variaciones que pueden ocurrir en la información genética de una bacteria ha permitido establecer estrategias más eficientes en la prevención, diagnóstico y control de enfermedades infecciosas, para lo cual ha sido fundamental el avance logrado en las técnicas de biología molecular e ingeniería genética, favoreciendo además el desarrollo de nuevas tecnologías para el mejoramiento del nivel de vida para el ser humano.

## **Ingeniería genética y biotecnología**

### **a. Definiciones**

La **ingeniería genética**, como rama de la genética, puede ser considerada como una de las aplicaciones de la biología molecular para idear mecanismos que modifiquen la información genética de un ser vivo con la finalidad de mejorar sus características. Es un área que se encuentra aún en una fase inicial de conocimiento y que trae tanta controversia como beneficios sugeridos.

Por su parte, la **biotecnología** podría definirse, al descomponer la palabra en su origen etimológico, como la tecnología basada en procesos biológicos para mejorar las condiciones de vida. Es la aplicación de diferentes áreas del conocimiento para lograr producir en gran escala productos naturales por vías tecnológicas con el objetivo de contribuir en las actividades humanas. En este sentido, se puede hacer uso de herramientas de biología molecular, ingeniería genética, microbiología, biología, física, matemática, química, etc.

## **b. Aplicaciones de la ingeniería genética y biotecnología en la industria**

### **1. Aplicaciones de la biotecnología**

Con el uso de la biotecnología se ha logrado incrementar la capacidad productiva de sustancias obtenidas a partir de organismos vivos como las bacterias y hongos, los cuales pueden servir en la industria para generar –de manera más eficiente en cantidad y actividad– sustancias como alcohol, insulina humana, vacunas, hormonas, lincocinas, interferón, antibióticos (industria farmacéutica).

La biotecnología también ha permitido el desarrollo de procesos importantes para la industria alimentaria, haciendo uso de vías metabólicas para obtener productos lácteos, bebidas alcohólicas, pan, etc.

Por otra parte, ha contribuido en otras áreas industriales, como es en el caso de la agricultura, mejorando la obtención de productos orgánicos y las relaciones entre organismos vivos propios del suelo que incrementan la productividad en las cosechas.

Adicionalmente, la biotecnología se ha utilizado en el diseño de nuevas técnicas de diagnóstico microbiológico, con base en la respuesta inmunológica normal del organismo ante partículas extrañas. Este mismo conocimiento incrementa la evolución en el ámbito de las vacunas de inmunización activa artificial.

### **2. Aplicaciones de la ingeniería genética**

La ingeniería genética ha permitido llevar estos sistemas al extremo tratando de establecer las condiciones adecuadas de funcionamiento, regulación y expresión de la información genética con la finalidad de prevenir el desarrollo de enfermedades genéticas y congénitas, y establecer terapias de manipulación para el control de patologías ya desarrolladas para las cuales no se han descrito posibles curas, como es el caso del cáncer, degeneración de tejido cardíaco, nervioso, óseo, parkinson, epilepsia, alzheimer, diabetes, SIDA, etc.

En la actualidad la ingeniería genética ofrece una nueva herramienta para evitar los rechazos en el caso de injertos de tejidos y transplantes de órganos, ya que estos pueden realizarse con células provenientes del mismo receptor. También hace posible manipular genéticamente otros organismos con la finalidad de preservar su existencia, disminuir su susceptibilidad a enfermedades y plagas, obtener alimentos más grandes y nutritivos, etc.

Dentro del ámbito de la ingeniería genética se ha hablado de la posibilidad de crear, mediante sus técnicas, vacunas que sean transmisibles por medio de vectores (como los mosquitos, entre otros) para prevenir enfermedades infecciosas graves del ser humano o animales.

Sin embargo, no todo debe tomarse a la ligera, ya que todos estos procedimientos generalmente se encuentran rígidamente supervisados y orientados por regulaciones internacionales que establecen todas las normas de bioseguridad y bioética que se deben preservar por encima de cualquier beneficio particular, aun cuando nunca se pueda asegurar la inexistencia de aplicaciones no benéficas e inclusive dañinas para la humanidad desde puntos de vista tanto físico, como mental, emocional, espiritual o cultural, entre otros.

## CAPÍTULO 4. MECANISMOS DE PATOGENICIDAD Y RESISTENCIA BACTERIANA. PROCEDIMIENTOS DE CONTROL DE MICROORGANISMOS

### Mecanismos de patogenicidad y resistencia bacteriana

#### a. Mecanismos de patogenicidad de los microorganismos

La patogenicidad es un término absoluto que se refiere a la capacidad que tiene un microorganismo de producir enfermedad. En este sentido, un microorganismo puede tener o no esta capacidad, es decir, puede o no ser patógeno.

Los microorganismos patógenos pueden tener niveles de patogenicidad. Esto tiene relación con la virulencia, la cual se define como el grado de patogenicidad que posee un microorganismo. Es por ello que un microorganismo patógeno puede ser más o menos virulento de acuerdo a la agresividad con que produzca una enfermedad en particular.

Sin embargo, estas características de patogenicidad y virulencia dependen de factores propios del microorganismo –o factores intrínsecos–, como también de condiciones del ambiente y del hospedero.

Las características intrínsecas del microorganismo incluyen:

**1. Invasividad:** Viene expresada por la capacidad de adherirse y penetrar en los tejidos o desplazarse a zonas internas del hospedero. Dentro de las estructuras de una bacteria que facilitan esta actividad se encuentran:

- **Cápsula**
- **Flagelos, pilis, cilios y adhesinas**
- **Enzimas:** hialuronidasa, colagenasas (*Clostridium perfringens*), estreptoquinasas, estafiloquinasas (fibrinolisinias), hemolisinas (estreptolisina “o” y “s”), leucocidinas, entre otras.

**2. Toxigenicidad:** Se determina por la capacidad de ejercer un efecto tóxico sobre las células o tejidos de un organismo hospedador y depende de la producción y liberación de sustancias tóxicas conocidas, tales como las que se describen a continuación:

- **Endotoxinas** Son sustancias presentes dentro de estructuras celulares, principalmente la pared celular.
- **Exotoxinas:** Son compuestos, principalmente peptídicos, que son excretados o secretados por la bacteria al exterior por mecanismos específicos de transporte o difusión activa, pasiva o facilitada.

En el cuadro 11 se pueden observar las características de las exotoxinas y de las endotoxinas.

Cuadro 11. Características de las exotoxinas y las endotoxinas

	<b>Exotoxina</b>	<b>Endotoxina</b>
<b>Bacteria que la produce</b>	Grampositiva	Gramnegativa
<b>Naturaleza química</b>	Proteínas	Proteína-lps
<b>Estabilidad al calor</b>	Termolábil	Termoestable
<b>Poder antigénico</b>	Alto	Bajo
<b>Toxicidad</b>	Alta	Baja
<b>Mecanismo de acción</b>	Específico c/t	Semejante en todas
<b>Reacción al formol</b>	Sensibles (toxoides)	Resistentes (no toxoides)

## **b. Enfermedad infecciosa**

Una enfermedad infecciosa es toda patología en el correcto funcionamiento de un ser vivo que se origina debido al contacto con un organismo exógeno extraño, el cual actúa como un agente infectante y es capaz de generar una respuesta evidenciable por signos y síntomas.



Sin embargo, no todos los agentes infectantes producen enfermedad y no todas las enfermedades infecciosas son contagiosas. Es por ello que la enfermedad infecciosa puede clasificarse de acuerdo a varios aspectos:

### 1. Facilidad de transmisión

- **Contagiosas o transmisibles:** Infecciones de transmisión sexual, gripe, salmonelosis, etc.
- **No contagiosas o no transmisibles:** Tétanos.

### 2. Mecanismos de transmisión

- **Directa:** Cuando hay contacto entre la fuente infectante y el individuo que se infecta. Por ejemplo: gotas infecciosas, sangre, contacto sexual, etc.
- **Indirecta:** Cuando el agente infeccioso se traslada a través de vehículos como el aire, agua, alimentos y objetos, o a través de vectores biológicos o mecánicos.

### 3. Localización en el hospedero

- **Local:** Está restringida a la zona de entrada del agente infectante o a una zona específica por la cual tiene afinidad.
- **Sistémica o generalizada:** El agente infeccioso se disemina por el organismo haciendo usos de vasos sanguíneos, linfáticos, tejido nervioso, etc., afectando a todo el organismo.
- **Focal:** El agente causal causa una lesión de entrada y a partir de allí puede causar daños a distancia en otros órganos por los cuales también tiene afinidad. Podría ser el paso intermedio hacia una enfermedad diseminada.

