

Bacteriología general y humana

Judith C. Bernstein
Nora B. Molina

1° edición

BACTERIOLOGÍA GENERAL Y HUMANA

Bernstein, Judith Celina

Bacteriología general y humana / Judith Celina Bernstein ; Nora Beatriz Molina. -
1a ed. - La Plata : Judith Celina Bernstein, 2025.

76 p. ; 30 x 21 cm.

ISBN 978-631-00-7810-6

1. Bacteriología. 2. Microbiología. I. Molina, Nora Beatriz II. Título
CDD 616.07581

Fecha de catalogación: 19 de marzo de 2025

Fecha de la impresión: abril de 2025

Editado e impreso en la Facultad de Ciencias Médicas. Calle 60 y 120 S/N, La Plata,
Buenos Aires, Argentina.

ISBN 978-631-00-7810-6



BACTERIOLOGÍA GENERAL Y HUMANA

AUTORES

Judith Celina Bernstein

Doctora en Medicina, Universidad Nacional de La Plata.

Especialista consultor en Infectología

Especialista en docencia universitaria

Profesora Titular. Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata.

Jefa del Departamento de Articulación de Ciencias Básicas y Clínicas, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata.

Investigadora y miembro del Consejo Directivo del Centro Universitario de Estudios Microbiológicos y Parasitológicos (CUDEMyP) - Centro asociado a la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC)-UNLP

Ex Jefa de la Unidad de Infectología, Hospital Zonal General de Agudos "Mi Pueblo", Florencio Varela, provincia de Buenos Aires.

Nora Beatriz Molina

Doctora en Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP)

Magister en Ciencias del Laboratorio Clínico, UNLP

Bioquímica Especialista en Microbiología Clínica

Profesora Asociada. Cátedra de Microbiología y Parasitología. Facultad de Ciencias Médicas, UNLP

Profesora Adjunta, Coordinadora de Microbiología de las Enfermedades Infecciosas. Carrera Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP

Investigadora y miembro del Consejo Directivo del Centro Universitario de Estudios Microbiológicos y Parasitológicos (CUDEMyP) - Centro asociado a la Comisión de Investigaciones Científicas (CIC) - UNLP

Member of the Latin American Coalition for *Escherichia coli* Research (LACER)

Las autoras dedican este libro a todos los investigadores y docentes de las universidades públicas nacionales de Argentina.

CONTENIDOS

Capítulo 1: Generalidades

- ✓ Introducción
- ✓ Morfología
- ✓ Estructura
- ✓ Taxonomía bacteriana

Capítulo 2: Biología bacteriana

- ✓ Fisiología
- ✓ Crecimiento
- ✓ Reproducción bacteriana
- ✓ Esporulación

Capítulo 3: Genética bacteriana

- ✓ Genoma bacteriano
- ✓ Cromosoma bacteriano
- ✓ Plásmidos
- ✓ Bacteriófagos
- ✓ Elementos móviles
- ✓ Recombinación genética
- ✓ Mecanismos de transferencia horizontal de genes
- ✓ Expresión de la información genética de las bacterias: regulación

Capítulo 4: Antimicrobianos

- ✓ Clasificación de los antimicrobianos según su mecanismo de acción
- ✓ Características generales de los antibióticos de uso frecuente
- ✓ Mecanismos de resistencia antimicrobiana

Capítulo 5: Patogenia bacteriana

- ✓ Concepto de infección y enfermedad
- ✓ Mecanismos de patogenia bacteriana
- ✓ Respuesta inmunitaria contra las bacterias

CAPÍTULO 1

GENERALIDADES

INTRODUCCIÓN

Las bacterias son organismos muy simples y microscópicos que habitan en el medio ambiente, por lo tanto, la interacción hombre-bacteria es permanente. Dicha relación puede ser beneficiosa, indiferente o perjudicial.

Se denomina Bacteriología a la ciencia que se ocupa del estudio de las bacterias. Bacteriología médica es la ciencia que se encarga del estudio de las bacterias que le son perjudiciales al hombre. Sin embargo, debemos hacer la salvedad que no todas las bacterias aisladas del cuerpo humano son nocivas. A las bacterias que producen enfermedades se las denomina patógenas, pero grandes áreas de nuestro organismo, como la piel, el tracto respiratorio superior, la boca, el tracto intestinal inferior, están habitados por bacterias adquiridas prácticamente desde el momento de nacer. A esa flora se la designa como microbiota normal o nativa del hombre.

El campo de aplicación de esta ciencia abarca el estudio de la biología, la fisiología y la genética de estos microorganismos, pero también investiga la relación de las bacterias entre sí, de las bacterias con el medio ambiente y de las bacterias con el hombre.

El término **infección** se refiere a la colonización y perpetuación del patógeno en el huésped, mientras que **enfermedad (infecciosa)** involucra la afección del estado general del hospedador. Obviamente, no todas las bacterias están en las mismas condiciones para causar infección y enfermedad. Algunas bacterias solamente pueden infectar aquellos individuos cuyo sistema inmunológico está comprometido de alguna manera. De hecho, el proceso infeccioso es un fenómeno multifactorial que depende tanto de la condición inmunológica del hospedero como de los factores de virulencia del microorganismo infectante. Tanto las bacterias que componen la microbiota normal como las patógenas, tienen la capacidad de colonizar y sobrevivir transitoriamente en las superficies expuestas del ser humano. Sin embargo, la toxigenicidad y la invasividad son dos propiedades comunes en bacterias patógenas, ausentes en bacterias comensales.

Por todo esto, al médico le es indispensable conocer de qué manera las bacterias causan enfermedad, por ejemplo, como *Bordetella pertussis* se adhiere al epitelio bronquial o cómo *Shigella* spp. es capaz de invadir la mucosa intestinal. Ya que esta forma es factible comprender los signos y síntomas que se producen frente a la enfermedad causada por estas bacterias.

Asimismo, es prioritario saber cuál es la bacteria causante de una determinada patología, es decir, debe saber orientarse hacia un correcto diagnóstico etiológico, no olvidando de hacer una distinción entre las áreas que normalmente presentan microbiota nativa de aquellos sitios que son estériles.

El médico debe saber si debe valerse solamente de los datos clínicos para efectuar un adecuado diagnóstico, como en los casos de infecciones por toxinas (tétanos, botulismo) o si puede recurrir al laboratorio de bacteriología y en qué oportunidad. Se debe tener presente que el hallazgo de un determinado microorganismo no siempre

indica un presunto papel causal; encontrar neumococos o meningococos (*Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*), que son considerados patógenos, en las vías respiratorias de un hombre, no siempre indica enfermedad, ya que en ocasiones el individuo presenta estado de portador.

Una vez que el médico conoce la causa de la enfermedad, indicará el tratamiento específico en base a las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, cuya responsabilidad compartirá con el laboratorio de bacteriología; la velocidad, unida a la exactitud, reproducibilidad y buenos controles, es esencial para suministrar un tratamiento antimicrobiano (ATM) racional.

Además de indicar el tratamiento a un paciente, el médico deberá adoptar las medidas de control pertinentes para evitar la propagación de los microorganismos a la comunidad. Por ese motivo, no podrá dejar de conocer las vías de transmisión, los reservorios, las fuentes de infección, la población susceptible, la variabilidad estacional de las enfermedades bacterianas, como así también la resistencia del hombre ante ese tipo de noxas: inmunología de las enfermedades bacterianas y existencia de medidas preventivas validadas.

MORFOLOGÍA BACTERIANA

Las bacterias son microorganismos procariotas; para comprender la estructura de las bacterias se puede comparar su organización celular con la de las formas biológicas superiores (animales, vegetales, protozoos, hongos).

Las bacterias se caracterizan por:

- Carecer de organelas
- Poseer ribosomas
- Carecer de núcleo propiamente dicho, sin membrana nuclear y con su DNA formado, generalmente, por un solo cromosoma circular
- Poseer DNA adicional en forma de plásmido pequeño
- La realización simultánea de la transcripción y la traducción de la información genética.

Forma y tamaño de las bacterias

Las bacterias pueden presentar diversas formas básicas (Figuras 1 y 1a):

esféricas u ovoides	—————→	cocos
bastoncillos o cilíndricos	—————→	bacilos
helicoidales	—————→	espirilos

Cuando una célula bacteriana se divide muchas veces para formar un conjunto de células (colonias), éstas últimas pueden agruparse en cuadros espaciales característicos.

Los **cocos** pueden encontrarse en forma aislada o puede suceder que luego de la división celular no se separen totalmente originando distintas agrupaciones. Según el plano de división se agrupan en:

pares	→	diplococos
cadena	→	estreptococos
de a 4 células	→	tétradas
de a 8 células	→	sarcinas
racimos	→	estafilococos

Los **bacilos** pueden ser muy cortos, denominándose cocobacilos o pueden tener una longitud de 2 a 10 veces su diámetro. Sus extremos pueden ser redondeados, aguzados o cuadrados. Los bacilos con forma de coma se denominan vibriones. La agrupación de los bacilos puede ser:

aislados	→	monobacilos
de a pares	→	diplobacilos
cadena	→	estreptobacilos

En general, la longitud de las bacterias oscila entre 1 a 5 μm . Dado que el ojo humano no permite visualizar objetos menores de 0,1 a 0,2 mm, **para la observación de bacterias se utiliza el microscopio óptico**, siendo el más utilizado el de campo claro. En este microscopio las bacterias aparecen como objetos oscuros en un campo fuertemente iluminado.

Sin embargo, existen bacterias que están en el límite del poder resolutivo, como es el caso del agente etiológico de la sífilis, *Treponema pallidum*. Para poder visualizarlo, se debe utilizar el microscopio de campo oscuro, en el cual la luz se refleja a través de la muestra en el portaobjetos de vidrio para llegar a la lente del objetivo y así se crea un fondo oscuro, en el que las células y los organismos no teñidos se ven como objetos brillantes.

Debido a que el índice de refracción de las bacterias es similar a la mayoría de los medios de suspensión acuosos, las células no se ven con facilidad a menos que por ejemplo estén teñidas.

En bacteriología se usa el objetivo de 100X. Utilizando este objetivo con aceite de inmersión, se incrementa el poder de resolución del microscopio llegando a aumentos de 1000 a 2000 veces el tamaño de la bacteria. Cabe recordar que se entiende por poder de resolución la distancia mínima que debe haber entre dos puntos para visualizarlos como tales.

Cuando observamos bacterias al microscopio óptico solo podemos reconocer forma, tamaño y agrupación. Sin embargo, mediante microscopios de mayor resolución y con tinciones es posible además reconocer algunas estructuras como: cápsula, pared, flagelos y esporas.

