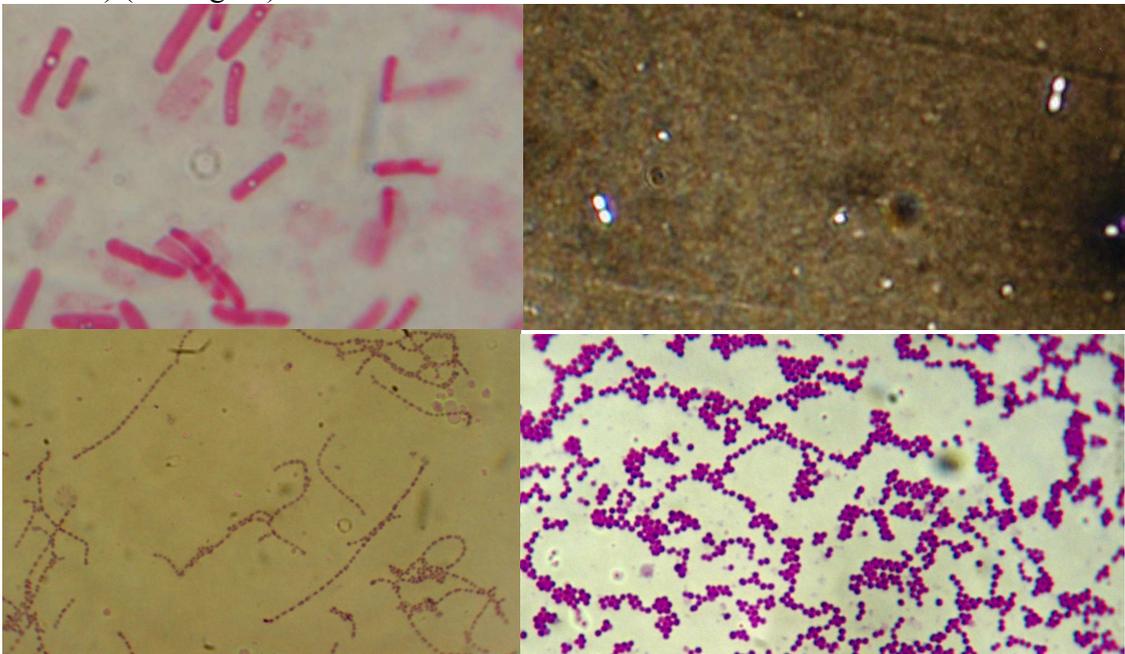


1. Estructura de las bacterias patógenas.

Formas y agrupaciones características.

Todas las bacterias patógenas son eubacterias, es decir **procariotas unicelulares**. El tamaño medio de las bacterias patógenas humanas es de alrededor de 1 micra. *Bacillus anthracis* es la mayor (1-1,3 X 3-10 micras) y las más pequeñas pertenecen al género *Mycoplasma* (0,1 X 0,2 micras). Las bacterias pueden adoptar diferentes formas. Se denominan **cocos** las de forma esférica y **bacilos** las alargadas; cuando los bacilos se curvan como una “coma” se llaman **vibrios**, y si forman espirales **espirilos**. Los actinomicetos son bacterias **filamentosas** formadas por largos filamentos e incluso ramificadas.

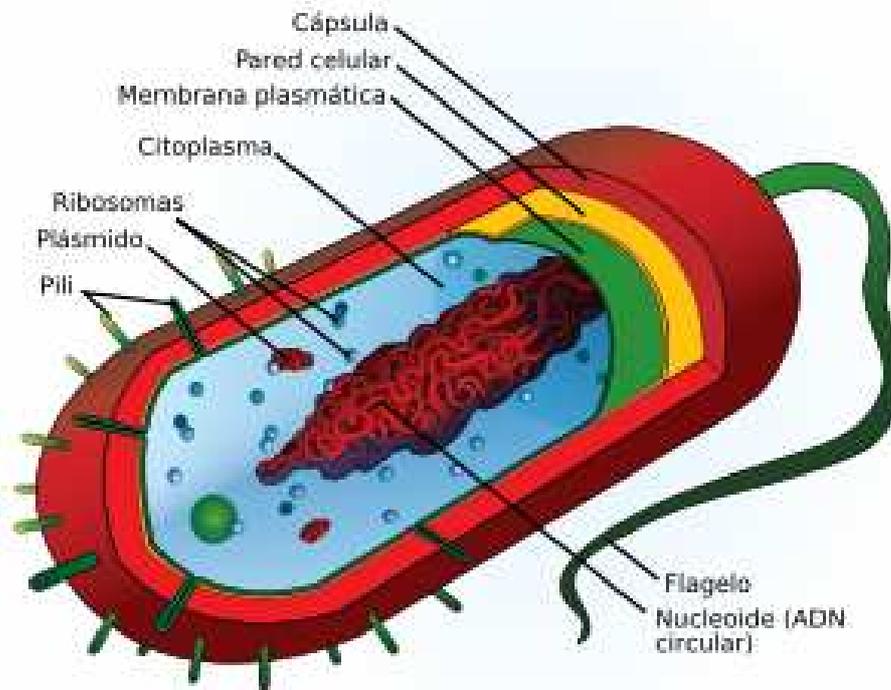
Aunque todas son unicelulares, a menudo quedan unidas tras la división celular y dan lugar así a **agrupaciones características**: diplococos (cuando forman parejas), estreptococos (cocos en hilera), estafilococos (cocos en racimos) o sarcinas (en forma de cubo) (1.1. figura).