#### 4. Área geográfica afectada, número de casos y duración de la enfermedad

- **Endemia:** Enfermedad característica de una zona o región geográfica, con prevalencia constante, bien sea, de forma habitual o en determinadas épocas.
- **Epidemia:** Aparición brusca de un número de casos superior a lo común en un tiempo limitado y en un área específica.
- **Pandemia:** Es el incremento de número de casos de manera exagerada abarcando grandes extensiones de territorio geográfico, comprometiendo a muchos individuos en distintos lugares y por un tiempo autolimitado al tipo de enfermedad.

#### 5. Sintomatología

- **Clínicas:** Presentan una serie de signos y síntomas bastante evidentes.
- **Subclínicas, inaparentes y latentes:** En las subclínicas o inaparentes puede ocurrir que los signos y síntomas no sean detectados (por ejemplo: hepatitis A). Las latentes son aquellas en las cuales los agentes infecciosos permanecen silentes por unos períodos de tiempo y se expresan en otros bajo ciertas condiciones de exacerbación (por ejemplo: herpes simple).

#### c. Cadena epidemiológica

La cadena epidemiológica se conoce como el diseño esquemático y sistemático que describe la evolución de una enfermedad infecciosa. Se puede definir como la serie de pasos o eslabones que deben cumplirse para que se produzca la enfermedad y depende de factores propios del organismo infectante, del medio y del organismo susceptible a la infección.

Está constituida por *seis* (6) eslabones esenciales que se siguen consecutivamente y en orden específico desde el **agente causal**, pasando por el **reservorio**, la **puerta de salida**, la **vía de transmisión**, la **puerta de entrada** hasta llegar al **hospedero susceptible** y regresar como un ciclo al agente causal.

1. **Agente causal:** Es el organismo infeccioso que origina la enfermedad, suele ser específico en determinadas patologías y se debe nombrar completo. Por ejemplo: **virus:** Virus del herpes simple tipo 1, **bacteria:** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, **hongo:** *Paracoccidioides brasiliensis*, **parásito:** *Trychomonas gingivalis*.
  
2. **Reservorio:** Es el sitio de la naturaleza donde podemos encontrar, normalmente, al agente causal. Pueden haber diversos reservorios:
  - **Hombre:** Enfermo, portador sano, portador en incubación, portador convaleciente.
  
  - **Animales:** Domésticos, peri-domésticos y salvajes
  
  - **Ambiente:** Plantas, suelo, aire, etc.
  
3. **Puerta de salida:** Es la vía que utiliza el agente causal para dejar el reservorio o para salir de él. Ejemplos: las vías respiratorias de un enfermo pulmonar, la espina de una mata de rosa, los colmillos de un animal, etc.
  
4. **Vía de transmisión:** Es el mecanismo que utiliza el microorganismo para trasladarse desde la puerta de salida hasta la puerta de entrada. Estos mecanismos pueden ser:
  - **Directos:** Cuando existe contacto inmediato entre el hospedero y el reservorio, o

- **Indirectos:** Cuando existen medios de transporte vivos (vectores) o inanimados (fómites).

Dentro de los vectores podemos observar:

- **Vectores mecánicos:** Sólo transportan al microorganismo en su cuerpo (ejemplo: las patas de las moscas), y
- **Vectores biológicos:** Dentro de los cuales el agente causal lleva a cabo una parte de su ciclo vital (los mosquitos en el caso del dengue).

**5. Puerta de entrada:** Es la vía que utiliza el microorganismo para entrar a su hospedero. Por ejemplo: las vías respiratorias, el surco gingival, la mucosa oral, la piel, una herida quirúrgica, el alveolo dental, etc.

**6. Hospedero susceptible:** Es el individuo que va a ser afectado e infectado por el agente causal, quien posee las características específicas para adquirir una enfermedad infecciosa particular y quien desarrollará los signos y síntomas para convertirse en reservorio si la enfermedad es infecto-contagiosa.

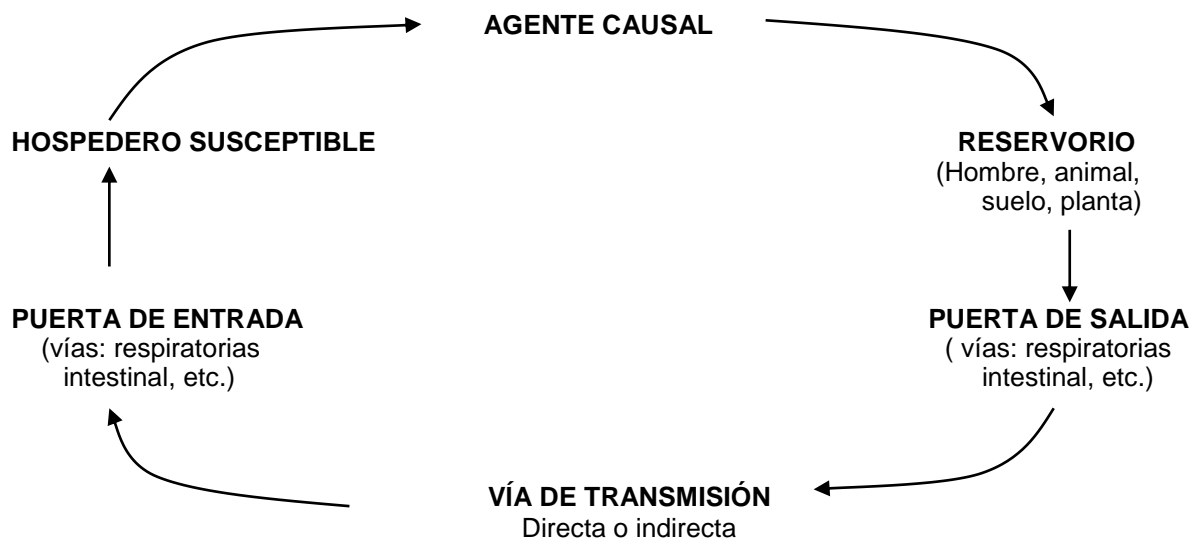


Figura 38. Cadena epidemiológica.

#### **d. Atributos del hospedero que determinan la resistencia a los microorganismos**

La implantación y desarrollo de una enfermedad infecciosa también depende de las características de resistencia que ofrezca el hospedador ante esta. En este sentido, se conoce que son factores muy importantes los siguientes:

- 1. Edad:** Los extremos de la vida, en cuanto a edad, son importantes debido a que en la infancia temprana el sistema inmunológico aún no se encuentra totalmente desarrollado, y en la vejez, se encuentra en decadencia, por lo que son situaciones que los patógenos aprovechan para producir infecciones.
- 2. Sexo:** Aunque no se han descrito diferencias importantes, algunas enfermedades infecciosas dependen del sexo. Esto se debe a que existen factores predisponentes de tipo hormonal en algunos casos, y de tipo socio-cultural en otros, ya que los hombres tienden a estar más expuestos a factores de riesgo ocupacionales y ambientales.
- 3. Raza:** En el caso de algunas patologías se ha visto mayor resistencia en la raza negra que en la anglosajona, sin embargo, por razones culturales se puede invertir el factor de riesgo por raza en ciertas patologías, como es el caso de las infecciones de transmisión sexual para las cuales los países pobres con abundante población negra de bajo nivel socioeconómico y cultural son los más afectados.
- 4. Estado nutricional:** El correcto funcionamiento del sistema inmunológico depende, entre otros factores, de una adecuada nutrición. Por ello, aquellos individuos con déficit nutricional, sobretodo proteico, están en desventaja ante una enfermedad infecciosa.
- 5. Inmunidad:** Las defensas naturales específicas e inespecíficas funcionando de una manera apropiada garantizan una disminución importante en el riesgo de infección o en la severidad del desarrollo de una patología.
  - **Barreras naturales:** La integridad de mucosas y piel impiden, como primera barrera, la entrada de patógenos a nuestro organismo.

- **Inmunidad no específica (innata):** Es la inmunidad que nos acompaña desde el nacimiento, es de tipo inespecífica y responde ante todo agente extraño.

- **Inmunidad específica:** Representada por elementos celulares y humorales que neutralizan y destruyen agentes extraños, manteniendo la memoria necesaria para reaccionar de manera específica ante los microorganismos a los cuales ya han enfrentado con anterioridad. Se puede clasificar en:

- Artificial: En este tipo de respuesta no ha habido un enfrentamiento con el agente infeccioso de manera natural, es decir, el individuo no ha sufrido la enfermedad y puede a su vez ser de dos tipos:

*Activa:* Cuando se introduce en el organismo parte de un agente infeccioso incapaz de producir enfermedad pero ante el cual el organismo puede reaccionar con una respuesta inmune que permanecerá en memoria. Por ejemplo, la vacuna contra la hepatitis.