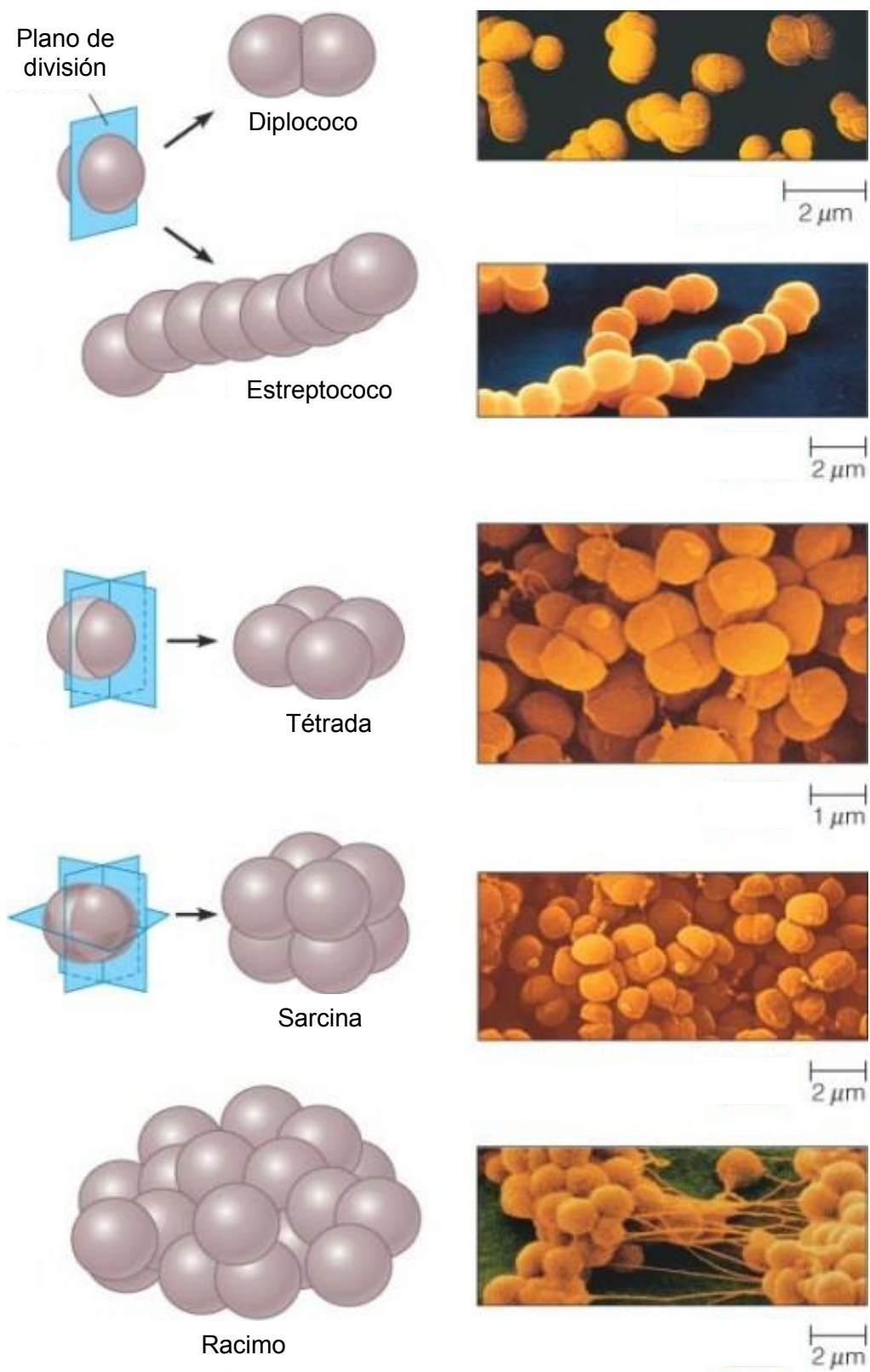


Figura 1. Forma y agrupaciones bacterianas

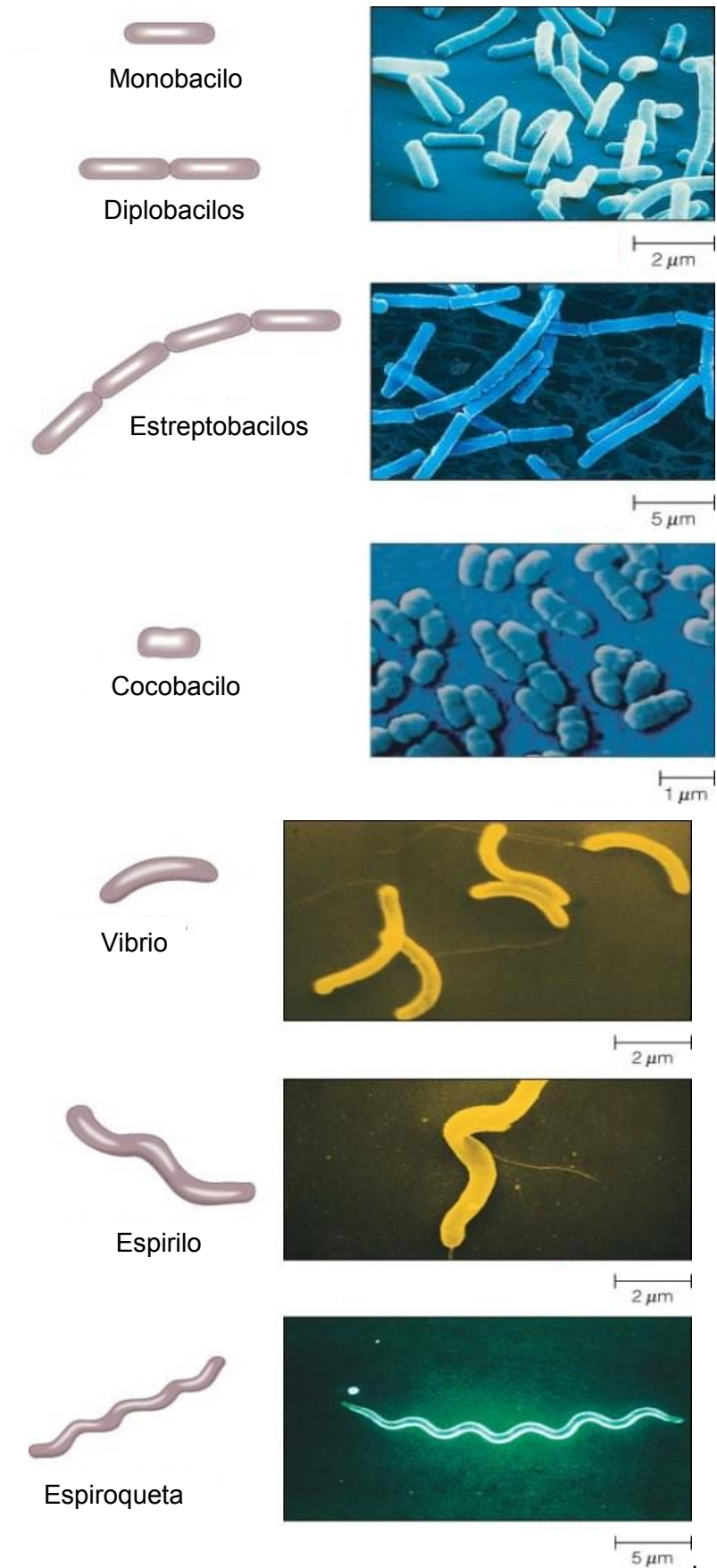


Figura 1a. Formas y agrupaciones bacterianas

Métodos empleados en el estudio morfológico

- Examen en fresco

Se puede realizar el examen microscópico directo de las muestras sin tinción, donde las mismas se extienden sobre la superficie de un portaobjeto para su observación. Estas técnicas permiten observar movilidad, morfología y agrupamiento de las células bacterianas.

- Examen directo con coloraciones permanentes

Consiste en la observación de las bacterias presentes en una muestra mediante preparaciones teñidas con distintos colorantes. Existen una gran variedad de técnicas de tinción siendo de gran utilidad las coloraciones diferenciales. Las dos más utilizadas son la tinción de Gram y la de Ziehl-Neelsen. Estas técnicas serán explicadas más adelante.

Con la **tinción de Gram**, no sólo se hacen visibles la forma, agrupación y tamaño sino también pueden diferenciarse en gram positivas y gram negativas de acuerdo con la estructura de la pared.

La **coloración de Ziehl-Neelsen** no sólo permite la observación de forma, tamaño y agrupación, sino que pone en evidencia aquellos microorganismos que resisten el tratamiento con ácido-alcohol, como por ejemplo, la bacteria causante de tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*)

ESTRUCTURA BACTERIANA

Las bacterias son más simples que las células eucariotas, ya que no poseen organelas como membrana nuclear o mitocondrias y su estructura superficial es más compleja. Las bacterias poseen una serie de envolturas externas que rodean el citoplasma, donde se halla el genoma, los ribosomas y las inclusiones. Las bacterias, además poseen apéndices o prolongaciones que se extienden por fuera de la célula. Algunas de las estructuras que forman parte de la célula bacteriana, tales como membrana plasmática, ribosomas y material genético, son imprescindibles para su viabilidad. La pérdida de otras estructuras, como la cápsula, flagelos, pilis y/o plásmidos no les impide a las bacterias dividirse.

Envolturas celulares

Si analizamos estas envolturas desde el exterior hacia el interior podemos encontrar la cápsula, la membrana externa en una bacteria gram negativa, la pared y la membrana plasmática.

▪ Cápsula y capa mucosa (glicocáliz)

Numerosas bacterias, tanto gram negativas como gram positivas, fabrican y exportan polímeros de alto peso molecular que se adhieren al exterior celular formando una capa por fuera de la pared. Cuando esta capa está bien organizada y no es eliminada, se denomina cápsula. Cuando se deforma con facilidad, y es más fácil de observar se la designa glicocáliz.

▪ Cápsula

La mayoría de las bacterias aparecen rodeadas de una capa de material gelatinoso denominado cápsula. De ella depende la virulencia y la antigenicidad. La cápsula protege a la célula bacteriana de la fagocitosis. Su volumen varía ampliamente, pudiendo ser muy gruesa, como en *Streptococcus pneumoniae*, o muy delgada que solo puede ser demostrada utilizando métodos químicos e inmunológicos, como en *Neisseria gonorrhoeae*.

Las cápsulas tienen una composición química definida que es característica del tipo de célula que la produce. En casi todas las células bacterianas la cápsula está compuesta por polisacáridos. Otras bacterias pueden poseer una cápsula compuesta por polipéptidos (ej.: *Bacillus* spp). Estas sustancias químicas tienen un importante valor antigénico, lo que permite hacer una rápida identificación serológica.

La cápsula puede ser observada con tinción negativa. Mediante esta tinción la cápsula se observa como una capa compacta adherida a la pared. La visualización de esta depende fundamentalmente de su espesor; si es gruesa se observa fácilmente, si se trata de una estructura delgada debe recurrirse a métodos químicos e inmunológicos.

▪ Glicocálix

Diversas bacterias poseen macromoléculas superficiales, las cuales se unen a sitios receptores ubicados sobre la superficie de ciertas células animales, provocando así una adherencia fuerte y específica. Algunas de estas moléculas son de naturaleza polisacárida y forman una intensa red de fibrillas llamada glicocálix, que participa no sólo en la unión a superficies de células huésped, sino también a otras células bacterianas. Ej: *Streptococcus mutans*, el cual se adhiere a superficies dentales participando en la producción de caries.