1.1. figura: Diferentes formas y agrupaciones características de bacterias: a) bacilos; b) diplococos; c) estreptococos y d) estafilococos.

Estructura de las células procariotas.

La organización estructural de una célula procariota es simple si la comparamos con la eucariota (1.2.figura). El **genoma** de la célula procariota es una única molécula circular de ADN bicatenario (el cromosoma bacteriano) y **no está rodeado de membrana nuclear**. Independientes de ese cromosoma y solo en algunas bacterias pueden existir **plásmidos**, que son moléculas circulares de ADN bicatenario pero mucho más pequeñas que el cromosoma. En el **citoplasma** aparte del genoma solo se observan ribosomas, puesto que no poseen ningún orgánulo rodeado de membrana. Por encima de la **membrana citoplasmática** está la **pared celular**. La pared es una estructura imprescindible para la supervivencia que se encuentra en todas las bacterias excepto en las especies de *Mycoplasma*. Otras estructuras superficiales como **cápsulas**, **flagelos** y **fimbrias**, solo se encuentran en algunas especies.



1.2.figura: Estructura de una bacteria.

Genoma: cromosoma y plásmidos

Toda la **información imprescindible** para la supervivencia de la bacteria se encuentra en **el cromosoma**. Este cromosoma es una molécula circular gigante de ADN bicatenario, que, si fuera lineal, mediría casi 1mm; por lo tanto está enrollada y estrechamente empaquetada para caber en la célula procariota cuyo diámetro suele estar entre 1 y 2 micras. Sin embargo en el cromosoma procariota no se encuentran histonas, proteínas básicas que estabilizan el ADN en los cromosomas eucariotas, pero esa función la realizan otras proteínas (las poliaminas) y el magnesio. No existe la mitosis ni el huso acromático, y para realizar su **replicación semiconservativa** el cromosoma bacteriano se une a la membrana citoplasmática; es ésta membrana o una invaginación de la misma (un **mesosoma**), la que **se ocupa del reparto de las réplicas del cromosoma** entre las dos células hijas. Los genes no necesarios para la supervivencia pueden estar en el cromosoma o en plásmidos.

Los **plásmidos** son moléculas de ADN circulares pequeñas (de 5 a 200 kilobases) que incluso se pueden perder puesto que su **replicación** es **independiente** de la del cromosoma. Por otro lado la información contenida en plásmidos puede **transferirse a otras bacterias de la misma o de diferente especie** a través de diversos mecanismos genéticos. Los genes que codifican los factores de virulencia de las bacterias patógenas, tales como adhesinas, toxinas o resistencias a antibióticos pueden localizarse tanto en el cromosoma como en plásmidos.

Citoplasma

El citoplasma es la sede del **metabolismo** de las bacterias porque en él tienen lugar todas las reacciones biosintéticas y degradativas precisas para el crecimiento y actividad de la bacteria, incluida la síntesis de sus proteínas propias. Al microscopio electrónico, además del genoma en el citoplasma bacteriano se aprecian los ribosomas y algunas inclusiones de reserva de nutrientes. **Los ribosomas** son partículas de ribonucleoproteínas que se ocupan de traducir la información genética al lenguaje de las proteínas. Los ribosomas bacterianos no están unidos a una membrana porque **no existe el retículo endoplásmico** y son más pequeños que los eucariotas: **de tipo 70S, formados por dos subunidades de 30S y 50S.**

En el citoplasma de algunas especies de bacterias son visibles **inclusiones de nutrientes** como gránulos de glucano que son reservas de carbono y energía, o polimetafosfato y polibetahidroxibutirato como reservas de lípidos.

Membrana citoplasmática

La membrana citoplasmática bacteriana es similar a la de la célula eucariota: una bicapa de fosfolípidos en la que se incluyen diversas proteínas, pero, salvo en el género *Mycoplasma*, las membranas citoplásmicas bacterianas **no contienen esteroides**, lípidos que están siempre presentes en las membranas eucariotas. La principal función de la membrana citoplasmática es el **transporte** de nutrientes del medio externo hacia el citoplasma y de residuos metabólicos, exoenzimas y otros productos citoplásmicos hacia el exterior. El agua y pequeñas moléculas neutras (<100 dalton) atraviesan pasivamente la membrana, pero las de mayor peso molecular o cargadas eléctricamente precisan proteínas transportadoras (1.1.tabla).

Característica	Difusión pasiva	Difusión facilitada	Transporte activo	Transposición de grupos
Con proteína transportadora	-	+	+	+
En contra de gradiente de concentración	-	-	+	+
Con especificidad	-	+	+	+
Con consumo de energía	-	-	+	+
Con modificación de la sustancia transportada	-	-	-	+

1.1. tabla: Sistemas de transporte a través de la membrana citoplasmática de las bacterias.