*Pasiva:* Cuando se suministran los anticuerpos necesarios para mantener una respuesta neutralizante. Por ejemplo, los anticuerpos contra la toxina diftérica.

- Natural: Es cuando la respuesta inmune es originada por el enfrentamiento natural contra el agente infeccioso, es decir, la persona ha estado expuesta a la enfermedad:

*Activa:* Cuando se pasa por el proceso natural de una infección y el cuerpo crea los anticuerpos y la memoria celular necesaria para volver a enfrentar al agente patógeno, por ejemplo, al sufrir de varicela.

*Pasiva:* El único ejemplo es la transmisión de respuesta inmune a través de la placenta y de la leche materna cuando la madre ha enfrentado con anterioridad un patógeno. Los anticuerpos producidos por ella protegen al feto del agente infeccioso sin que este haya enfrentado la enfermedad.

**6. Ocupación:** Directamente relacionado a factores de riesgo de exposición en zonas de trabajo, por ejemplo, todo profesional del área de la salud está más expuesto a enfermedades infecto-contagiosas que otros profesionales.

**7. Tratamientos médicos:** Los tratamientos debilitantes tales como quimioterapia, radioterapia, uso de esteroides, inmunosupresores por transplantes, antibióticos, etc., pueden disminuir la eficiencia de la respuesta inmune y la resistencia a la infección en el hospedero.

#### **e. Resistencia e inmunidad**

Aún está en discusión si el sistema inmunológico es un sistema real de defensa o es solamente un sistema de alerta. Sin embargo, diversos componentes del sistema inmunológico han sido definidos en sus funciones. Estos son los siguientes:

##### **1. Inmunidad no específica**

Es toda aquella que de manera innata responde ante la posibilidad de infección o entrada de un cuerpo extraño a nuestro organismo. De tal manera encontramos:

- **Barreras mecánicas**

Que bloquean la interacción directa de nuestro sistema con agentes externos, dificultan la penetración y recubren todo nuestro cuerpo:

- Piel o superficie queratinizada: Es un tipo de tejido mucho más difícil de penetrar debido a la presencia de queratina. Por otra parte, la presencia de ácidos grasos inhibe el crecimiento bacteriano.
- Mucosas: Estas además de poseer estructuras tisulares en capas que se caracterizan por descamar en la superficie, también están bañadas en secreciones ricas en elementos humorales de resistencia a la infección.
- Epitelios ciliados: La presencia de cilios permite el movimiento de barrido hacia el exterior, lo que permite sacar los cuerpos extraños.
- Microflora habitual: Aunque suene peculiar, normalmente las superficies corporales más expuestas, tanto internas como externas, están

recubiertas por flora microbiana habitual que coexiste en equilibrio sin causar daño alguno. La presencia de esta microbiota impide la colonización de microorganismos exógenos patógenos. Constituye una barrera biológica.

- **Barreras físicas:** Son aquellas que expulsan activamente los agentes extraños, generalmente son reflejos como la tos, el estornudo, peristaltismo, micción, lágrimas, etc.
  
- **Barreras químicas:** Existen sustancias o características peculiares que presentan las secreciones y líquidos corporales, como por ejemplo las secreciones sebáceas, la acidez gástrica, acidez vaginal, elementos microbicidas, etc.
  
- **Factores celulares:** Podemos encontrar un gran número de elementos celulares que pueden actuar como mecanismo de defensa ante las infecciones de manera inespecífica, dentro de ellos:
  - Sangre: Las células sanguíneas, principalmente leucocitos y plaquetas pueden actuar como elementos de defensa inespecífica impidiendo el avance de los agentes extraños. Es por ello que posterior a las barreras mecánicas se encontraría una gran red de vasos sanguíneos transportadores de células de defensa. Además, el sistema sanguíneo podría conducir a los agentes extraños hacia órganos específicos encargados de depurar el sistema.
  - Sistema linfático: Otra red de vasos transportadores de células de defensa es el sistema linfático.
  - Sistema retículo endotelial: Constituido por órganos tales como el hígado, el bazo y los ganglios linfáticos, se encarga de retener y destruir elementos considerados extraños. Estos órganos tienen estructuras tipo reticular donde quedan atrapadas todas las partículas extrañas y depuradas posteriormente por otros sistemas de respuesta inmunológica.



- **Mecanismos**

- Fagocitosis: Es uno de los mecanismos más importantes en la respuesta inmunológica pues además de garantizar la destrucción del patógeno, también lleva a la activación de otros mecanismos de inmunidad incluyendo el mantenimiento de la memoria celular. Este mecanismo ocurre de la siguiente manera:

*Quimiotaxis*: Lo primero que ocurre para que se produzca la fagocitosis es la atracción de las células fagocíticas hasta el sitio de infección, lo cual ocurre por la liberación de sustancias quimiotácticas tipo linfocinas, entre otras, que indican la presencia y entrada de un cuerpo extraño.

*Endocitosis*: Una vez localizado el cuerpo extraño, el fagocito se encarga de introducirlo en su citoplasma por un proceso de endocitosis, pinocitosis u otro.

*Fagosoma*: Una vez dentro de la célula fagocítica, el agente extraño es englobado en una vesícula llamada fagosoma que se encarga de presentar el agente ante otra vesícula denominada lisosoma que contiene enzimas líticas activas en la destrucción celular.

*Fagolisosoma*: Es la estructura conformada cuando el fagosoma y el lisosoma se encuentran, vertiéndose y activándose todas las sustancias líticas que fragmentarán los antígenos del agente infeccioso.

*Cuerpo residual*: Lo restante posterior a la lisis es un producto de desecho que será finalmente excretado. En este paso, la célula también reserva algunos fragmentos del antígeno para mantener la memoria ante esa infección y poder activar la respuesta de una forma más específica y rápida en un segundo enfrentamiento al mismo agente.

*Exocitosis*: Es la excreción de los productos de degradación y la presentación de antígenos ante otras células inmunológicas.

- Inflamación:

Es otro mecanismo de respuesta a la infección que se caracteriza por alteraciones a nivel tisular que incluyen: rubor, dolor, ardor, elevación localizada de la temperatura y edema por presencia de exudado. Es una señal de alerta que debe ser considerada en la infección.

• **Factores humorales:** Además de los elementos celulares, existen sustancias solubles que se presentan en los líquidos y secreciones corporales para garantizar una protección inespecífica. Dentro de estos, destacan:

- Lisozima: Liberada por células como los segmentados neutrófilos, es capaz de tener actividad antibacteriana por destrucción de la pared celular parcial o totalmente.
- Properdina: Otra proteína con actividad antibacteriana.
- Sistema del complemento: Es una cascada de proteínas numeradas del 1 al 9 que puede ser activada directamente por el antígeno o por mecanismos alternos, denominados:
  - vía clásica: c1 – c4 – c2 – c3 – c5 – c6 – c7 – c8 – c9
  - vía alterna: c3 – c5 - c1 – c2 – c4 – c6 – c7 – c8 – c9
- Interferón: Es una sustancia producida a nivel celular en los casos de infecciones virales con la finalidad de alertar a las células vecinas y generar una respuesta de neutralización para evitar la infección de células sanas.
- Betalisina: Enzima con actividad antibacteriana secretada por elementos celulares como las plaquetas.
- Proteína C reactiva: Es una proteína inespecífica con capacidad de activar el complemento que se genera en procesos inflamatorios e infecciosos.

**2. Inmunidad específica:** En este tipo de inmunidad nos referimos a estructuras encargadas de responder de manera dirigida y específica contra antígenos ya identificados por nuestro organismo. Encontramos aquí:

- **Órganos**

- Médula ósea: Productora de células sanguíneas y de defensa.
- Timo: Una estructura primitiva de entrenamiento para células linfocíticas T.
- Ganglios linfáticos: Estructuras de entrenamiento y reserva para células de defensa (linfocitos B, fagocitos, etc.).
- Bazo: Parte del sistema retículo endotelial que también alberga células fagocíticas y de memoria.

- **Mecanismos humorales**: Los linfocitos B en su fase de plasmocitos activados por la presencia de antígenos son capaces de producir una respuesta humoral por secreción de inmunoglobulinas (anticuerpos).