▪ Membrana externa

Sólo está presente en bacterias gram negativas. Las bacterias gram negativas presentan por fuera de la membrana plasmática, dos capas de envolturas dispuestas de manera laxa. Estas incluyen la membrana externa y una zona intermedia o periplasma, donde se halla la pared (peptidoglicano)

La membrana externa es una doble capa formada por **lipopolisacáridos** y **fosfolípidos**.

La porción **lipopolisacárida** está compuesta por tres segmentos unidos covalentemente:

- a) Una región polisacárido variable que sería el polisacárido O, llamado también antígeno somático O.
- b) La región del polisacárido del centro o núcleo polisacárido.
- c) Un lípido complejo, el lípido A; este lípido es el componente tóxico del lipopolisacárido y es lo que le confiere la característica de endotoxina.

La membrana externa presenta también proteínas, algunas de las cuales reciben el nombre de **porinas**, siendo las que favorecen la entrada y salida de sustancias hidrofílicas de bajo peso molecular. Otras proteínas sirven como sitios receptores de fagos y otras son las responsables del transporte de pequeñas moléculas específicas (**sideróforos**) En la figura 2 se puede observar el esquema de la membrana externa de una bacteria gram negativa.

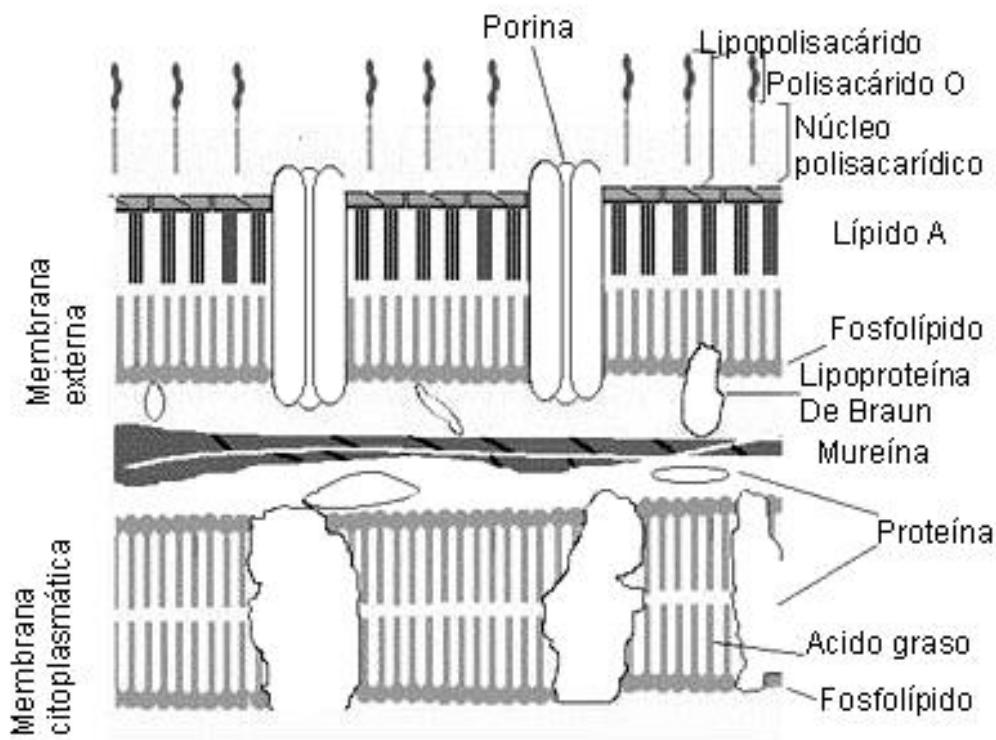


Figura 2. Esquema de la membrana externa en bacteria gram negativa

▪ Periplasma

Se encuentra entre la membrana plasmática y la membrana externa de las bacterias Gram negativas. Se ha demostrado la presencia de diversas enzimas y lipoproteínas de unión.

▪ Pared celular

La pared se encuentra presente en todas las bacterias, con excepción de *Mycoplasma* spp. Artificialmente algunas bacterias pueden perder la pared (ver más adelante). La principal función de la pared es conferir rigidez protectora a la célula bacteriana, le brinda características antigénicas y la protege frente a fuerzas osmóticas que el microorganismo debe soportar (Tabla 1).

La pared puede ponerse de manifiesto mediante la tinción de Gram. De acuerdo con su afinidad tintorial las bacterias pueden dividirse en dos grandes grupos: gram positivas y gram negativas. Observando cortes al microscopio electrónico en las bacterias gram positivas, la pared surge como una capa gruesa y homogénea, en tanto que en las gram negativas suele ser delgada y estratificada. La pared celular se encuentra separada de la membrana citoplasmática por el espacio periplasmático.

Todas las bacterias poseen un componente común que constituye el esqueleto de la pared: es el péptidoglicano (mucopéptido o mureína). Sus componentes son 2 aminoazúcares (N-acetil glucosamina y ácido N-acetil murámico).

Tabla 1. Funciones de la pared bacteriana

Funciones de la pared bacteriana
Protege a la bacteria.
Participa en la división bacteriana.
Actúa como filtro, debido a la presencia de poros.
Es determinante del poder patógeno en bacterias gram negativas.
Es sustrato sobre el que actúan algunos antibióticos.

Pared celular de la bacteria gram negativa

La pared está compuesta por una delgada capa de péptidoglicano que se halla ubicada en el espacio periplásmico (Figura 3).

Pared celular de la bacteria gram positiva

En las bacterias gram positivas el péptidoglicano forma una capa gruesa por fuera de la membrana celular; además, contiene otras macromoléculas asociadas al mismo (polisacáridos y proteínas). Los polisacáridos más conocidos incluyen ácidos teicoicos y proteína M de *Streptococcus* del grupo A, entre otros.

Las bacterias pueden perder la pared de manera artificial. La enzima lisozima, muy abundante en la naturaleza, ataca específicamente al peptidoglicano de la pared celular. Si la pared es eliminada completamente, da lugar a la liberación de un cuerpo esférico denominado **protoplasto**, mientras que si conserva restos de esta se habla de **esferoplasto**. El término protoplasto es usado para las bacterias gram positivas, mientras que esferoplasto lo es para las gram negativas (Figura 3).

Pared celular de micobacterias

Las micobacterias poseen una pared celular compleja y rica en lípidos (Figura 4). Esta pared celular es la responsable de las propiedades características de las micobacterias: su ácido alcohol resistencia, el crecimiento lento, su resistencia a los detergentes y a los antibacterianos comunes y la antigenicidad. En sus paredes contienen moléculas de **ácidos micólicos**, una capa de **peptidoglicano** (cuya estructura es similar a la hallada en las paredes de las bacterias gram negativas) denominado **lipoarabinomano (LAM)**. El peptidoglicano está unido por enlaces fosfodiéster a un polisacárido ramificado llamado **arabinogalactano**, el cual, en los extremos distales, está esterificado con el ácido micólico de alto peso molecular conocido como **factor cordón**. Estos lípidos forman una capa cerosa que vuelven hidrófoba a la bacteria, modificando las propiedades de tinción de estos microorganismos (bacterias acidorresistentes), otorgándole resistencia a la desecación y a otros factores medioambientales.

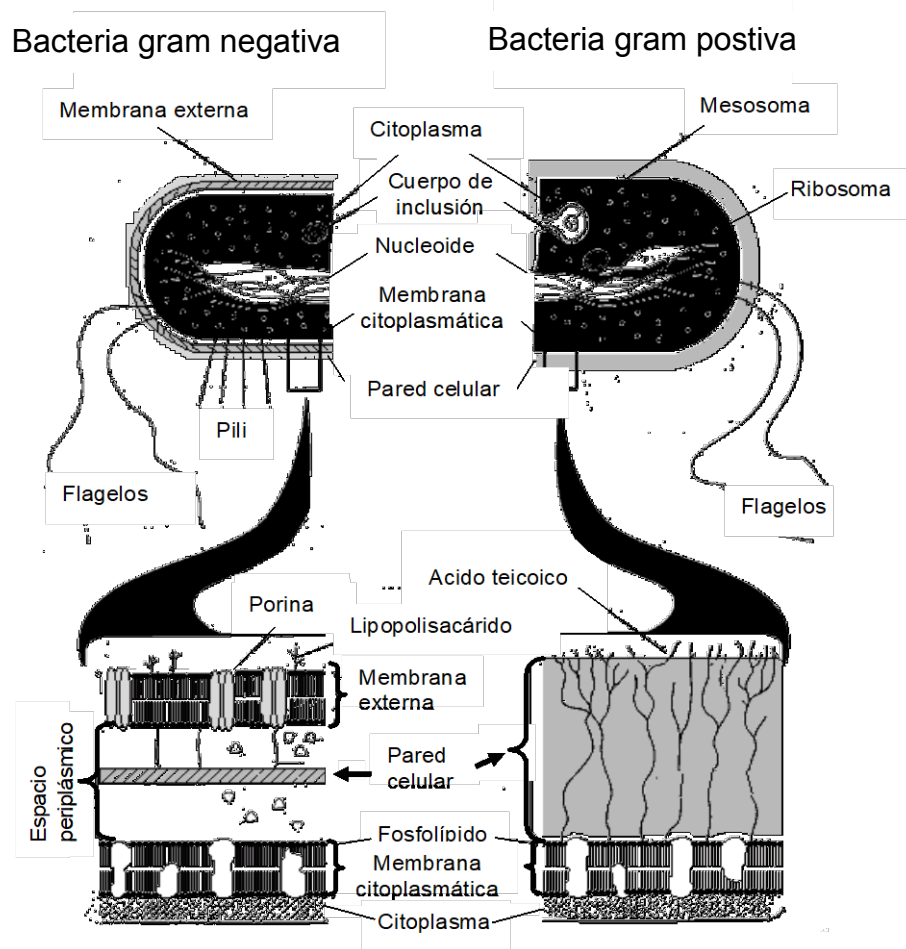


Figura 3. Esquema de la pared de una bacteria gram negativa y una gram positiva.

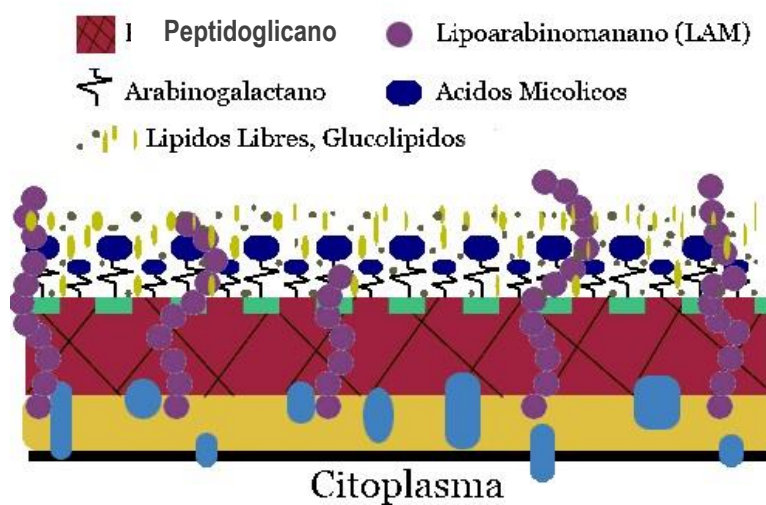


Figura 4. Esquema de la pared de una micobacteria.