Además, como no existen orgánulos membranosos en el citoplasma, la respiración aeróbica, el transporte de electrones, la fosforilación oxidativa y otros **procesos de obtención de energía** en el caso de las bacterias van **ligados a la membrana citoplasmática**. La membrana es también la que se relaciona directamente con el medio externo cambiante y posee **proteínas capaces de sentir** la concentración externa de diversas sustancias. Las **copias del cromosoma** se unen a la membrana citoplasmática durante la fisión binaria para asegurar su **reparto** equitativo.

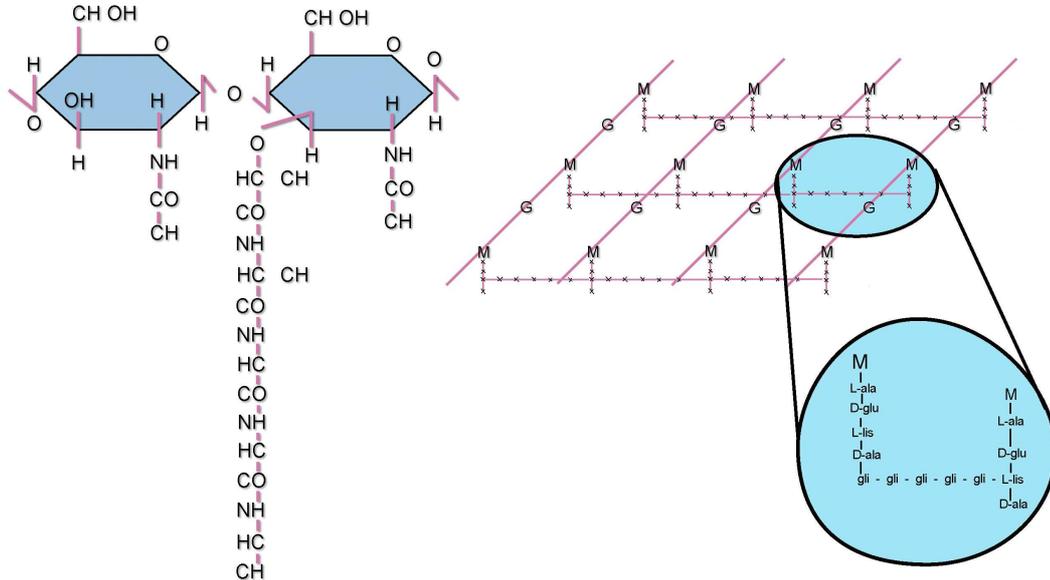
Paredes

Todos los procariotas tienen pared celular, puesto que **es necesaria** para que la célula no se rompa a causa de la **presión osmótica** que se genera en su citoplasma (entre 10-25 atm), donde la concentración de sustancias es normalmente mucho mayor que en el medio externo. La membrana citoplásmica es flexible pero frágil, en cambio el componente básico de toda pared bacteriana, el **peptidoglicano** o mureína, es un polímero enormemente **resistente**. Esta sustancia es sintetizada únicamente por las bacterias y, por tanto, los antibióticos dirigidos contra ella son capaces de inhibir el crecimiento bacteriano sin tener ningún efecto tóxico sobre nuestras células que son eucariotas.

Peptidoglicano

El peptidoglicano es una molécula gigante con forma de red: polisacáridos lineales de **n-acetilglucosamina** y **n-acetilmurámico** de los que cuelgan cadenas de cuatro

aminoácidos (tetrapéptidos) (1.3. figura). Algunos **tetrapéptidos se unen entre sí con cadenas de cinco glicinas**. Los componentes del peptidoglucano tras ser sintetizados en el citoplasma, se unen, una vez atravesada la membrana, mediante transglicosilasas, transpeptidasas y carboxipeptidasas. La penicilina y otros antibióticos betalactámicos bloquean estos enzimas de forma que impiden la síntesis de pared y detienen así el crecimiento de las bacterias.



1.3.figura: Unidad de péptidoglucano (izquierda): dímero de n-acetilglucosamina y n-acetilmurámico unido a un tetrapéptido; Red de peptidoplicano, puentes transversales de glicinas entre los tetrapéptidos (derecha).

Tinción Gram

La de Gram es la **tinción selectiva mas utilizada** para clasificar e identificar a las bacterias. **Se basa en la diferente estructura de las paredes** y en particular en su contenido de peptidoglucano. El procedimiento de tinción es el siguiente: 1) se tiñen todas las bacterias con violeta de genciana 2) mediante una solución de lugol el violeta queda fijado en el peptidoglucano de las paredes, 3) se decoloran las bacterias con una mezcla de alcohol y acetona, 4) y para terminar, se añade un colorante de contraste rosa claro como por ejemplo safranina (figura 1.4).