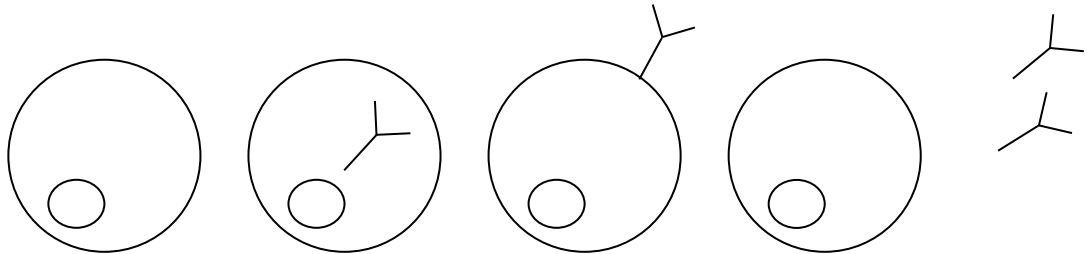


Figura 39. Proceso de producción de anticuerpos.

Dentro de las inmunoglobulinas conocidas encontramos:

- IgG: Es un monómero con 4 subclases (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4), atraviesa la placenta, activa complemento por vía clásica, neutraliza y facilita la fagocitosis. Esta inmunoglobulina es de fase crónica.
- IgM: Es la inmunoglobulina más pesada debido a que su estructura es un pentámero. Es de fase aguda.
- IgA: Puede presentarse como monómero o dímero. Por poseer un componente secretorio se encuentra en todas las secreciones corporales.

- IgE: También llamado sensibilizador de piel o anafiláctico por estar presente en los procesos de hipersensibilidad, es estimulador en la liberación de sustancias vasoactivas
  - IgD: Su función es de marcador de superficie de linfocitos B.
- **Linfocitos T:** También conocidos como la primera línea de defensa específica, pueden clasificarse de acuerdo a sus funciones en:
    - Efectores: Activan otras células inmunológicas, llevan a cabo la fagocitosis.
    - Helper: Son encargados de estimular la producción y activación de otras células y otros sistemas específicos e inespecíficos de defensa.
    - NK (Natural Killer): Las células asesinas naturales actúan de manera inespecífica destruyendo todo agente extraño y activando complemento.
    - Supresores: Son los encargados de frenar o detener la respuesta una vez que se ha logrado erradicar el agente infeccioso.
    - De memoria: Son los que procesan los antígenos del agente extraño y mantienen fragmentos del mismo para poder activar de manera más efectiva la respuesta en un futuro enfrentamiento.

#### **f. Aplicaciones de las reacciones inmunológicas en el diagnóstico de enfermedades infecciosas**

El conocer los mecanismos por los cuales se produce la respuesta inmune, los diferentes factores que pueden intervenir y los productos obtenidos ha facilitado el desarrollo de técnicas para realizar el diagnóstico microbiológico con alta confiabilidad y rapidez. Dentro de estas técnicas encontramos:

**1. Precipitación:** Las reacciones antígeno-anticuerpo por lo general pueden evidenciarse fácilmente cuando las partículas resultantes son más pesadas y precipitan en el medio. De tal manera podemos encontrar:

- **En tubo:** Se observa la formación de un precipitado en el fondo del tubo.

- **Inmunodifusión:** Se realiza en una lámina con agarosa con pozos donde se enfrentan los antígenos y los anticuerpos difundiendo en la agarosa y formando un halo de precipitación.
  - **Inmunolectroforesis:** Se realiza una corrida electroforética enfrentando los antígenos con los anticuerpos específicos y en la zona de encuentro se produce una banda de precipitación.
2. **Aglutinación:** Son reacciones que se pueden evidenciar haciendo uso de partículas de látex que facilitan la observación de mallas de complejos inmunes.
  3. **Fijación del complemento:** Se evidencia por la lisis de glóbulos rojos a los cuales se les ha adherido el antígeno específico.
  4. **Inmunofluorescencia:** Son reacciones inmunológicas en las que se utiliza un marcador fluorescente bien sea de manera directa (en el anticuerpo para observar el antígeno) o de manera indirecta (utilizando anti-anticuerpos para evidenciar la presencia de anticuerpos específicos)
  5. **Radioinmunoensayo:** Se utiliza una reacción inmunológica con marcaje radioactivo el cual es determinado haciendo uso de equipos especiales.
  6. **Elisa:** Incorpora las reacciones enzimáticas de color a las pruebas inmunológicas, permitiendo evidenciar la presencia de anticuerpos o antígenos por la aparición de un color determinado en una densidad óptica determinada que permite cuantificar.

#### **g. Respuesta inmune alterada**

Si la respuesta inmune no funciona correctamente, se facilita el desarrollo de las enfermedades infecciosas asociadas a problemas existentes. De esta manera, el sistema inmune puede padecer por exceso, por defecto o por problemas de reconocimiento:

- 1. Inmunodeficiencias:** Si la inmunodeficiencia es ocasionada por problemas congénitos o hereditarios, se le denomina **inmunodeficiencia primaria**, este es el caso de la agammaglobulinemia infantil. Si la misma es consecuencia de otro proceso patológico, se le denomina **inmunodeficiencia secundaria**, tal es el caso del mieloma múltiple, leucemia, linfosarcoma, enfermedad de Hodgkin, tratamiento con corticoesteroides, radiaciones, desnutrición, diabetes mellitus y el lupus eritematoso diseminado.
- 2. Hiperfuncionalismo:** También llamadas “reacciones de hipersensibilidad”, se caracterizan por incluir reacciones celulares, humorales o ambas y se pueden clasificar en hipersensibilidad inmediata e hipersensibilidad tardía tipo: I (inmediata o anafiláctica), II (citotóxica), III (por inmunocomplejos) y IV (retardada).
- 3. Enfermedades autoinmunes:** En este caso, el sistema inmunológico no distingue lo propio de lo extraño, atacando células, tejidos y órganos de nuestro sistema como si fueran agentes extraños.

## **Mecanismos para el control de microorganismos**

### **a. Definiciones**

- 1. Esterilización:** Es la técnica que consigue la destrucción de todas las formas de vida, tanto vegetativas como de resistencia de un microorganismo, sobre una superficie inanimada.
- 2. Desinfección:** Es el proceso de destrucción de las formas vegetativas de los microorganismos patógenos, pero no de formas de resistencia ni de virus.
- 3. Antiseptia:** Es la desinfección química de superficies corporales (piel o mucosas).
- 4. Asepsia:** Es la ausencia de microorganismos en objetos o zonas corporales. También puede llamarse así a la técnica para impedir la entrada de un microorganismo al cuerpo.

**5. Saneamiento:** Es la disminución de la cantidad de microorganismos en ambientes.

**b. Métodos físicos y sus mecanismos de acción:**

**1. Temperatura:** La temperatura puede ser aplicada con efecto bactericida o bacteriostático dependiendo de la estrategia aplicada, así podemos señalar:

- **Calor:** El mecanismo de acción del calor está basado en la desnaturalización y coagulación de las proteínas del citoplasma celular. Puede aplicarse como calor húmedo o seco.

- Calor húmedo:

*Pasteurización:* proceso ideado por Pasteur en el cual las sustancias líquidas, sobre todo de consumo, son sometidas a temperaturas de 62-63 °C por 30 minutos, o a 72-75 °C por 15 segundos. Se ha ideado además un Sistema de Ultra Alta Temperatura (UAT) que permite la esterilización total y favorece la preservación de estos alimentos por mucho más tiempo sin refrigeración.

*Ebullición:* Se realiza aplicando calor hasta alcanzar los 100 °C por 20-30 minutos.

*Termodesinfección:* Es un sistema de acción quimiotérmica donde además de agregar sustancias desinfectantes se aplica temperatura hasta 93 °C por 10 minutos, o 65 °C por 10 minutos.

*Vapor de agua:*

- ✓ Fluyente sin presión: como la tyndalización que aplica temperaturas intermitentes a baño de maría entre 65 y 100 °C x 30 min. Permite esterilizar.
- ✓ Con presión (autoclave): 121 °C, 15 lb, 15-20 min.

- Calor seco:

*Incineración:* Se realiza la combustión directa en hornos pirolíticos.

*Flameado o fuego directo:* Se aplica la llama del mechero.

*Estufa de calor seco o esterilizador de aire caliente:* se introduce el material a una temperatura que favorece la desecación por tiempos prolongados si se desea la esterilización.

• **Frío:** El frío disminuye la actividad metabólica por afección de las reacciones enzimáticas. En este sentido tenemos:

- Refrigeración: Actúa como bacteriostático a temperaturas de 0-7 °C. Muy útil para preservar alimentos, reactivos, etc.

- Congelación profunda: dependiendo del tiempo de congelación puede ser bacteriostático o bactericida a temperaturas que alcanzan los -50 a -95 °C.

- Liofilización: En este procedimiento además de disminuir temperatura se extrae completamente el agua sin causar la muerte celular por lo que es bacteriostático, utilizado inclusive para preservar cepas bacterianas. Se realiza una congelación profunda a -76 °C y se extrae el líquido por vacío a alta presión.