▪ Membrana celular

Se encuentra adherida a la parte interna de la pared celular. Es la verdadera barrera entre el exterior y el interior de la célula. Está compuesta por proteínas (50-70%) lípidos (20-25%) y pequeñas cantidades de hidratos de carbono (Figura 5). Los esteroides, por lo general, están ausentes en las bacterias. *Mycoplasma*, que carece de pared, presenta una membrana celular con esteroides.

Funciona como una barrera osmótica que regula la relación con el medio externo que la rodea. Presenta las propiedades de las membranas semipermeables vivas, como la permeabilidad selectiva y el transporte de sustancias a través de ella contra un gradiente de concentración, para iones minerales, azúcares y aminoácidos. Contiene sistemas de transporte de electrones, citocromos, enzimas respiratorias etc.

Existen invaginaciones en la membrana celular o pliegues internos dentro del espacio citoplasmático denominados mesosomas. Se ha sugerido que sirven para aumentar la superficie de la membrana celular o que representan estructuras especializadas. Intervienen en la división celular y en la formación de esporas.

Además de las funciones ya descritas, esta membrana participa en la producción de energía, pues posee en ella enzimas respiratorias que en las células superiores se encuentran en las mitocondrias. Interviene en la eliminación de residuos y en la biosíntesis de la pared celular.

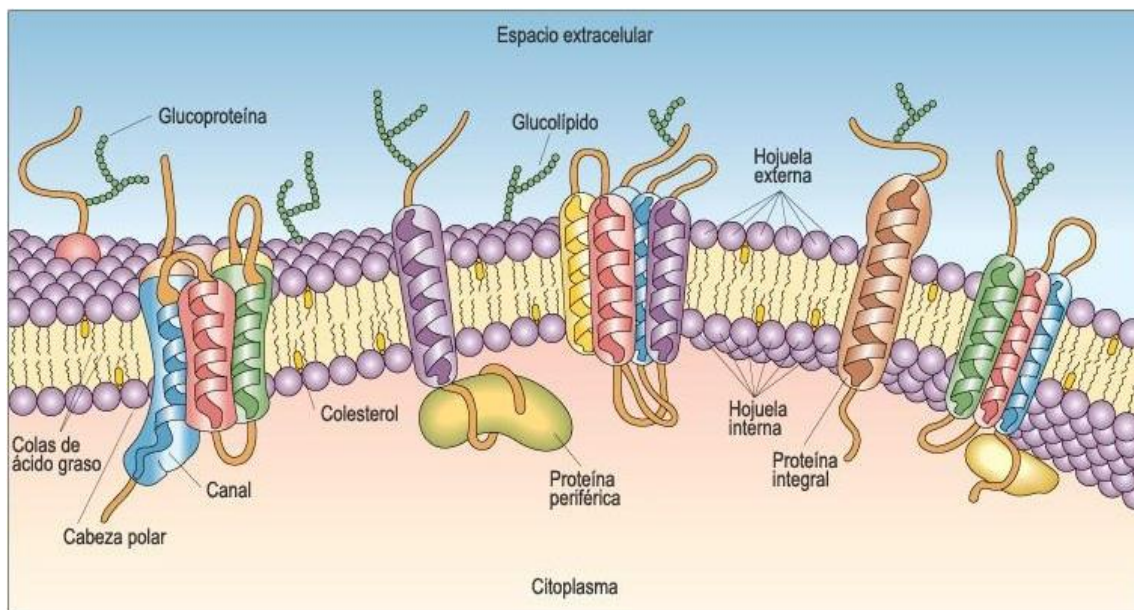


Figura 5. Membrana celular bacteriana.

▪ Citoplasma

Contiene alrededor del 80% del agua presente en las bacterias. Además, se encuentran en él una gran variedad de pequeñas moléculas, iones inorgánicos, ribosomas, gránulos de almacenamiento y enzimas, involucradas en reacciones anabólicas y catabólicas necesarias para el crecimiento celular y la reproducción. Los ribosomas (70S) son los encargados de la síntesis proteica. El número de ribosomas en una célula bacteriana varía con las condiciones de crecimiento.

Los gránulos de almacenamiento son de 3 tipos: glucógeno, lípidos y volutina (o gránulos metacromáticos).

▪ **Material nuclear**

El DNA bacteriano está formado por dos cadenas de polinucleótidos enrollada en forma de hélice. Es circular y covalentemente cerrado. Ningún límite lo separa del resto del citoplasma.

▪ **Plásmidos**

Un pequeño porcentaje de información genética de la célula está presente en forma de moléculas más pequeñas de DNA (plásmidos), que pueden existir en muchas copias y replicar independientemente. Los plásmidos generalmente alojan los genes participantes en la resistencia bacteriana a las drogas quimioterápicas.

▪ **Apéndices bacterianos**

Los apéndices bacterianos comprenden los flagelos, los pili y las fimbrias.

- **Flagelos:** son apéndices largos, delgados, proteicos, helicoidales, de longitud y diámetro uniforme. Son los responsables de la motilidad rápida de las bacterias. Nacen de un cuerpo basal localizado por debajo de la membrana citoplasmática (Figura 6). Según la cantidad y localización de estos se pueden clasificar en:

- monotrico: un solo flagelo en un polo de la célula
- lofotricos: un penacho de varios flagelos polares
- anfitricos: un flagelo en cada polo
- peritricos: con flagelos en toda la superficie celular
- atricos: sin flagelos

La proteína que los constituye se llama flagelina y tiene mucha antigenicidad. Miden de 2 a 20 μm . Son frecuentes en bacilos y vibriones siendo su presencia excepcional en los cocos.

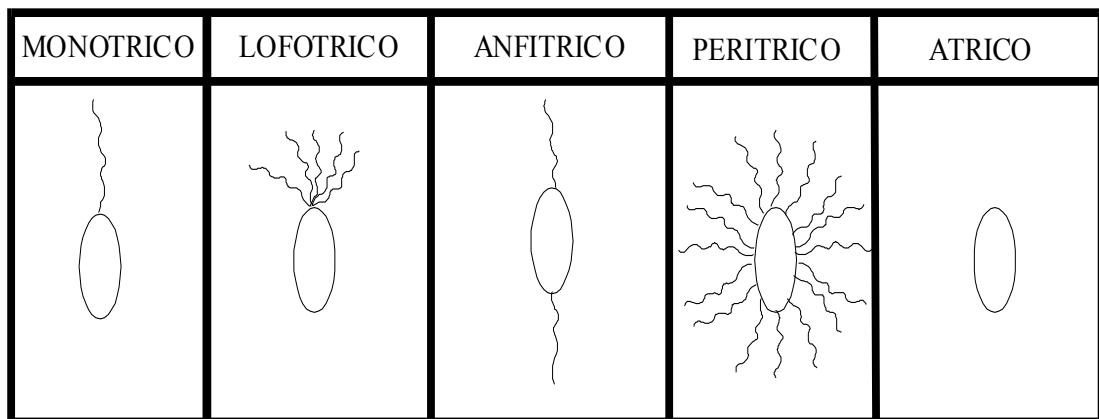


Figura 6. Esquema de bacilos según cantidad y localización de flagelos.

- **Fimbrias y pili**

Son apéndices que se encuentran en la superficie bacteriana y se originan en la membrana celular. Se encuentran en casi todas las bacterias gram negativas, pero algunas gram positivas pueden poseerlos. No son esenciales para la supervivencia de las células bacterianas, pero tienen funciones especializadas. Son más cortos que los flagelos.

Las fimbrias permiten la adherencia bacteriana a la célula huésped, son muy numerosas y tapizan la superficie celular. Los pili sexuales permiten la adherencia entre células bacterianas facilitando la transferencia de material genético, siendo más largos y encontrándose en número de 1 a 2 por célula.

- **Esporas bacterianas**

Es una formación endocelular característica de algunas especies bacterianas. Sólo se forma una espora por célula; pueden ser ovales o esféricas, ubicadas en una determinada región de la célula. La característica más importante es su **capacidad para resistir condiciones del medio ambiente** que matarían rápidamente a la célula vegetativa.

TAXONOMIA BACTERIANA

La clasificación, la nomenclatura y la identificación son tres áreas diferentes, pero interrelacionadas de la taxonomía.

La clasificación es la organización de los organismos en grupos taxonómicos teniendo en cuenta las similitudes y las relaciones existentes entre ellos.

La nomenclatura, es la asignación de nombres a esos grupos taxonómicos, teniendo en cuenta reglas internacionales.

La identificación es el área de mayor aspecto práctico y consiste en determinar a qué grupo taxonómico ya establecido pertenece un nuevo aislamiento.

Categorías taxonómicas

Los diferentes niveles o rangos utilizados en la clasificación de los microorganismos se denominan categorías taxonómicas.

La categoría taxonómica básica es la **especie**, la cual puede ser definida como un conjunto de cepas similares que difieren considerablemente de otros grupos de cepas. Sin embargo, también puede ser definida de manera más precisa a partir, por ejemplo, de los porcentajes de homología de DNA-DNA.

Un grupo de especies que comparten características significativas pueden agruparse en un **género**, y los géneros relacionados conforman una **familia**. Y así se irán agrupando en categorías taxonómicas superiores.

A continuación, ejemplificamos la taxonomía de la bacteria *Klebsiella pneumoniae*.

Phylum: Proteobacteria
Clase: Gammaproteobacteria
Orden: Enterobacteriales
Familia: Enterobacteriaceae
Género: Klebsiella
Especie: Klebsiella pneumoniae

En resumen, cada categoría agrupa unidades taxonómicas de nivel inferior.

NOMENCLATURA BACTERIANA

Los microorganismos pueden ser nombrados utilizando una nomenclatura informal, (ejemplo: neumococo), o bien mediante la nomenclatura científica que se ajusta a reglas internacionales, (ejemplo: *Streptococcus pneumoniae*). **El médico debe conocer, pronunciar y escribir correctamente la nomenclatura científica.**

En la denominación de las especies se utiliza el **sistema binomial**, que es un sistema de clasificación que se utiliza para nombrar a las especies de seres vivos. Como sugiere la palabra «binomial», el nombre científico otorgado a una especie está formado por la combinación de dos nombres en latín: el nombre del género y el epíteto específico. El conjunto de ambos es el nombre científico que permite identificar a cada especie conocida. La primera parte corresponde al género seguido del epíteto específico de especie. El nombre científico se escribe en cursiva. El género siempre inicia con mayúscula y la especie en minúscula.

Ejemplos:

Streptococcus pneumoniae ← género y especie en letra cursiva

Streptococcus sp. ← solo el género en letra cursiva

Importante

La sigla sp. quiere decir “especie de” un determinado género de bacterias, hongos, parásitos, plantas, animales; la sigla spp. es el plural y significa “especies de”.

El nombre del género seguido de sp. o spp. implica que se trata de una especie del/de los género/s que no se ha identificado en particular.

Tanto sp. como spp. no se escriben en letra cursiva.

PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS EMPLEADAS EN TAXONOMÍA

Para llevar a cabo la clasificación de las bacterias los taxónomos bacterianos se vieron forzados a buscar, además de las características estructurales y morfológicas, diferentes tipos de propiedades como las bioquímicas, fisiológicas, ecológicas y genéticas. Dicha clasificación se basa en atributos funcionales; la mayor parte de las bacterias sólo pueden identificarse por lo que hacen y no simplemente por su

apariciencia. El estudio de estas propiedades funcionales conlleva a la realización de experimentos. Sin embargo, las técnicas moleculares son actualmente utilizadas para la caracterización genotípica bacteriana, proporcionando una posible base objetiva para la definición de las especies.

A continuación, incluimos un esquema resumido de las principales características empleadas en taxonomía con un ejemplo para cada grupo.

BACTERIAS

A. Gram negativas

Quimioheterótrofas

Móviles por flagelos o inmóviles

Cocos o cocobacilos	<ul style="list-style-type: none"> aerobios anaerobios 	<i>Neisseria</i> spp. <i>Veillonella</i> spp.
Bacilos rectos	<ul style="list-style-type: none"> aerobios anaerobios facultativos anaerobios estrictos 	<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Escherichia</i> spp. <i>Bacteroides</i> spp.
Bacilos curvos o en espiral	<ul style="list-style-type: none"> aerobios anaerobios facultativos 	<i>Campylobacter</i> spp. <i>Vibrio</i> spp.
En espiral (espiroquetas)	<ul style="list-style-type: none"> aerobios anaerobios 	<i>Leptospira</i> spp. <i>Treponema</i> spp.

B. Gram positivas

Cocos	<ul style="list-style-type: none"> aerobios anaerobios facultativos anaerobios 	<i>Micrococcus</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Peptococcus</i> spp
Bacilos esporulados	<ul style="list-style-type: none"> aerobios anaerobios 	<i>Bacillus</i> spp. <i>Clostridium</i> spp.
Bacilos no esporulados	<ul style="list-style-type: none"> forma regular forma irregular forma filamentosa 	<i>Lactobacillus</i> spp. <i>Corynebacterium</i> spp <i>Mycobacterium</i> spp.

C. Bacterias sin pared celular

Mycoplasma spp.

CAPÍTULO 2

BIOLOGÍA BACTERIANA

FISIOLOGÍA BACTERIANA

La característica más importante de la materia viva es crecer. Para ello la bacteria necesita incorporar distintas sustancias en su interior y con ellas sintetizar macromoléculas características.

Estos requerimientos nutricionales necesarios para el crecimiento bacteriano son:

- a) Elementos energéticos y constitutivos.
- b) Elementos específicos.
- c) Condiciones fisicoquímicas adecuadas.

a) Elementos energéticos y constitutivos

Los más importantes son:

-Agua

-Iones minerales (fosfatos, sulfatos, calcio, sodio y cloro, en mayores cantidades y manganeso, zinc, cobre, cobalto, níquel, boro, en cantidades mínimas). Las sales minerales sirven para mantener el equilibrio iónico, como elementos metabólicos de grupos enzimáticos y pigmentos.

-Carbohidratos: son los elementos energéticos más importantes.

-Proteínas: pueden proceder del medio (proteínas, aminoácidos, sales de amonio, nitratos, nitritos y nitrógeno atmosférico) o indirectamente de las reacciones de desaminación o nitrato reducción.

-Lípidos: pueden ser utilizados como fuente de energía. Según las distintas necesidades nutritivas y energéticas las bacterias se pueden clasificar en diversos tipos tróficos, en base a tres criterios: origen de la fuente de energía, la fuente de carbono utilizada y el aceptor de electrones.

Las bacterias que se hallan en el hombre son:

➤ Según el origen de la fuente de energía:

quimiorganotrofas: debido a que utilizan como fuente de energía reacciones de óxido reducción, siendo el radical dador de electrones un compuesto orgánico.

➤ Según la fuente de carbono:

heterótrofas: debido a que utilizan como fuente de carbono a compuestos orgánicos (siendo estas bacterias incapaces de sintetizar sus propios constituyentes a partir de compuestos inorgánicos).

➤ Según el aceptor final de electrones:

aerobias: emplean el oxígeno molecular como último receptor de electrones;

anaerobias: en lugar de oxígeno utilizan alguna otra molécula;

facultativas: aquellas que pueden utilizar ambas formas.

b) Elementos específicos

Algunas bacterias son incapaces de sintetizar algunos de los metabolitos esenciales, por lo tanto, deben agregarse al medio de cultivo para su aislamiento. Dentro de estos

factores de crecimiento estarían las vitaminas (B1, B2, B6, B12, ácido nicotínico), los aminoácidos (precursores de las proteínas), las bases púricas y pirimídicas (precursoras de los ácidos nucleicos) y otros como los factores V y X presentes en la sangre.

c) Condiciones fisicoquímicas

Además de los elementos energéticos y constitutivos y específicos, el crecimiento y desarrollo de los microorganismos depende también de:

- ✓ **Concentración de iones hidrógeno (pH):** La mayoría de las bacterias comensales y patógenas crecen mejor en un medio neutro o ligeramente alcalino.
- ✓ **Temperatura:** para cada especie hay una temperatura definida, pudiendo clasificarse las bacterias en **mesófilas**, cuya temperatura óptima de crecimiento oscila entre 20 y 45°C; **psicrófilas**, cuya temperatura óptima está por debajo de los 20 °C y **termófilas**, entre 55 a 80°C.
- ✓ **Presión osmótica:** la pared celular protege a la bacteria de los cambios de presión osmótica del medio ambiente. Hay bacterias que sobreviven en medios con alta presión osmótica, son llamadas **osmófilas**, entre las que encontramos algunas bacterias patógenas para el hombre. Hay bacterias que requieren altas concentraciones de sales y se denominan **halófilas**.
- ✓ **Presencia de oxígeno:** las bacterias pueden comportarse como **aerobias obligadas**, necesitan oxígeno como aceptor de electrones, por lo que sólo crecen en presencia de este; **anaerobias estrictas**, la ausencia de oxígeno es condición necesaria para su desarrollo o como **aerobias-anaerobias facultativas**, pueden desarrollar tanto en presencia como ausencia de oxígeno.
- ✓ **Presencia de dióxido de carbono:** la mayoría de las bacterias requieren pequeñas cantidades de dióxido de carbono para su crecimiento, pero otras tales como *Brucella abortus* necesitan concentraciones del 5 a 10%. Estas últimas reciben el nombre de **microaerófilas**.

Las bacterias del hombre son quimiorganotrofas, mesófilas y heterótrofas

METABOLISMO BACTERIANO

Cuando las bacterias disponen de todos los factores nutricionales y de un medio ambiente adecuado, están en condiciones de crecer. El conjunto de reacciones químicas que se producen en las células vivas recibe el nombre de **metabolismo**.

El metabolismo de las bacterias no difiere del de los demás seres vivos.

Las reacciones metabólicas se pueden dividir en dos grandes grupos: **reacciones catabólicas o energéticas** que tienen por objeto la descomposición de los sustratos en sustancias más sencillas con liberación de energía, y **reacciones anabólicas o biosintéticas** en las que dicha sustancia y energía se utilizan para la síntesis de los materiales propios de la bacteria.

Los productos resultantes de los procesos anabólicos no solo forman materiales constitutivos de la célula bacteriana, sino también otros productos que pueden ser eliminados al exterior. Estos productos pueden tener importancia en la identificación de las especies bacterianas o actuar como **determinantes de patogenicidad**.

Como ejemplo de estos podemos citar:

- 1- Polisacáridos capsulares.
- 2- Toxinas
- 3- Exoenzimas
- 4- Vitaminas
- 5- Pigmentos

REPRODUCCIÓN BACTERIANA

Durante el crecimiento bacteriano puede o no haber reproducción. Si esta ocurre se llevará a cabo por división binaria o división simple

Este proceso comienza con el desenrollamiento y separación de las 2 cadenas de DNA. Se forman así 2 moldes de replicación y se originan 2 cadenas dobles de DNA quedando conformadas por un DNA paterno y una cadena recién sintetizada. Estos genomas replicados se separan. Se forma un tabique en la mitad de la célula por invaginación de la membrana y aparición de la pared celular. Se divide la célula en dos células hijas (Figura 7).

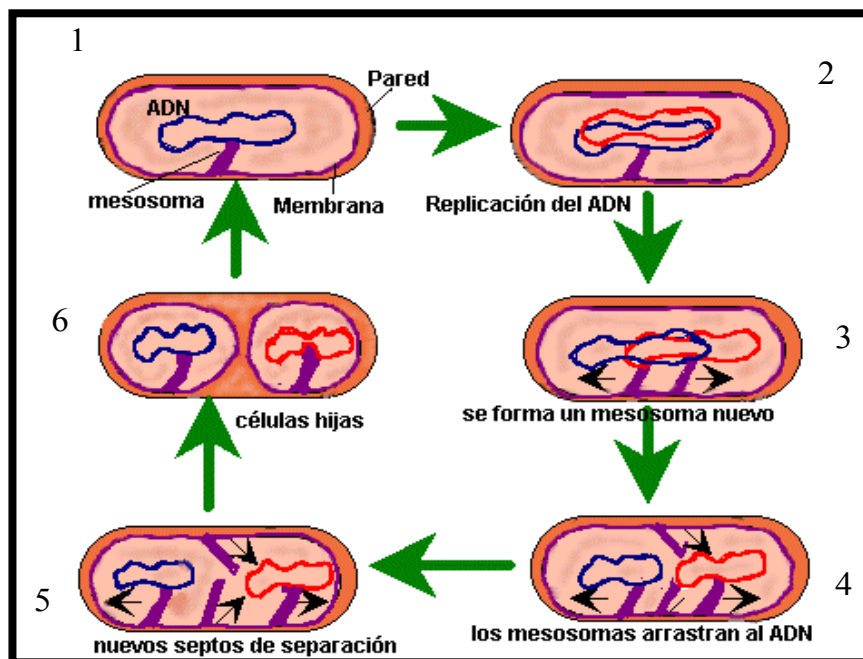


Figura 7. Reproducción bacteriana

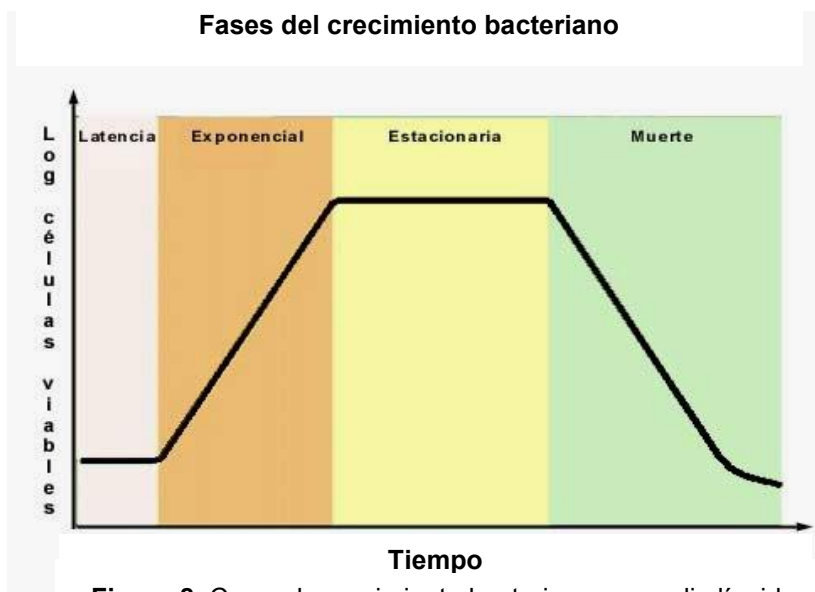
CRECIMIENTO BACTERIANO EN MEDIO LÍQUIDO

Si tenemos un cultivo bacteriano del que tomamos muestras a intervalos regulares, y determinamos por métodos bacteriológicos la cantidad de bacterias vivas que hay en cada muestra y luego graficamos el logaritmo del número de bacterias viables versus el tiempo de incubación, obtendremos una típica curva de crecimiento bacteriano, cuyas etapas o fases se describen a continuación (Figura 8):

1. **Fase de latencia o adaptación:** es el tiempo necesario para la adaptación de las bacterias al nuevo medio donde se siembran. Durante este periodo, los

microorganismos en estado latente aumentan su actividad metabólica. Hay un incremento de volumen, pero no se dividen. No hay replicación de DNA.