Pasos de la tinción		Bacterias gram positivas	Bacterias gram negativas
1.-	Violeta		
2.-	Lugol		
3.-	Alcohol-acetona		
4.-	Safranina		

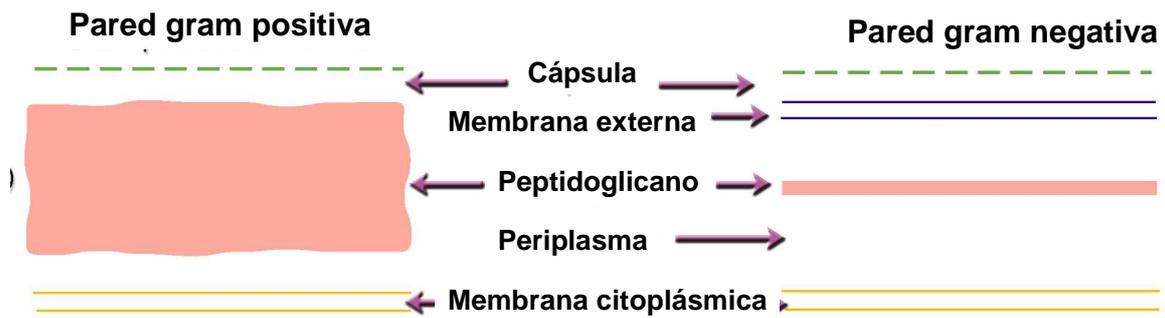
1.4.figura: Pasos de la tinción de Gram y su efecto en una bacteria Gram positiva y otra Gram negativa.

Dependiendo de la estructura de la pared celular las bacterias se dividen en dos grandes grupos, las **Gram positivas**, que tras la tinción aparecen de color **violeta**, y las **Gram negativas**, que se tiñen de **rosa** (1.5.figura).



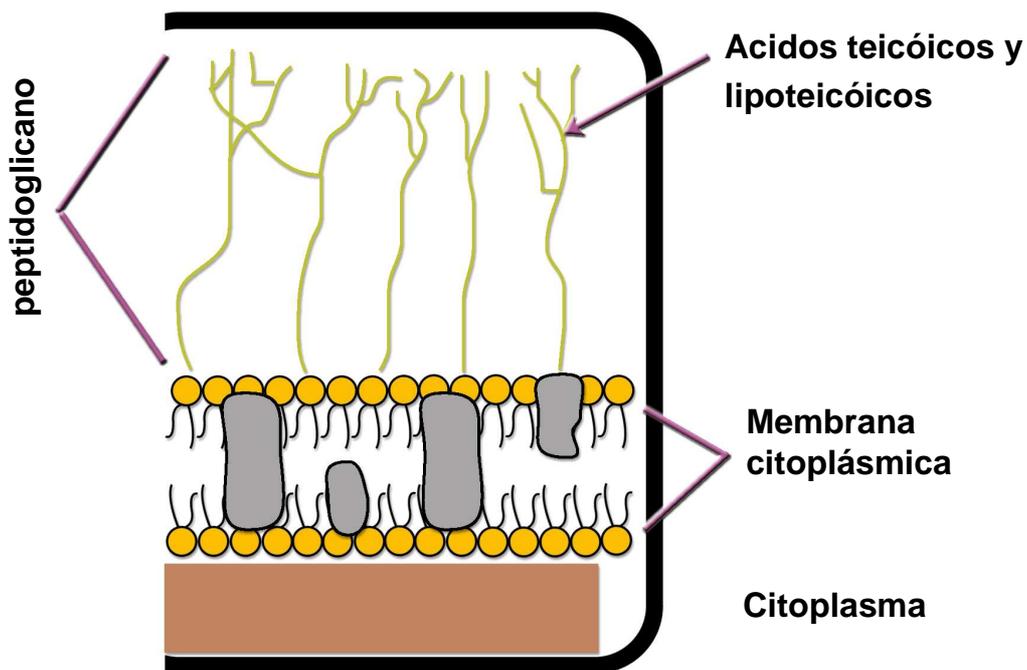
1.5.figura: Cocos Gram positivos (izquierda) y bacilos Gram negativos (derecha).

La pared de las bacterias Gram positivas posee una gruesa envuelta con múltiples capas de peptidoglicano; la de las Gram negativas por el contrario es fina y formada por una sola capa (6.figura).



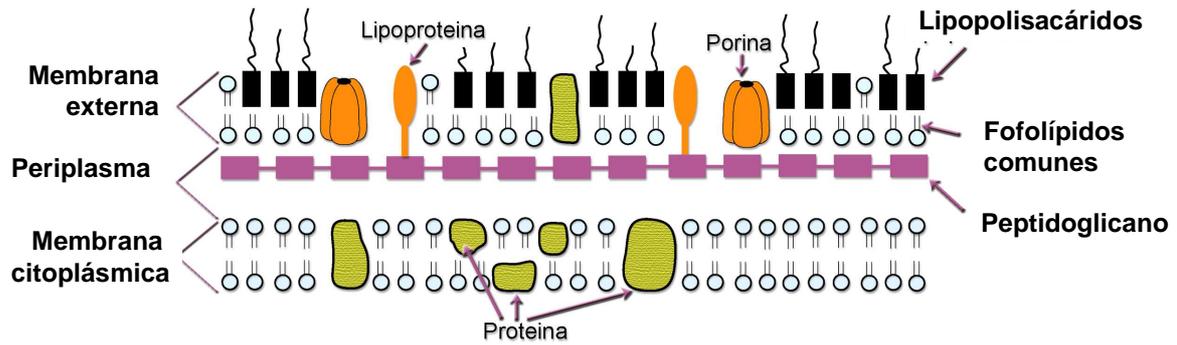
1.6.figura: Diferencias entre la pared de las Gram positivas y las Gram negativas.