• **Desecación:** Por acción de la temperatura, inclusive a temperatura ambiente se puede producir a largo plazo la evaporación total de los líquidos contenidos presentes en una superficie. Este proceso es bacteriostático y no elimina formas de resistencia.

**2. Presión osmótica:** Por medio de este procedimiento de variación en la concentración de solutos del medio externo se puede lograr la eliminación de formas vegetativas considerando los procesos de plasmólisis o plasmóptisis que puede sufrir una célula.

**3. Radiaciones:** Dependiendo de la longitud de onda y de la frecuencia podemos encontrar:



- **Radiaciones ionizantes (rayos gamma):** letales, son utilizados para esterilizar material inerte principalmente.
- **Radiaciones ultravioleta (LUV) o no ionizantes:** pueden actuar como bactericidas o bacteriostáticas dependiendo del tiempo y la distancia de exposición. Una lámpara ultravioleta eficiente no debe ser colocada a una distancia mayor de 70 cm, ni por menos de 30 minutos sobre la superficie que desea desinfectar.

#### 4. Agentes mecánicos

- **Ultrasonido:** Se lleva a cabo un fenómeno conocido como sonicación en el cual las ondas sónicas penetran en el citoplasma celular y generan vacuolas dentro del mismo por desorganización de los elementos. Se observa un citoplasma espumoso. Se utiliza sobre todo para desinfectar instrumental.
- **Cepillado o fregado:** También utilizado para desinfectar instrumental, pero no es un método que garantice esterilidad pues solo disminuye la carga microbiana en sus formas vegetativas.
- **Filtración:** Se pueden utilizar filtros de amianto, asbesto, acetato de celulosa, etc., que por el calibre de sus poros detienen las partículas más grandes dejando pasar las soluciones. Es utilizado para esterilizar reactivos, medios de cultivos que contienen sustancias termolábiles, entre otros.

#### **Esterilización en el consultorio odontológico:**

El método ideal para esterilizar el material en el consultorio odontológico debe cumplir con las siguientes características:

- Debe ser un método simple pero eficaz
- De corta duración
- No debe alterar los materiales ni el instrumental
- No debe ser contaminante

Dentro de los que más comúnmente son utilizados y cumpliendo lo más cercanamente posible con las condiciones antes mencionadas, se pueden

señalar el autoclave de vapor con presión, la estufa de calor seco y el autoclave de compuestos químicos.

**c. Agentes químicos:** Pueden clasificarse en:

**1. Poco específicos o no selectivos:** generalmente son de aplicación local. Entre ellos encontramos:

- **Antisépticos:** Aplicados sobre superficies biológicas para disminuir la carga microbiana.
- **Desinfectantes:** Utilizados para superficies inanimadas para disminuir la carga microbiana.
- **Esterilizantes:** Son los que permiten eliminar formas de vida tanto vegetativa como de resistencia.
- **Preservadores o conservadores:** Utilizados sobretodo en la industria de los alimentos para impedir el crecimiento de bacterias que puedan degradar los componentes presentes en un producto. Son inhibidores o bacteriostáticos.

**2. Selectivos:** Actúan con mecanismos específicos sobre agentes infecciosos particulares y son de aplicación general como es el caso de los quimioterápicos.

**Características que debe reunir un desinfectante/antiséptico efectivo:**

- Elevada acción antimicrobiana
- Bajo costo
- Amplio espectro
- Acción microbicida general y en corto tiempo
- Estabilidad en disoluciones
- Homogéneo en diluyentes (agua o alcohol)
- Actividad elevada preferiblemente en soluciones acuosas

- Baja tensión superficial para favorecer penetración
- Compatibilidad con otras sustancias
- Toxicidad selectiva sobre los microorganismos
- No ser corrosivo
- Propiedades organolépticas agradables (olor, color)
- Resistir cambios de pH y temperatura

#### d. **Sustancias químicas y sus mecanismos de acción**

**1. Alcoholes y fenoles:** El alcohol y el fenol actúan desestabilizando las membranas celulares debido a que se consideran solventes orgánicos. También pueden desnaturalizar y precipitar las proteínas y causar muerte celular. Son utilizados como antisépticos y desinfectantes en superficies inanimadas y biológicas. El fenol tiende a tener toxicidad sobre las células de nuestro organismo.

**2. Metales pesados:** Principalmente compuestos derivados de la plata, mercurio, cobre y estaño. Estos se unen a los grupos sulfidrilo de las enzimas inactivándolas.

#### **3. Detergentes**

- **Aniónicos:** También llamados “jabones”, afectan la tensión superficial en las membranas celulares alterando la permeabilidad. Útiles para higiene de piel y limpieza de superficies ambientales.
- **Catiónicos:** Son detergentes derivados de amonio cuaternario que causan ruptura de membranas e inactivación de proteínas y enzimas. Tienen un nivel bajo de desinfección.
- **Compuestos anfóteros:** Denominados de esta manera pues se ionizan en solución generando aniones y cationes. Tienen actividad microbicida con acción tensoactiva pero con la desventaja de inactivarse fácilmente.

#### 4. Halógenos:

- **Yodo y yodóforos:** Se utilizan mucho como antisépticos sobre piel o mucosas. Son bactericidas y virucidas eficaces y, de acuerdo a la concentración, podrían ser esporicidas.
- **Cloro:** Es uno de los desinfectantes más utilizados, económico, de acción rápida con un nivel de desinfección de intermedio a alto. Produce inactivación de reacciones enzimáticas, inactivación de ácidos nucleicos y desnaturalización de proteínas con acción microbicida.
- **Flúor:** los mecanismos de acción del flúor se describen como acción bactericida por inhibición metabólica o lisis celular y acción antiadherente.

**5. Alcalis y ácidos:** Se caracterizan por tener un efecto antimicrobiano asociado con su grado de disociación. Generalmente se utilizan como conservantes, pero algunos de ellos sirven como antisépticos, por ejemplo el hidróxido de calcio utilizado en endodoncia.

**6. Aldehídos (agentes alquilantes):** Como el formaldehído y el glutaraldehído, que utilizados como desinfectantes pueden tener poder como esterilizantes químicos para superficies inanimadas. Lamentablemente son altamente tóxicos y volátiles, y tienen olores desagradables e irritantes.

**7. Colorantes:** Tienen acción bacteriostática debido a que modifican el potencial de oxidorreducción del medio. Son utilizados sobre superficies vivas, pero tienen el inconveniente de posible toxicidad celular a largo plazo. Entre estos encontramos derivados de la acridina (proflavina) y derivados del trifenilmetano (verde brillante y cristal violeta).

- **Bisguanidas:** La más conocida y utilizada en odontología es la clorhexidina que daña las membranas celulares y provoca cambios en la permeabilidad. Puede ser bactericida por coagulación del citoplasma, o bacteriostática por pérdida de elementos citoplasmáticos de bajo peso molecular, dependiendo de las concentraciones en las que se utilice.

- **Peróxido de hidrógeno:** En concentraciones del 6% y del 10% tiene un elevado poder de desinfección por oxidación de los componentes celulares. En concentraciones más bajas pierde actividad fácilmente por inactivación debido a las catalasas microbianas. Es útil en antisepsia de heridas y en infecciones por anaeróbicos.

En resumen, de acuerdo a su mecanismo de acción las sustancias químicas se pueden agrupar de la siguiente manera:

- **Sustancias que lesionan membranas celulares**
  - Jabones
  - Detergentes aniónicos
  - Detergentes catiónicos
  - Detergentes no iónicos: Tween 80
  - Fenol
  - Alcoholes
- **Sustancias que desnaturalizan proteínas**
  - Ácidos y álcalis
  - Alcoholes y fenoles
- **Sustancias que interaccionan con grupos funcionales de proteínas**
  - Halógenos
  - Sales de metales pesados
  - Peróxido de hidrógeno
  - Colorantes
  - Agentes alquilantes

#### **e. Antibióticos: mecanismo y espectro de acción**

Como antibiótico se conoce a toda sustancia química de origen natural, sintético o semisintético que tiene actividad microbicida o microbiostática sobre los microorganismos. El término se adopta, de acuerdo al tipo de microorganismo que ataque, en antibacterianos, antivirales, antifúngicos y antiparasitarios.

Estas sustancias pueden tener espectros de acción reducidos o amplios dependiendo de la cantidad de microorganismos diferentes que puedan afectar.