2. **Fase de desarrollo exponencial:** si el medio de cultivo es el adecuado, el crecimiento bacteriano es típicamente exponencial. En esta fase se produce la división de las bacterias. Primero hay una etapa de división lenta, luego comienza una etapa de crecimiento acelerado y finalmente la velocidad de división alcanza su máximo para cada especie. Cuando las bacterias se multiplican a velocidad constante y exponencial, se alcanza la auténtica fase de desarrollo. Al cabo de algunas horas de inicio de la fase logarítmica se agotan los nutrientes, se acumulan las sustancias tóxicas, el pH se modifica y las células se inhiben mutuamente. La fase de división comienza a declinar.
3. **Fase estacionaria:** hay un crecimiento desequilibrado debido a que los componentes bacterianos se sintetizan a distinto ritmo. Se produce una estabilización, de modo que el número de células que se reproducen equivalen a las que mueren. Esto puede ser debido a la disminución de factores esenciales para la respiración o a falta de elementos nutritivos del sustrato.
4. **Fase de declinación o muerte:** al volverse las condiciones más adversas, las bacterias se reproducen más lentamente y predominan las células muertas. Aparece una fase de declinación exponencial similar, pero en sentido contrario a lo que sucede a la fase logarítmica.



ESPORAS BACTERIANAS

Es una formación endocelular característica de algunas especies bacterianas. Sólo se forma una espora por célula; pueden ser ovales o esféricas, ubicadas en una determinada región de la célula. La característica más importante es su **capacidad**

para resistir condiciones del medio ambiente que matarían rápidamente a la célula vegetativa.

Cuando las células tienen las condiciones favorables para vivir, vuelven a su estado vegetativo. La espora no posee actividad metabólica; es un poderoso mecanismo de dispersión y supervivencia en condiciones adversas. Solamente algunos bacilos gram positivos esporulan (Ejemplo: *Bacillus* spp, *Clostridium* spp).

Las esporas pueden clasificarse según su localización y tamaño:

Por su localización	{ Central Subterminal Terminal
Por su tamaño	{ Menor que la célula original Mayor que la célula original Igual que la célula original

Mediante el empleo de microscopía electrónica se puede observar la compleja estructura de la espora bacteriana. Está constituida por dos partes, una central que se denomina protoplasto o “core” y una externa, periférica o “cortex”. El core contiene una copia de DNA, ribosomas y numerosas enzimas.

El “cortex”, está formado por una serie de capas o envolturas concéntricas:

- membrana esporal, que encierra al protoplasto;
- pared esporal, que contiene péptidoglicano similar al de la célula vegetativa;
- corteza, la capa más gruesa, que también está formada por péptidoglicano, pero con menos enlaces cruzados que el de la célula vegetativa;
- saco de la espora, compuesto de varias capas de proteína similares a la queratina, responsable de la impermeabilidad de la espora;
- exosporio, que es una lipoproteína de membrana con carbohidratos.

En la figura 9 se representa el esquema de una espora bacteriana

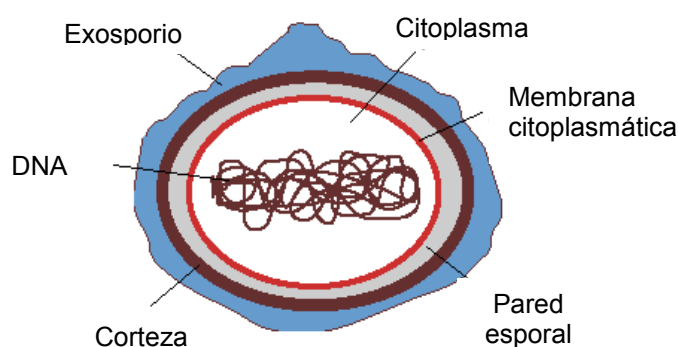


Figura 9. Esquema del corte de una espora bacteriana.

MECANISMO DE ESPORULACIÓN

Las células vegetativas, de aquellas bacterias formadoras de esporas, comienzan a esporular generalmente, en el comienzo de la fase estacionaria, cuando cesa el crecimiento, debido a que se exponen a condiciones ambientales adversas.

Los factores más importantes involucrados en este proceso son la ausencia de fuentes de carbono y / o nitrógeno, el calor y la desecación.

El proceso de esporulación es sumamente complejo e incluye la activación de genes que determinan la formación y composición de la espora y la inactivación de otros genes involucrados en la función vegetativa.

El proceso de esporulación consta de 7 fases que pueden resumirse de la siguiente manera: se filamentiza el material nuclear de la bacteria original y se ubica en el centro del microorganismo. Comienza a formarse un tabique que separa la cromatina nuclear. Queda constituido el preesporo por crecimiento unidireccional de la membrana citoplasmática. Se forma el córtex y comienza a aparecer el ácido dipicolínico. Se forman la exina e intina. El esporo así maduro es liberado de la célula madre.

El proceso de germinación o formación de la célula vegetativa ocurre en tres fases generales:

a. Activación: es un proceso que prepara a la espora para la germinación.

b. Iniciación: donde hay captación de agua, liberación de dipicolinato de calcio y degradación enzimática de los componentes de la espora. Comienza la actividad metabólica

c. Liberación: se degradan la corteza y las capas externas, hay biosíntesis activa y liberación celular.

Las etapas de la formación de una espora son (ver figura 10):

Etapas 0: La célula se halla en la etapa final del crecimiento exponencial bacteriano y tiene 2 cromosomas.

Etapas 1: El DNA celular se hace más denso y ocupa el centro de la célula. Comienza un importante recambio intracelular de proteínas.

Etapas 2: Se forma un septo cerca del polo celular a causa de la invaginación de la membrana citoplasmática. El DNA es segregado en dos compartimientos: la espora en desarrollo y la célula madre.

Etapas 3: El citoplasma de la espora en formación queda delimitado por 2 membranas debido al crecimiento de la membrana plasmática alrededor del protoplasto. La membrana más interna se transformará en la membrana citoplasmática de la espora en germinación.

Etapas 4: Comienza a formarse la corteza de la espora por el depósito de un polipéptido esporoespecífico entre la membrana interna o externa. La espora aparece como un cuerpo refractario. Comienza a acumularse Ca^{++} y ácido dipicolínico.

Etapas 5: Aparece el exosporio; la membrana exterior se transforma en la capa cortical por incorporación de proteínas ricas en cisteína. Esta capa le confiere a la espora la resistencia a los ATB.

Etapas 6: Maduración de la espora. Su citoplasma se vuelve homogéneo y electrodenso y la capa cortical se completa.

Etapas 7: La espora es liberada por lisis celular.

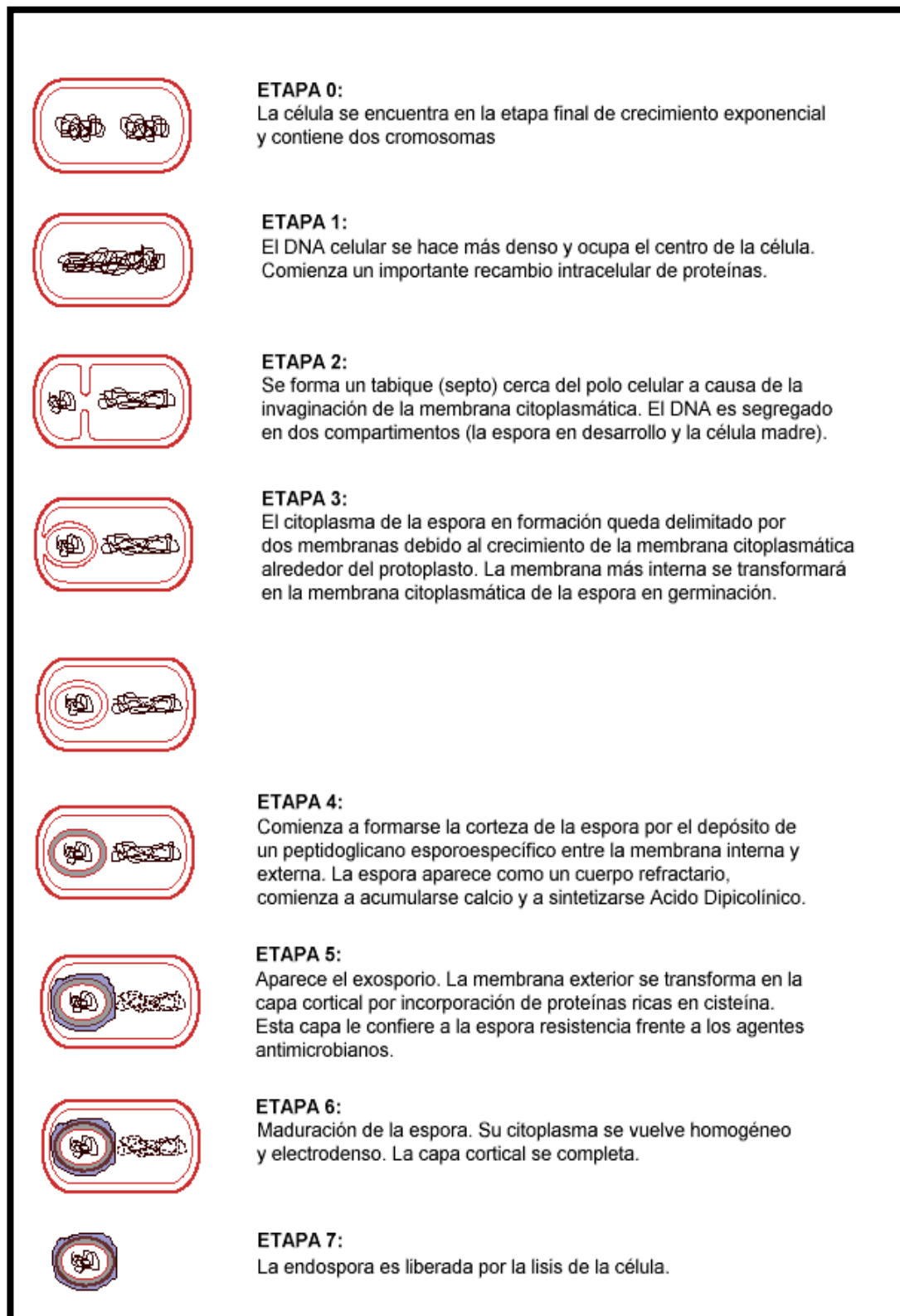


Figura 10. Etapas de la esporulación

CAPÍTULO 3

GENÉTICA BACTERIANA

GENOMA BACTERIANO

El genoma se puede definir como el conjunto de información genética de un individuo, contenida en ADN o ARN. El genoma bacteriano es la estructura en donde se encuentran las características biológicas de la especie.