Las paredes Gram positivas, aparte del peptidoglicano, poseen **ácido teicóico** y **lipoteicóico**, polímeros de alcoholes como el glicerol o el ribitol (figura 1.7). Estos ácidos se anclan unas veces en el peptidoglicano y otras en la membrana citoplasmática y constituyen antígenos superficiales interesantes en las especies patógenas de Gram positivas. Las bacterias ácido-alcohol resistentes, como por ejemplo las micobacterias, son en realidad Gram positivas, pero no se tiñene bien en la tinción de Gram debido al elevado contenido lipídico de su pared.



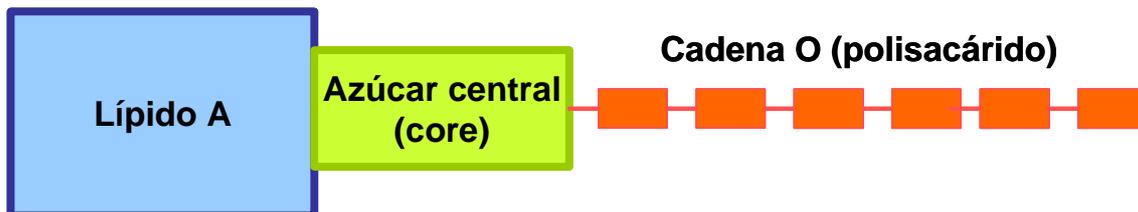
1.7. figura: Estructura de la pared de las bacterias Gram positivas.

La pared de las Gram negativas tiene una membrana por encima de la capa de peptidoglicano (figura 1.8), y por eso, cuando se observan al microscopio electrónico, se ve una estructura trilaminar (membrana, capa de peptidoglicano y **membrana externa**).



1.8.figura: Estructura de la pared de la bacteria Gram negativas.

Los lípidos de la membrana externa orientados hacia dentro son fosfolípidos típicos, pero las moléculas que forman la capa más externa de esta membrana son **lipopolisacáridos (LPS)** (figura 9). La parte lipídica de la molécula de LPS, **el lípido A**, es tóxica cuando se inyecta en animales, y constituye un importante factor de virulencia en las especies patógenas Gram negativas porque es la llamada endotoxina bacteriana. Hacia fuera de la molécula de LPS se sitúan largas cadenas de azúcares denominadas antígeno O de composición y longitud muy variable, lo que permite diferenciar serotipos dentro de una misma especie Gram negativa. Las cadenas O están unidas al lípido A a través del oligosacárido central o core que contiene un ácido característico (el ácido cetodexosioctonato o KDO).



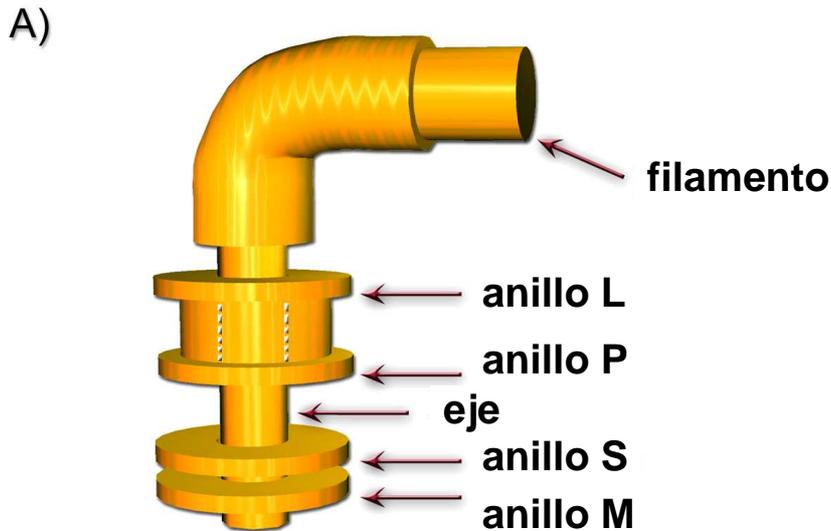
1.9. figura: Estructura de la molécula de LPS: el lípido A y la cadena O se unen a través de un oligosacárido central (core) formado por 2-ceto-3 deoxioctónico (KDO), heptosa, etanolamina, N-acetilglucosamina, glucosa y galactosa.

Algunas proteínas de la membrana externa, las **porinas**, la atraviesan por completo formando poros que permiten el paso de las sustancias hidrofílicas. Otras proteínas que atraviesan la membrana externa sirven para anclarla al peptidoglucano (lipoproteínas de Braun). Entre la membrana externa y la citoplásmica hay un espacio, el **periplasma** en el que se encuentra la fina capa de peptidoglucano y varios enzimas periplásmicos como la betalactamasas.