## **Clasificación de los antibacterianos según su mecanismo de acción**

### **1. Inhibidores de síntesis de pared celular**

- Fosfomicina
- Bacitracina
- Mureidomicinas
- Glucopéptidos
- Betalactámicos

### **2. Inductores de alteración en membranas celulares**

- Polimixinas

### **3. Inhibidores de síntesis proteica**

- Aminoglucósidos
- Tetraciclinas
- Lincosaminas
- Macrólidos
- Ácido fusídico
- Mupirocina
- Fenicoles
- Nitrofuranos
- Novobiocina
- Nitroxolina

### **4. Inhibidores de ácidos nucleicos:**

- Inhibidores de cofactores metabólicos
  - Sulfamidas
  - Trimetoprima
  - Diaminopiridinas

- Inhibidores de replicación y transcripción del ADN cromosómico
  - Rifamicinas
  - Quinolonas
  - Nitroimidazoles

#### **5. De mecanismos no bien conocidos:**

- Isoniazida
- Etionamida
- Tioacetazona
- Etambutol
- Pirazinamida
- Ácido paraaminosalicílico
- Clofazimina
- Diamino difenil sulfona (dapsona)

#### **Antimicóticos**

- Miosis superficiales: griseofulvina, nistatina, etc.
- Miosis profundas: anfotericina B, imidazoles

#### **Antiparasitarios**

- Cloroquina, benzimidazoles, metronidazol, sulfas y asociaciones

#### **Antivirales**

- Foscarnet, amantidina, AZT, aciclovir, ganciclovir, etc.

#### **Condiciones que debe reunir el antimicrobiano ideal:**

- Toxicidad selectiva
- Fácil obtención
- Elevada potencia (alta eficacia)
- Niveles adecuados
- Solubilidad

- Degradación lenta
- No generar resistencia
- Amplio espectro

#### **f. Mecanismo de resistencia bacteriana a los antibióticos**

En la pérdida de sensibilidad a un antibiótico intervienen varios factores. De estos factores, las dos fuerzas principales son la prevalencia de genes de resistencia y la difusión del uso de antibióticos. Es por ello que para entender los mecanismos de resistencia bacteriana se hace necesario conocer la naturaleza de los antibióticos y los efectos que tienen sobre los microorganismos.

Las bacterias resistentes a antibióticos portan genes específicos: unos dirigen la síntesis de bombas de flujo hacia afuera para expulsar el antibiótico, mientras que otros darán lugar a enzimas que pueden degradar, alterar o inactivar el antibiótico

Algunos de estos genes están en el cromosoma bacteriano, otros son plásmidos, unos se heredan, otros aparecen por mutaciones aleatorias y otros provienen de otras bacterias, es decir, las bacterias adquieren estos genes de resistencia por tres mecanismos principales:

1. Reciben plásmidos de células donantes
2. Son infectadas por virus (bacteriófagos), y
3. Obtienen material genético del medio ambiente liberado por otras bacterias

La diseminación de la resistencia procede sin dificultad, puede llegar muy lejos en espacio geográfico y, por lo general, produce cambios en las bacterias.

Otro aspecto importante a considerar es el síndrome CAP (Compulsive Antibiotic Prescription) que lleva a la selección de cepas bacterianas resistentes a los antibacterianos utilizados más frecuentemente en la práctica clínica.



Algunos mecanismos de resistencia se explican en el cuadro 12.

Cuadro 12. Mecanismos de resistencia

<b>Antibacteriano</b>	<b>Mecanismo de resistencia</b>
Tetraciclinas	Alteración en el sistema de transporte (bombas de eflujo)
Penicilinas y cefalosporinas	Inactivación enzimática por betalactamasas
Cloranfenicol	Inactivación enzimática por acetilación de los grupos OH-
Aminoglucósidos	Inactivación enzimática por acetilación de los grupos amino y adenilación o fosforilación de los OH-
Eritromicina	Alteración de los ribosomas
Sulfonamidas y trimetoprim	Utilización de vías metabólicas alternas mediante síntesis de enzimas resistentes al antibacteriano

### **Antibacterianos más utilizados en odontología**

Penicilinas, macrólidos, clindamicina, tetraciclinas, aminoglucósidos y metronidazol y, en algunos casos, las cefalosporinas que son utilizadas en el tratamiento de infecciones post cirugía maxilofacial

### **Situaciones más comunes de uso**

- En el tratamiento de infecciones bucodentales y maxilofaciales (invasión de tejidos por microorganismos y lesiones subsiguientes).
- Como profilácticos en pacientes médicamente comprometidos (cardiopatías, endocrinopatías, inmunodepresiones, etc.).

### **Uso racional de los antibacterianos**

- Debe obtenerse una historia clínica completa, minuciosa y detallada para determinar si el paciente ha experimentado alguna reacción adversa previa o tiene sensibilidad a las drogas que se le piensen prescribir.
- Deber haber una clara necesidad de la utilización de antibacterianos.
- Debe determinarse a qué antibiótico es susceptible el microorganismo (antibiograma).

- El conocimiento de los efectos colaterales es fundamental antes de su uso.

### **Efectos colaterales de los antibacterianos**

- Resistencia
- Disbacteriosis
- Alergia: Penicilinas
- Anemia aplásica: Cloranfenicol
- Hipoacusia (sordera): Estreptomina
- Nefrotoxicidad: Anfotericina B
- Pigmentaciones dentarias y defectos óseos: Tetraciclinas
- Daños hepáticos y gastrointestinales: Macrólidos

### **Resistencia intrínseca o adquirida demostrada**

- Se ha reportado resistencia a la clindamicina y el metronidazol para *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *Eikenella corrodens* (periodontopatógenos).
- Los Enterococos son altamente resistentes a las cefalosporinas.
- Los genes codificantes de resistencia al mercurio de las amalgamas codifican resistencia a antimicrobianos.
- *Streptococcus spp*, *Veillonella párvula*, *Peptostreptococcus micros*, *Prevotella intermedia*, *Gemella morbillorum* y *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* pueden ser resistentes a tetraciclinas
- Puede existir resistencia a la mayoría de las penicilinas en especies de *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Streptococcus viridans*, *Lactobacillus*, *Eikenella*, *Haemophilus*, *Klebsiella* y *Enterobacter*, entre otras.

- Polimixinas, ampicilina, cefalotina y nitrofuradantoina pueden ser poco efectivas en cepas de *Morganella morganii*.
- Algunos estudios indican la resistencia de *Klebsiella pneumoniae* a la ampicilina y la carbenicilina, así como resistencia a la penicilina, colistina y cefalotina en cepas de *Serratia marcescens*.
- Ampicilina y cefalotina para *Enterobacter aerógenes*, *Enterobacter cloacae* y *Haemophilus alvei*.

### Pruebas de susceptibilidad de los microorganismos a los antibióticos

Existe una variedad de pruebas de laboratorio que nos permite establecer *in vitro* y con confiabilidad la susceptibilidad de los microorganismos a los antibióticos, entre ellas destacan:

1. **Difusión en agar (Kirby-Bauer):** Es la técnica más utilizada. Se realiza en un medio sólido en placa de petri, generalmente agar Mueller Hinton, pero existen algunas bacterias exigentes que requieren otro tipo de agar o suplementos. Se realiza la inoculación de la cepa pura de manera uniforme sobre la superficie del agar y posteriormente se colocan los discos de antibióticos a ensayar, se incuba y evalúa el halo de inhibición en el crecimiento comparando con las tablas de referencia internacionales establecidas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

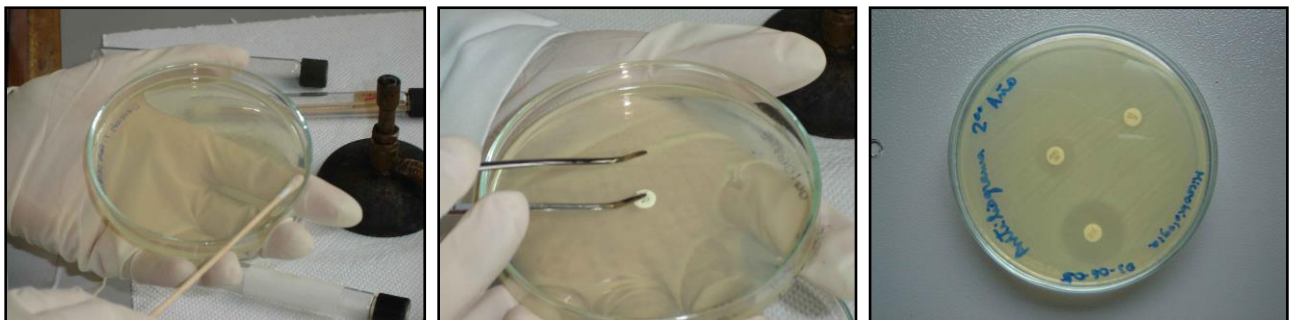


Figura 40. Secuencia de antibiograma.