En las bacterias, el ADN puede localizarse en un único cromosoma circular o en otras estructuras extra-cromosómicas. El genoma bacteriano comprende el cromosoma, los plásmidos y los bacteriófagos.

El genoma o genotipo es la suma total de los genes que dan las características a la especie. Las variaciones genotípicas suceden a través de mutaciones o fenómenos de transferencia de material genético.

El fenotipo es la manifestación de algunas características contenidas en el genoma, está condicionado por el medio ambiente (variaciones fenotípicas).

CROMOSOMA BACTERIANO

Las bacterias carecen de un núcleo verdadero, no tienen membrana nuclear y en general presentan un único cromosoma que se encuentra en una región denominada región nuclear o nucleoide. Existen especies que poseen 2 cromosomas, en general uno de mayor tamaño que otro (Figura 11). El cromosoma bacteriano consiste en una molécula de ADN doble cadena circular de alto peso molecular. Se han descrito cromosomas lineales, como es el caso de *Borrelia burgdorferi*.

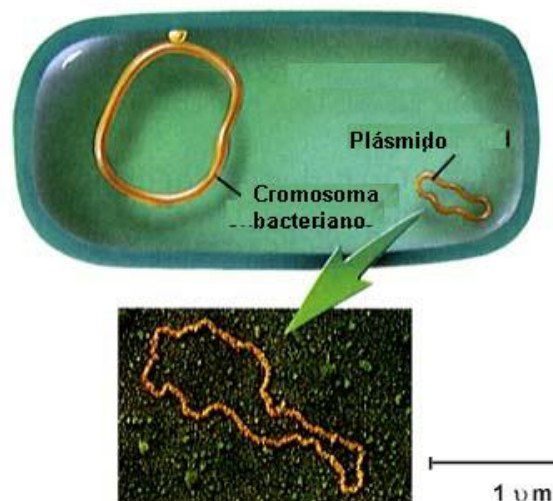


Figura 11. Cromosoma bacteriano.

El grado de superenrollamiento del ADN está determinado por el balance de la ADN girasa (topoisomerasa II) que incrementa el número de vueltas de las superhélices y la topoisomerasa I, que reduce el número de vueltas. La síntesis de ambas enzimas junto con la ADN ligasa depende del grado de enrollamiento del ADN. Estas enzimas son fundamentales para el mantenimiento y la división del ADN. El ADN está formado por dos cadenas de polinucleótidos que están compuestos por mononucleótidos unidos por moléculas de ortofosfato. Cada una de estas moléculas esterifica la desoxirribosa de un nucleótido en posición 5' y el azúcar del nucleótido siguiente en posición 3' (Figura 12).

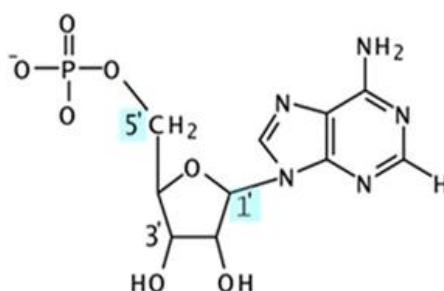


Figura 12. Estructura de monofosfato de adenosina.

El ADN bacteriano está constituido por bases púricas (adenina y guanina) y pirimídicas (citosa y timina) y según la bacteria puede contener entre 1000 y 9000 kilobases (kb). Ambas cadenas poseen polaridades opuestas. El ADN le brinda a la bacteria todas sus características genéticas. Los genes actúan como unidades genéticas funcionales y cada gen tiene una secuencia de bases y determina la estructura de un polipéptido.

El cromosoma bacteriano tiene como funciones la replicación y la expresión de los genes. Los genes codifican ARN mensajero, de transferencia y ribosomal; su expresión sucede mediante la transcripción y la traducción. En el cromosoma los genes pueden organizarse como genes de organización única, formando parte de operones o de regulones.

El cromosoma bacteriano está asociado con una variedad de proteínas, semejantes a las histonas de las células eucariotas, conocidas como símil-histonas. La interacción ADN-proteínas símil-histonas puede controlar la expresión de genes que codifican factores de patogenicidad. La síntesis de ADN cromosomal sucede durante todo el ciclo de división celular. La duplicación del ADN se realiza mediante la apertura de los puentes de hidrógeno que unen las purinas y las pirimidinas, sintetizando la cadena opuesta en forma de espejo. El ADN se replica mediante un mecanismo semiconservado; las cadenas se separan y cada una actúa como molde para la nueva cadena suplementaria que se forma; se obtiene así dos nuevas hélices dobles idénticas a la original. La replicación del ADN comienza en un sitio denominado *ori* (origen de la replicación); que debe estar expuesto para que pueda iniciarse. En la exposición del gen también participan las proteínas semejantes a las histonas. El locus *ori* es una región del ADN adherida a la membrana celular, la replicación avanza en forma continua durante todo el ciclo de división celular (Figura 13). El cromosoma

bacteriano porta los genes iniciador y autoduplicador (unido a la ADN polimerasa). El gen iniciador informa al autoduplicador que comience la replicación. La duplicación del ADN por la ADN polimerasa implica la ruptura de puentes de hidrógeno entre las cadenas y su separación. Este hecho sucede por giro del cromosoma sobre el punto de unión en el mesosoma. Luego de la replicación, los dos cromosomas se separan dividiendo el mesosoma sobre el que estaban fijos y se forman septos que aseguran la división bacteriana. La replicación del cromosoma bacteriano sucede en dirección 5'-- -- 3'. En la horquilla de replicación una de las hélices se sintetiza de forma continua (hélice líder); la otra (hélice retrasada) se sintetiza de forma discontinua a través de fragmentos cortos (de Okasaki).

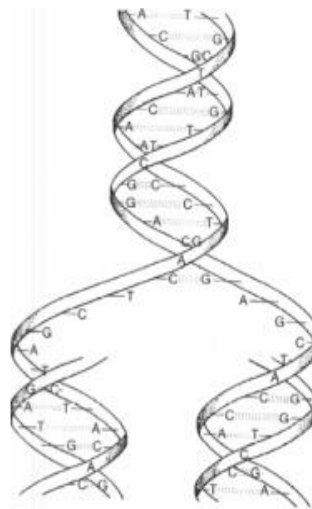


Figura 13. Duplicación del ADN en dos cadenas idénticas.

MUTACIONES

Al duplicarse el ADN, puede ocurrir una alteración en la secuencia de los nucleótidos, denominada mutación. **La mutación es una alteración espontánea o inducida de la secuencia de los nucleótidos del genoma que se manifiesta por alguna característica biológica, transmitiéndose a las siguientes generaciones.** Las mutaciones no dependen de la incorporación de material genético de otro microorganismo. La bacteria con la característica original se denomina “salvaje” y la que varía “mutante”.

Desde el punto de vista molecular, estas alteraciones pueden suceder por:

- **Adición** de una base extra que no existía en la célula madre
- **Delección** en que se omite una base que estaba en la célula madre
- **Cambio** (se cambia una purina por otra)
- **Transversión** (se alterna una purina por una pirimidina o viceversa)
- **Inversión**, donde la secuencia se invierte en una o más bases
- **Inserción** en la que se fractura un pequeño fragmento y se inserta otro diferente.

En el metabolismo natural de las bacterias intervienen enzimas (exonucleasas) que corrigen algunos errores en la transcripción, disminuyendo así la frecuencia de las mutaciones naturales.

PLÁSMIDOS

Un plásmido es una molécula de ADN de doble cadena extracromosomal (lineal o circular), que se replica en forma autónoma de la duplicación del cromosoma y se transmite por herencia a las células hijas. Su tamaño es variable y oscila entre una a varias decenas de kilopares de bases (1-250 kb). También es variable su número de copias por cada célula bacteriana, siendo una característica fija para cada tipo de plásmido. Durante la división bacteriana puede ocurrir su pérdida espontánea o inducida.

Los plásmidos son portadores de genes que en general nos son esenciales para la vida bacteriana y pueden recombinarse con el cromosoma o con otros plásmidos por un mecanismo regulado por recombinasas e integrasas (*crossing-over*). La competencia por la ADN polimerasa y por el sitio de unión a los mesosomas hace que exista incompatibilidad entre diferentes plásmidos; este hecho permite su clasificación (familias de incompatibilidad). Dos plásmidos de igual grupo de incompatibilidad no pueden heredarse en forma conjunta.

Los plásmidos pueden transferirse a otra bacteria por el mecanismo de conjugación. Los de mayor tamaño portan genes codificantes de pilis sexuales (plásmidos conjugativos); los de menor tamaño no lo hacen (plásmidos no conjugativos). Un plásmido conjugativo puede inducir la transferencia de uno no conjugativo de la misma bacteria (Figura 14).



Figura 14. Plásmidos, moléculas circulares de ADN.

Los plásmidos pueden expresar diferentes caracteres:

- Factores sexuales:** son plásmidos autotransferibles y codifican los pilis sexuales F.
- Factores de resistencia a los antibióticos (factores R):** Son plásmidos que codifican la resistencia a los antibióticos. Están integrados por un factor de transferencia de la resistencia (FTR) y determinantes **r** portadores de genes codificantes de enzimas que hidrolizan los antibióticos. Existen bacterias con plásmidos R cointegrados y con genes de resistencia a múltiples antibióticos.
- Determinantes de patogenicidad:** plásmidos que codifican la producción de sustancias nocivas para el huésped. Así es que los plásmidos "*Ent*" codifican

enterotoxinas en *Escherichia coli* y *Vibrio cholerae*; los plásmidos “Hly” codifican la producción de α -hemolisinas en *Streptococcus pneumoniae*.

-Factores Col: son plásmidos codificantes de péptidos antimicrobianos (bacteriocinas) como las colicinas (*E. coli*) y enterocinas (*Enterococcus* spp.).

-Enzimas degradantes: plásmidos de bacterias que habitan el suelo y que codifican enzimas que degradan sustancias del medio ambiente como tolueno y salicilato.