Por lo tanto con respecto a las Gram positivas, las bacterias Gram negativas poseen una barrera de permeabilidad selectiva adicional (la membrana externa) y son por eso **mas resistentes** frente a algunas sustancias desinfectantes y líticas del entorno. Aprovechando esta característica, se han diseñado medios de cultivo selectivos que permiten aislar y cultivar las especies Gram negativas inhibiendo el crecimiento de las Gram positivas. Cuando se emplean antibióticos betalactámicos para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas se necesitan dosis más altas para que atraviesen en cantidad suficiente la membrana externa y alcancen la capa de peptidoglucano. Algunas betalactamasas presentes en el periplasma inactivan además parte de las moléculas de antibiótico antes de que alcancen su objetivo.

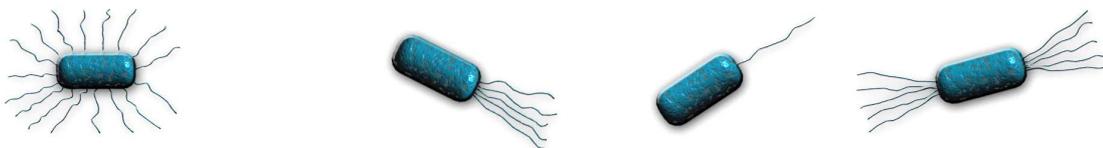
Flagelos

Los flagelos procariotas son apéndices celulares proteicos que sirven a la bacteria para **nadar** en entornos líquidos. El diámetro de un flagelo bacteriano está entre 0,012 y 0,03 micras y su longitud es de 3 a 12 micras. Se divide en tres partes (figura 10). El cuerpo basal está anclado a la membrana citoplasmática y es el que genera el movimiento activo del flagelo (gastando energía); el gancho atraviesa todas las cubiertas de la célula dejando libre al filamento (en los endoflagelos de las espiroquetas el filamento queda atrapado entre la membrana citoplasmática y la membrana externa).



1.10. figura: Estructura del flagelo procariota.

El número y disposición de los flagelos son datos útiles para la identificación de las especies bacterianas (figura 1. 11).



1.11. figura: Tipos de distribución flagelar en las bacterias.

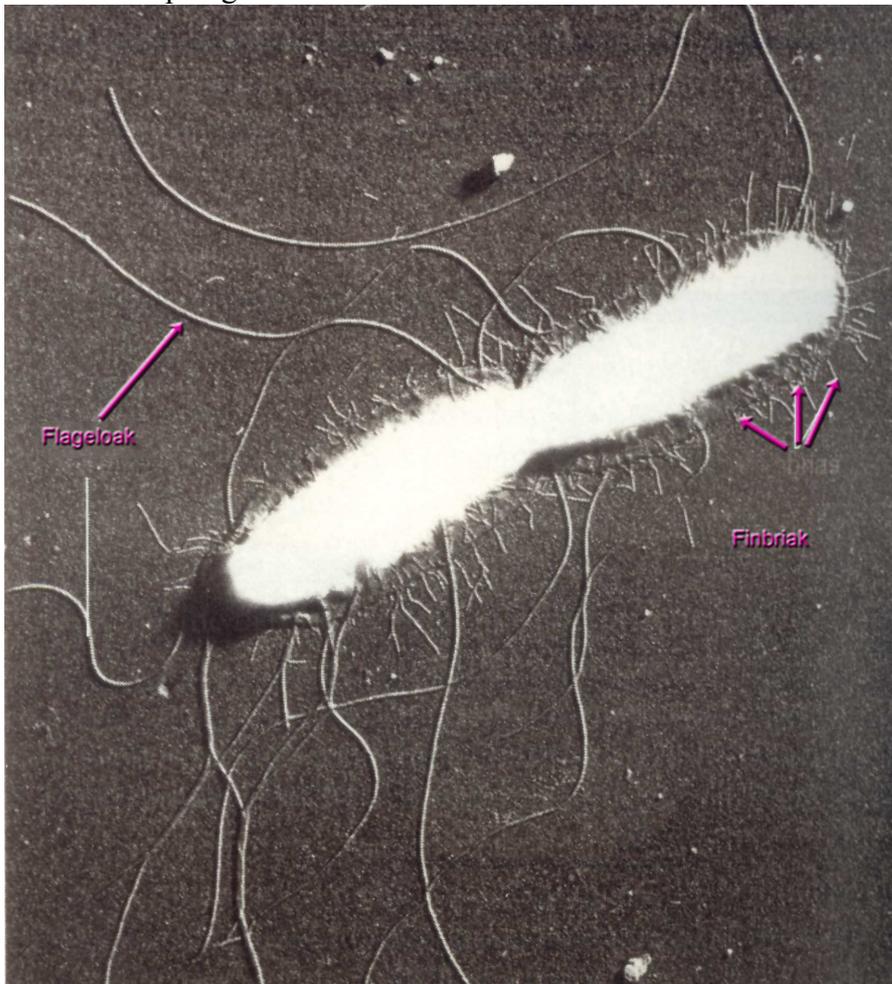
Las proteínas flagelares (flagelinas) son inmunogénicas (**antígeno H**). Las distintas variantes inmunológicas del antígeno H sirven para diferenciar grupos de cepas dentro de una especie patógena.