- 2. Dilución en caldo:** Es una técnica que permite evaluar la mínima concentración a la cual el antibiótico tiene efecto inhibitorio sobre un microorganismo. Se diluye el antimicrobiano a distintas concentraciones crecientes en varios tubos de ensayo; con el caldo donde se inoculará el microorganismo, se incuba y evalúa el último tubo en el cual se presenta crecimiento.
  
- 3. Dilución en agar (Wilkins-Chaigren agar):** También permite evaluar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) pero con una variante en agar. Esta técnica favorece el ensayo para varias cepas en una misma placa.
  
- 4. Nivel sérico del antibiótico:** Se evalúa la concentración que alcanza el antibiótico en sangre para determinar la dosis adecuada a ser administrada.
  
- 5. Actividad o nivel bactericida del suero:** Se determinan los niveles de la actividad antimicrobiana del suero del paciente que se encuentra ingiriendo tratamiento para conocer los niveles de acción del mismo “in vivo”.
  - **E-test:** Es un test epsilométrico que se basa en la prueba de Kirby Bauer con la diferencia de que se utiliza una tira de antibiótico con degradación de concentración y permite establecer la CMI.
  
  - **Curva de letalidad:** Es una prueba especial establecida para conocer la concentración bactericida y la bacteriostática de un antibiótico en particular.
  
  - **Estudio de la asociación de antibióticos:** Permite establecer las relaciones sinérgicas, antagónicas o indiferentes al utilizar combinación de antibióticos.
  
  - **Otros:** como el estudio de los genes de resistencia por medio de técnicas de biología molecular.

## REFERENCIAS

Benito, C. (s/f). Retorcimientos y enrollamientos del ADN circular [Dibujo]. En: *La replicación*. Madrid, España: Departamento de Genética, Universidad Complutense de Madrid. Recuperado de <http://www.ucm.es/info/genetica/grupod/Replicacion/Replicacion.htm>

Barrios, A. (1988). *Bacteriología y virología básicas*. Mérida, Venezuela: Consejo de Publicaciones de la Universidad de Los Andes.

Burrows, W. (1986). *Microbiología de Burrows*. México, Caracas: Editorial Interamericana.

Eick, S., Pfister, W. y Straube, E. (1999). Antimicrobial susceptibility of anaerobic and capnophilic bacteria isolated from odontogenic abscesses and rapidly progressive periodontitis. *Int J Antimicrob Agents*, 12 (1), 41-46.

Firefly Productions/CORBIS (1999). *Agar plates in a microbiology lab (SC-020-0190 - RM)*. Recuperado de <http://pro.corbis.com/search/searchFrame.aspx>

Esposito M, Coulthard P, Oliver R, Thomsen P, Worthington HV. (2003). Antibiotics to prevent complications following dental implant treatment. *Cochrane Database of Systematic Reviews Issue 3*. Art. No.: CD004152. DOI: 10.1002/14651858.CD004152.

Fine, D. H., Hammond, B. F. & Loesche, W. J. (1998). Clinical use of antibiotics in dental practice. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 9 (4), 235-238.

Fonseca E., Almeida M, Maia É., Menezes D. y Savino W. (1997). Sífilis congénita. Aspecto sugestivo de células B en la corteza tímica. Inmunofluorescencia indirecta, anticuerpo anti-Ig humana, 250 x [Fotografía]. En: *Cambios en el microambiente tímico en la sífilis congénita humana. Memorias del I congreso virtual panamericano de anatomía patológica*. Universidad de las Palmas de Gran Canaria. Las Palmas de Gran Canaria, España. Recuperado de <http://conganat.uninet.edu/ICVHAP/comunic/com096/figure13.htm>

García F. (2004). Ciclo de Calvin-Benson [Dibujo]. En: *Biología y Botánica*. Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado de <http://www.euita.upv.es/varios/biologia/Temas%20PDF/Tema%2011%20Fotos%C3%ADn tesis.pdf>

Gifmania Networks (s.f.). *Moléculas de ADN* [Animación]. Recuperado de <http://www.gifmania.com.co/Gifs-Animados-Objetos/Imagenes-Animadas-Ciencia/Gifs-Medicina/ADN/>

Hamada, S., Fujiwara, T., Shimauchi, H., Ogawa, T., Nishihara, T., Koga, T., Nehashi, T. & Matsuno, T. (1990). Antimicrobial activities of thiolactomycin against gram-negative anaerobes associated with periodontal disease. *Oral Microbiol Immunol*, 5 (6), 340-345.

Infante (2011). Medios de cultivo para identificación. En: Clavell, L., Pedrique, M., Castro, N. y Gutiérrez S. (s.f.). *Selección de pruebas bioquímicas para la identificación de microorganismos*. Recuperado el 09/05/2011 en [http://www.ucv.ve/fileadmin/user\\_upload/facultad\\_farmacia/catedraMicro/Introducción.pdf](http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/Introducción.pdf)

Instituto de Ecología Política (2007). *Agricultura* [Fotografía]. Recuperado de [http://www.iepe.org/upimages/438c594712a96\\_agricultura.jpg](http://www.iepe.org/upimages/438c594712a96_agricultura.jpg)

Joklik, W., Willet, H., Amos, D. y Zinsser (1986). *Microbiología*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Karlowsky J., Ferguson J. & Zhanel, G. (1993). A review of commonly prescribed oral antibiotics in general dentistry. *J Can Dent Assoc*, 59 (3), 292-294, 297-300.

Koneman, E. (1999). *Diagnóstico microbiológico*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Laboratorio de Propiedades Físicas y Tecnologías Avanzadas en Agroalimentación - Universidad Politécnica de Madrid (2009). *Tecnología de alimentos*. [Fotografía]. Recuperado de <http://ocw.upm.es/tecnologia-de-alimentos>

Larsen, T. y Fiehn, N. E. (1997). Development of resistance to metronidazole and minocycline in vitro. *J Clin Periodontol*, 24 (4), 254-259.

Liébana, J. (2002). *Microbiología oral* (2ª. ed.). México, D.F.: Ediciones McGraw-Hill.

Lindhe, J. (1986). *Periodontología clínica*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Luengo, L. (2006). *La célula procariota* [Dibujo]. En: Índice de biología. Huelva, España: Instituto de Educación Secundaria La Rábida. Recuperado de [www.arrakis.es/~lluengo/celprocariota.jpg](http://www.arrakis.es/~lluengo/celprocariota.jpg)

Mateu, G. y Charre H. (2001). Citoplasma. En: *Cèl·lules animals i vegetals*. Barcelona, España. Recuperado de [www.arrakis.es/~ensenyament/ciencies/celula.htm](http://www.arrakis.es/~ensenyament/ciencies/celula.htm)

Miyasaki, K. T., Iofel, R., Oren, A., Huynh, T. & Lehrer, R. I. (1998). Killing of *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* by protegrins. *J Periodontal Res*, 33 (2), 91-98.

Negróni, M. (2009). *Microbiología estomatológica: Fundamentos y guía práctica*. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Noda, M., Komatsu, H., Inoue, S. y Sano, H. (2000). Antibiotic susceptibility of bacteria detected from the root canal exudate of persistent apical periodontitis. *J Endod*, 26 (4), 221-224.

Nolte, W. (1982). *Microbiología odontológica con nociones básicas de microbiología e inmunología* (3ª. ed.). México, Caracas: Editorial Interamericana.

Pelczar, M. (1984). *Elementos de microbiología*. Madrid, España: Editorial McGraw-Hill.

Phillips, D. - Visuals Unlimited/Getty Images (2011). *Streptococcus mutans* [Fotografía]. Recuperado de <http://www.britannica.com/EBchecked/media/112254/Streptococcus-mutans-a-bacteria-found-in-the-mouth-contributes-to>

Pike, R., Lucas, V., Stapleton, P., Gilthorpe, M. S., Roberts, G., Rowbury, R., Richards, H., Mullany, P. & Wilson, M. (2002). Prevalence and antibiotic resistance profile of mercury-resistant oral bacteria from children with and without mercury amalgam fillings. *J Antimicrob Chemother*, 49 (5), 777-83.

Prescott, L., Harley, J. y Klein, D. (2000). *Microbiología*. México, D.F.: Editorial Interamericana.