La mayoría de las bacterias Gram positivas están adaptadas a la vida sedentaria en un ecosistema sólido por lo que carecen de flagelos. Para muchas especies de bacterias Gram negativas sin embargo los flagelos proporcionan la movilidad que necesaria para alcanzar el alimento y colonizar nuevos ecosistemas. El movimiento de las bacterias tiene siempre una dirección y objetivo concreto. Poseen sistemas sensores para calcular la cantidad de oxígeno, nutrientes o sustancias tóxicas que hay en su entorno, y con

ayuda de los flagelos se mueven para huir de ciertos entornos o para acercarse a otros. Cuando una bacteria patógena infecta al huésped humano el movimiento activo que le proporciona tener flagelos puede ser una ventaja para ella (factor de virulencia); *Helicobacter pylori*, por ejemplo, nada rápidamente para alcanzar la mucosa gástrica y huir del pH ácido del estómago.

Finbrias

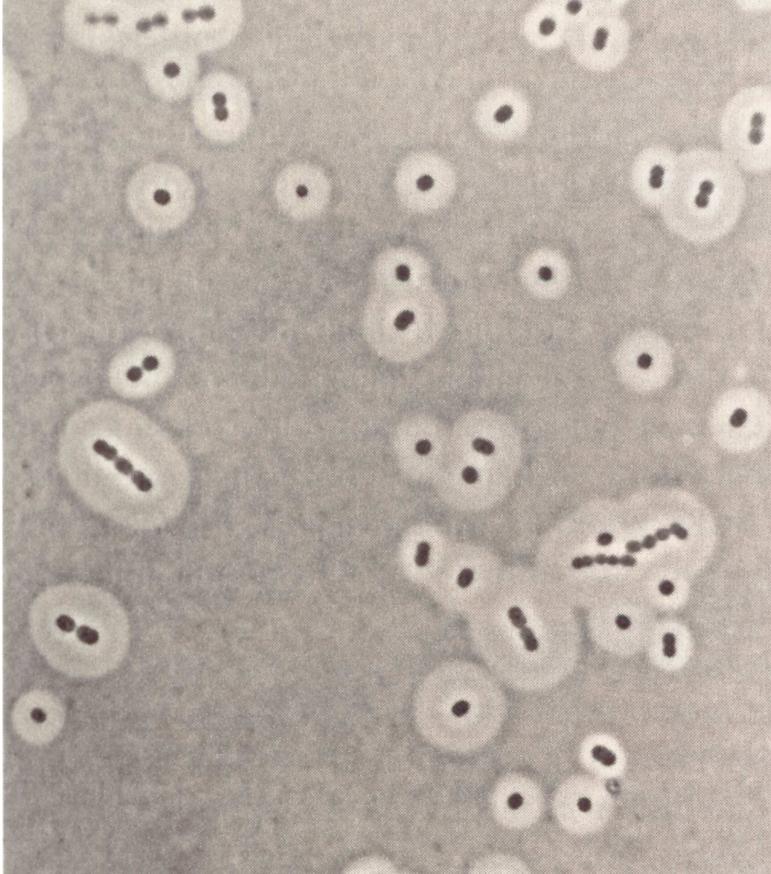
La mayoría de las bacterias Gram negativas y algunas Gram positivas poseen apéndices protéicos más finos que los flagelos denominados finbrias o pili (figura 1.12). Un tipo especial de pili, los pili sexuales, son escasos (de 1 a 4 por célula) y muy largos y sirven para transferir plásmidos (y en general información genética) desde una bacteria donadora a otra receptora. En especies como *Pseudomonas* las finbrias son apéndices de movimiento porque sirven para arrastrarse por superficies húmedas, pero la mayoría de las bacterias patógenas los **pili comunes** son **adhesinas** que se unen a receptores específicos en las células del huésped a infectar. El número de finbrias comunes varía según las especies entre 10 y 200, son más cortas que los pili sexuales y pueden estar situados solo en los extremos o distribuidos por toda la superficie de la bacteria. En todo caso las finbrias o pili son estructuras muy relacionadas con la virulencia en las especies de bacterias patógenas.



1.12.figura: Pili comunes (cortos) y pili sexuales, más largos y flexibles que los comunes.

Cápsulas

Por encima de la pared de algunas bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas puede existir una capa gruesa de polisacárido denominada **cápsula**. (figura 1.13).



1.13. figura: Cápsulas de *Streptococcus pneumoniae*.

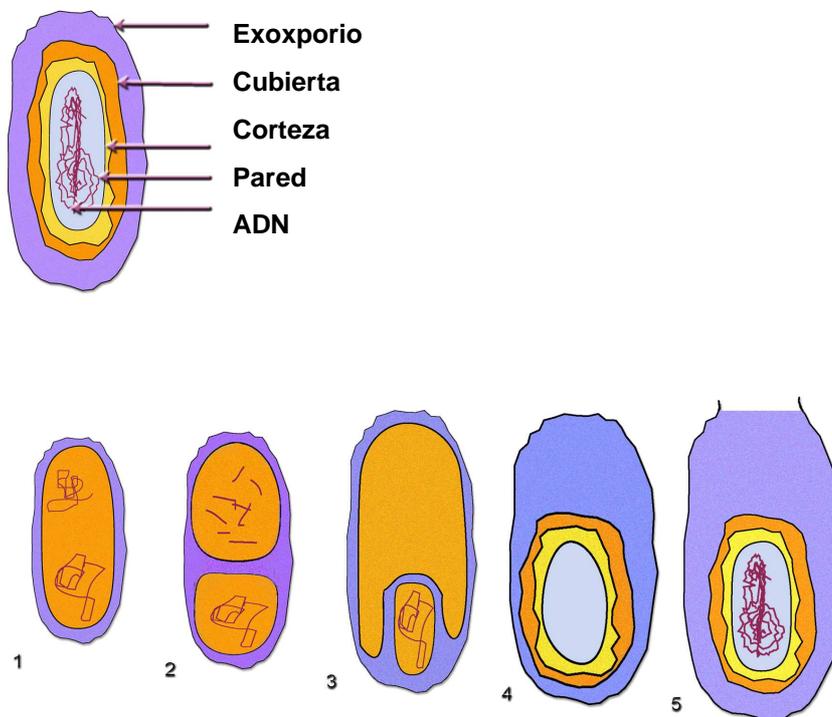
Algunas especies como *Pseudomonas aeruginosa* o *Streptococcus mutans*, en lugar de sintetizar cápsulas individuales, excretan una capa amorfa de polisacárido mucoso denominada “slime” que incluye a todas las bacterias de una población. Como las cápsulas no son estructuras indispensables para la supervivencia de las bacterias, al cultivar una especie capsulada en medios artificiales de laboratorio aménudo dejan de sintetizarse.

En los ecosistemas naturales algunas especies emplean la cápsula como reserva externa de nutrientes. Muchas especies de bacterias las emplean para conservar la humedad. Los “slime” o películas mucosas son útiles para adherirse a las superficies lisas, y, una vez adheridas las bacterias se reproducen dentro de la película formando microcolonias. Así se forman las biopelículas, habitats ricos en nutrientes que dan protección a diferentes especies de bacterias. La placa bacteriana de nuestros dientes es uno de los mejores ejemplos de biopelícula. La bacteria *Streptococcus mutans*, a partir de azúcares de nuestra dieta, forma una película de glucano que se adhiere al esmalte. A continuación, otras bacterias orales se agregan a las microcolonias de *Streptococcus mutans* hasta completar la placa dental. Tanto las películas mucosas como las cápsulas individuales son importantes factores de virulencia. Pueden servir de adhesinas uniéndose a determinados tejidos en la puerta de entrada de la infección y sobre todo ayudan a las bacterias patógenas a invadir los tejidos del huésped porque **impiden la fagocitosis**. Está demostrado por ejemplo que *Streptococcus pneumoniae* no es capaz de provocar neumonía cuando ha perdido la capacidad de sintetizar la cápsula. La mayoría de los

polisacáridos capsulares son inmunógenos y se conocen como **antígeno K**. Las cápsulas polisacáridas de *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* y *Streptococcus pneumoniae* son los antígenos empleados en las actuales vacunas contra las infecciones invasivas graves (meningitis y neumonías) provocadas por estas bacterias.

Endospora

Las endosporas son **formas latentes** de las bacterias capaces de sobrevivir en entornos hostiles durante mucho tiempo. Estas células criptobióticas carecen de metabolismo activo y no se reproducen, pero guardan bajo la protección de varias capas la información genética de la bacteria y su maquinaria de biosíntesis (los ribosomas). Al parecer, una concentración críticamente baja de algún elemento nutritivo esencial para el desarrollo vegetativo detiene el proceso de reproducción habitual o fisión binaria y lo sustituye por el de **endoesporulación** (figura 1.14). La membrana citoplasmática de una de las dos células hermanas recién divididas rodea por completo a la otra célula que se convertirá en endospora. Entre las membranas se van acumulando materiales para formar varias capas protectoras: la pared de la spora, el cortex, la envuelta y el exosporium. Al mismo tiempo el citoplasma de la futura endospora pierde agua, se condensa y paraliza el metabolismo vegetativo. Cuando el proceso se completa la célula vegetativa madre se rompe y libera una única endospora. Las endosporas pueden sobrevivir muchos años en la tierra como formas latentes pero viables porque son muy resistentes a la radiaciones solares, a la falta de agua y al calor (tras hervir una hora en agua permanecen viables). Cuando la humedad y la cantidad de nutrientes del entorno se vuelven adecuadas las endosporas se transforman en bacterias vegetativas. En todo caso una bacteria vegetativa forma una única spora, por tanto esporular no es para las bacterias una forma de reproducción sino un mecanismo de resistencia.



1.14. figura: Proceso de endoesporulación (abajo) y estructura de una endospora (arriba).

Solo algunas especies son capaces de producir endosporas y estas pueden ser centrales o distales e incluso deformantes. Por eso la presencia y situación de las endosporas es un dato muy útil para la identificación de bacterias. (figura 1.15).



1.15. figura: Las endosporas bacterianas, dependiendo de la especie, pueden formarse en el centro o en un extremo de la célula vegetativa.

Entre las patógenas humanas solo las especies de los géneros *Bacillus* y *Clostridium* son capaces de formar endosporas.