Raisman, J. y González, A. (2007a). Pared celular en bacterias gram positivas y gram negativas [Dibujo]. En: *Hipertextos en el área de biología*. Chaco, Argentina: Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de agroindustrias – Facultad de Ciencias Agrarias. Recuperado de [http://fai.unne.edu.ar/biologia/bacterias/figbac/fig2\\_6.gif](http://fai.unne.edu.ar/biologia/bacterias/figbac/fig2_6.gif)

Raisman, J. y González, A. (2007b). ADN extracromosómico, plásmido o episoma [Dibujo]. En: *Hipertextos en el área de Biología*. Chaco, Argentina: Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de agroindustrias – Facultad de Ciencias Agrarias. Recuperado el 07/08/2007 de [http://fai.unne.edu.ar/biologia/bacterias/figbac/14\\_1.jpg](http://fai.unne.edu.ar/biologia/bacterias/figbac/14_1.jpg)

Raisman, J. y González, A. (2007c). Síntesis de Polímeros [Dibujo]. En: *Hipertextos del área de Biología*. Chaco, Argentina: Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias. Facultad de Ciencias Agrarias. Recuperado el 07/08/2007 de <http://fai.unne.edu.ar/biologia/bacterias/micro4.htm>

Ranea, F. (2005). Cámara de recuento de Petroff-Hauser [Dibujo]. En: *Microbiología! Outside*. Buenos Aires, Argentina. Recuperado de [www.microbiología.com.ar/bacterologia/fisiologia.php?Mostrar=medida](http://www.microbiología.com.ar/bacterologia/fisiologia.php?Mostrar=medida)



Rogers, D. (1950). *Crawling Neutrophil Chasing a Bacterium* [Video]. Nashville, EEUU: Vanderbilt University. En: Fenteany G. (1999-2013). BioChemWeb.org. Recuperado de <http://www.biochemweb.org/neutrophil.shtml>

Rodrigues, R., Goncalves, C., Souto, R., Feres-Filho, E., Uzeda, M. y Colombo, A. (2004). Antibiotic resistance profile of the subgingival microbiota following systemic or local tetracycline therapy. *J Clin Periodontol*, 31 (6), 420-427.

Ross, Ph. y Holbrook, P. (1985). *Microbiología bucal y clínica*. (Ma. Del Rosario Carsolio Pacheco, Trad.) México: Editorial Científica PLM.

Sala, E. (2011). *Encuentro en Mónaco a favor de la preservación del Mediterráneo* [Fotografía]. Recuperado de [http://www.nationalgeographic.com.es/2011/02/18/encuentro\\_monaco\\_favor\\_preservacion\\_del\\_mediterraneo.html](http://www.nationalgeographic.com.es/2011/02/18/encuentro_monaco_favor_preservacion_del_mediterraneo.html)

Sánchez, J. (2001a). Membrana citoplasmática [Dibujo]. En: *Aula virtual de biología*. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. Centro Educativo Experimental “Rafael Narváez Cadenillas”. Recuperado de <http://enfenix.webcindario.com/biologia/celula/membrana.html>

Sánchez, J. (2001b). Reproducción bacteriana [Dibujo]. En: *Aula virtual de Biología*. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. Centro Educativo Experimental “Rafael Narváez Cadenillas”. Recuperado de <http://enfenix.webcindario.com/biologia/imagenbio/bacteri3.gif>

Santos, F., Bastos, E., Rodrigues, P., Uzeda, M., Carvalho, M., Macedo, F. & Andrade, E. (2002). Susceptibility of *Prevotella intermedia/Prevotella nigrescens* (and *Porphyromonas gingivalis*) to Propolis (Bee Glue) and other Antimicrobial Agents. *Anaerobe*, 8 (1), 9-15.

Sokolovsky, S. (2002). Traducción. En: *Síntesis de proteínas*. Buenos Aires, Argentina: Universidad de Buenos Aires. Recuperado de [http://soko.com.ar/Biologia/Sintesis\\_Proteinas.htm](http://soko.com.ar/Biologia/Sintesis_Proteinas.htm)

Tong, D. C. & Rothwell, B. R. (2000). Antibiotic prophylaxis in dentistry: a review and practice recommendations. *J Am Dent Assoc*, 131 (6), 724.

Universidad Nacional Autónoma de México (s.f.). *Citología diagnóstica veterinaria*. Recuperado de <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/enlinea/citologia/principalcurso.htm>

Universidad Nacional de Colombia (s.f.). *El Sector Secundario. La Industria y las Energías* [Dibujo]. Recuperado de <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/economicas/2006162/lecciones/modulo1/definiciones.htm>

Utah State University (2010). *Lactobacillus bulgaricus* [Fotografía]. Recuperado el 16/08/2006 de <http://bioweb.usu.edu/microscopy/lactobacillus%20bulgaricus.jpg>

Van Winkelhoff, A. J., Herrera, D., Winkel, E.G., DelleMijn-Kippuw, N., Vandenbroucke-Grauls, C.M. & Sanz, M. (2000). Antimicrobial resistance in the subgingival microflora in patients with adult periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain. *J Clin Periodontol*, 27 (2), 79-86.

Volk, W. (1997). *Microbiología básica* (7<sup>a</sup>. ed.) D.F., México: Editorial Harla.

Wilkowske, C.J. (1991). General principles of antimicrobial therapy. *Mayo Clin Proc*, 66 (9), 931-941.

Woese, C. R., Kandler O., y Wheelis ML. (1990). Towards a natural system of organisms: proposal for the domains Archaea, Bacteria and Eucarya. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 87 (12), 4576–4579. Recuperado de [http://nai.arc.nasa.gov/library/images/news\\_articles/big\\_274\\_3.jpg](http://nai.arc.nasa.gov/library/images/news_articles/big_274_3.jpg)

YouTube (2006). *DNA Structure* [Video]. Recuperado de <http://www.youtube.com/watch?v=qy8dk5iS1f0>

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
**Autoridades Universitarias**

- *Rector*  
Mario Bonucci Rossini
- *Vicerrectora Académica*  
Patricia Rosenzweig Levy
- *Vicerrector Administrativo*  
Manuel Aranguren Rincón
- *Secretario*  
José María Andrés
- *Coordinador de la Comisión de Desarrollo del Pregrado (CODEPRE)*  
Hugo Leiva

PUBLICACIONES  
VICERRECTORADO  
ACADÉMICO

- *Presidenta*  
Patricia Rosenzweig Levy
- *Director*  
Víctor García
- *Coordinador*  
Ricardo R. Contreras

UNIDAD OPERATIVA

- *Supervisora de procesos técnicos*  
Yelliza García
- *Asesor editorial*  
Freddy Parra Jahn
- *Asistente*  
Yoly Torres
- *Asistente técnico*  
Ricardo Huggines

Esta obra es producto del proyecto de investigación O-094-04-04-A financiado por el Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico, Tecnológico y de las Artes.

Los trabajos publicados en esta Colección han sido rigurosamente seleccionados y arbitrados por especialistas en las diferentes disciplinas.

**Colección**

**Textos Universitarios**

Publicaciones Vicerrectorado Académico

**Nociones básicas de microbiología general para estudiantes de Odontología**

Primera edición digital, 2014

- © Universidad de Los Andes Vicerrectorado Académico con el financiamiento de la Comisión de Desarrollo del Pregrado (CODEPRE)
- © Leonidas Urdaneta Norelkys Espinoza

Hecho el depósito de ley  
Depósito Legal:

lfx23720146004071  
lfi23720146004072  
ISBN: 978-980-11-1633-2  
ISBN: 978-980-11-1653-0

- *Corrección de texto*  
Freddy Parra Jahn
- *Concepto de colección*  
Kataliñ Alava
- *Fotografía de portada*  
Leonidas Urdaneta Norelkys Espinoza
- *Diseño de portada*  
Jéssica López R.
- *Diseño y programación multimedia*  
Leonidas Urdaneta Norelkys Espinoza

Universidad de Los Andes  
Av. 3 Independencia  
Edificio Central del Rectorado  
Mérida, Venezuela  
publicacionesva@ula.ve  
publicacionesva@gmail.com  
<http://www2.ula.ve/publicacionesacademico>

Se permite la reproducción parcial y sin fines comerciales de esta obra, siempre que se cite adecuadamente a los autores y su fuente original.

Editado en la República Bolivariana de Venezuela

COLECCIÓN

TEXTOS UNIVERSITARIOS

textosuniversitarios

**Esta colección** contempla la edición de textos académicos que sirvan de apoyo docente en las áreas del conocimiento existentes en la Universidad: Ciencias Humanísticas y Sociales, Ciencias Básicas, Tecnología y Ciencias de la Salud.

Entre los objetivos específicos de esta colección resaltan:

- Estimular la edición de libros al servicio de la docencia.
- Editar la obra científica de los profesores de nuestra Casa de Estudios.
- Publicar las investigaciones generadas en los centros e institutos de investigación.

Hasta ahora, un número considerable de textos universitarios ha sido publicado por miembros de nuestra planta profesoral, obras de las que –en la búsqueda del mejoramiento de la calidad de nuestra educación de pre y posgrado– se han beneficiado por igual estudiantes y docentes.