BACTERIÓFAGOS

Los bacteriófagos o fagos, son virus que infectan a las bacterias, pudiendo provocar la lisis bacteriana. Su estructura comprende una cabeza, en donde se encuentra contenido el ácido nucleico, un centro hueco, el cuerpo, que está construido por una serie de anillos que se llama vaina y que tiene la capacidad de expandirse o contraerse para introducir el ácido nucleico a la bacteria, y una base con una placa con varias fibras que le sirven para posarse sobre la bacteria (Figura 15).

El genoma de los fagos puede estar constituido por:

- ADN de doble cadena (fago λ)
- ADN de simple cadena
- ARN de doble cadena
- ARN de simple cadena

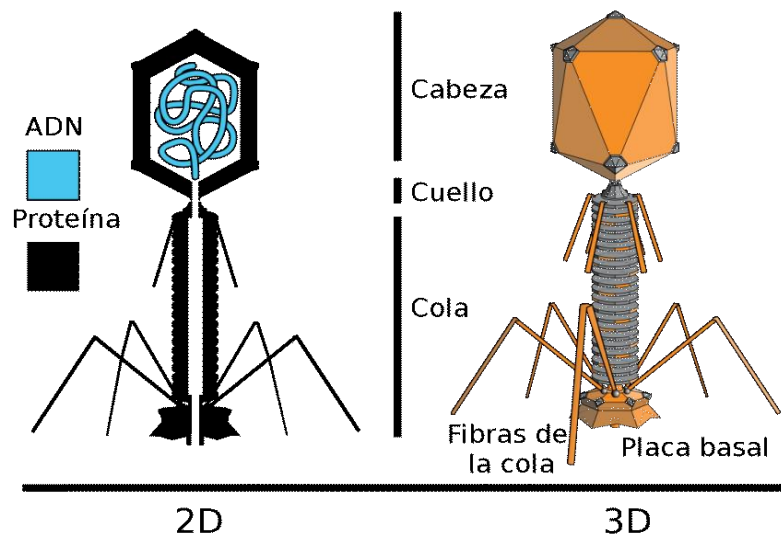


Figura 15. Bacteriófago.

Los fagos pueden insertarse en el cromosoma y en los plásmidos de la célula huésped. Algunos fagos que se insertan en el cromosoma pueden aportar factores de virulencia, como el fago T12, que al infectar cepas de *Streptococcus pyogenes* puede generar la escarlatina. Los fagos pueden generar el **ciclo lítico** o el **ciclo lisogénico**, aunque muy pocos son capaces de llevar a cabo ambos. Si se lleva a cabo la lisis, no puede llevarse a cabo la lisogenia y viceversa.

En el ciclo **lítico**, las células hospedadoras del **fago** son lisadas (destruidas) tras la replicación y encapsulación de las partículas virales. El ciclo lisogénico presenta la fase de anclaje y la fase de penetración, donde el virus se pega a la pared de la

bacteria o célula a partir de una serie de mecanismos de anclaje y penetra o introduce su ácido nucleico en el interior de dicha bacteria o célula.

ELEMENTOS MÓVILES

Son unidades genéticas compuestas por uno o varios genes, que presentan una gran diversidad en su estructura y en los mecanismos utilizados para su movilización (Figura 16). Pueden movilizarse desde el cromosoma a un plásmido dentro de una misma célula o en diferentes cepas; incluso de diferente género y especie. Estos elementos no son replicones sino que cuando integran los genomas de las bacterias le confieren plasticidad genética.

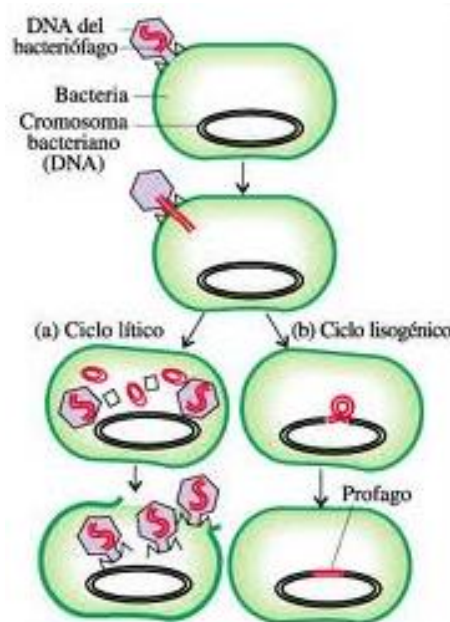


Figura 16. Bacteriófago; ciclo lítico (a) y ciclo lisogénico (b).

Según su movilización se pueden describir dos grupos:

1) Movilización mediante un ARN intermediario: a través de **intrones** del grupo I y II que tienen una transcriptasa reversa (retrotransposones). Los intrones interrumpen la secuencia codificante de un gen y generan los exones que para que se expresen, los intrones son removidos del pre-ARN mensajero mediante un proceso de autoescisión. Cuando el intrón es liberado, su ARNm se pliega en una estructura con actividad enzimática (ribozima) que se asocia con una proteína con actividad de transcriptasa reversa y forma un complejo ribonucleoproteico que habilita al intrón a movilizarse a nuevas regiones del ADN.

2) Movilización ADN - ADN: una secuencia de ADN es movilizada de un sitio a otro. Los distintos elementos genéticos son: secuencias de inserción, **transposones** (compuestos, simples, conjugativos), **bacteriófagos** y **cassettes** (de integrones).

Es importante destacar que los transposones en general se movilizan por recombinación no homóloga y los bacteriófagos y los *cassettes* lo hacen por mecanismos de recombinación sitio-específicos.

Secuencias de Inserción

Las Secuencias de Inserción (SI) son secuencias de nucleótidos (0,5-2 kb), generalmente flanqueadas por secuencias de nucleótidos repetidas, con orientación invertida una respecto de la otra. Las SI codifican transposasas pero carecen de genes estructurales. Al insertarse en cualquier parte del genoma, las SI pueden modificar la expresión del gen en el cual se insertan. Sus funciones son: modificar la expresión de genes; promover el reordenamiento del genoma; actuar como vectores de genes no transponibles al flaquear genes no móviles. Pueden estar integradas tanto al cromosoma como en los plásmidos (Figura 17).

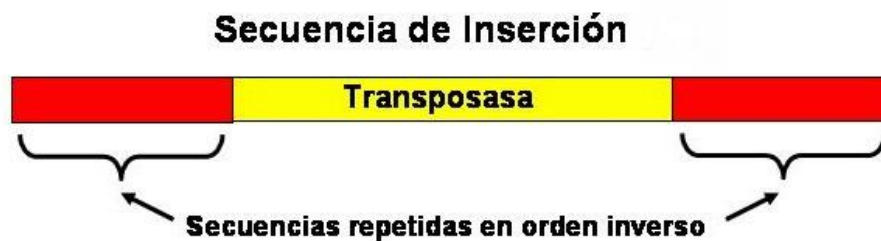


Figura 17. Secuencia de inserción (SI)

Transposones

El transposón se caracteriza por su capacidad de movilizarse dentro del genoma bacteriano. Consiste en un segmento de ADN de doble cadena, con genes estructurales flanqueados por su secuencia de nucleótidos repetidas en orientación invertida o directa. Los genes estructurales codifican factores de virulencia y resistencia a los antimicrobianos. Para su propia movilización codifica la enzima transposasa. Tanto los plásmidos como el cromosoma pueden adquirir nuevos genes estructurales mediante la inserción de nuevos transposones.

Los transposones simples tienen largas secuencias repetidas en los extremos, entre 35-40 pb, pero sin secuencias de inserción. Algunos incluyen genes de resistencia a los antibióticos que se movilizan del cromosoma a los plásmidos o de un plásmido a otro. Los transposones compuestos o complejos contienen varios genes con información de funciones especializadas y son de tamaño mayor. Tienen dos copias de IS que flanquean los genes que codifican para esa función (Figura 18).

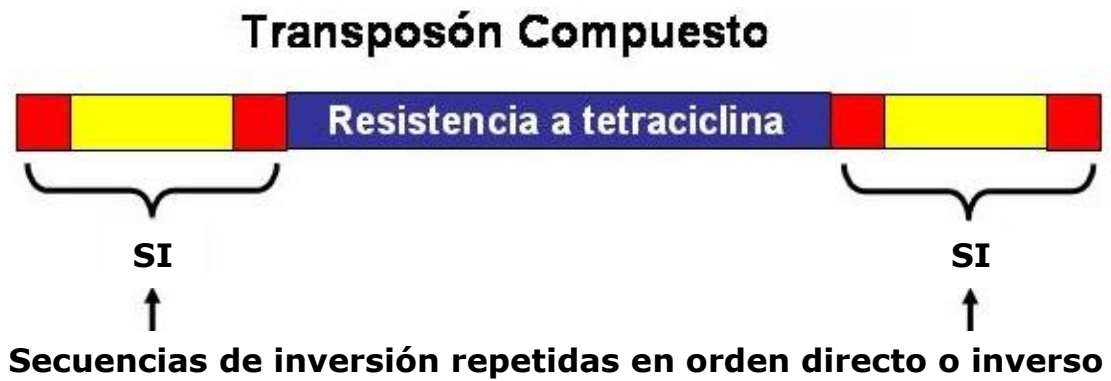


Figura 18. Transposón compuesto con dos SI y genes de resistencia a tetraciclina en la región central.

Como los transposones no pueden replicarse, necesitan integrarse en un **replicón**. Este evento sucede de forma aleatoria, y como se pueden alterar las secuencias debido a su inserción, conducen con frecuencia a mutaciones.

Los transposones conjugativos promueven su diseminación de una bacteria hacia otra por el mecanismo de conjugación. Un número significativo de las denominadas islas genómicas pertenecen a este tipo de transposones.

Integrones

Los integrones son piezas genéticas que han despertado gran interés porque pueden transportar genes de resistencia a los antimicrobianos. Permiten la inserción de diferentes genes individuales y les ofrece un promotor para que se expresen. En la cadena opuesta al promotor, se encuentra una integrasa (gen *int*) que cataliza la inserción de los nuevos genes en el sitio específico (sitio *attI*). Desde el extremo 5' al 3' están formados por un fragmento que codifica la integrasa y a continuación una secuencia *attI* a la que se unen los genes de resistencia. Dentro de *intI*, en su extremo 3', hay una secuencia promotora P_{ant} a partir de la cual se transcriben los genes de resistencia integrados, ya que estos genes carecen de promotor. Para que los genes individuales se inserten en un integrón deben estar en forma de **cassette**.

Los integrones se han clasificado según la secuencia de su integrasa. Los detectados con más frecuencia en cepas bacterianas aisladas en clínica pertenecen a la clase 1. Los integrones de la clase 1 están formados por el 5'-CS y a continuación se sitúan los diferentes genes *cassettes* captados, por lo que es una zona variable; finalmente se encuentra una zona conservada denominada 3'-CS formada por 2 genes uno de resistencia a compuestos de amonio cuaternario (*qacEΔI*) y otro a sulfamidas (*sul1*); estos 2 genes, no son *cassettes* y, por lo tanto, no son móviles sino fijos. Los mecanismos de resistencia relacionados con genes de integrones son variados e incluyen la síntesis de enzimas como cloranfenicol acetil transferasas (CAT), modificantes de rifampicina; dihidrofolato reductasas; betalactamasas, especialmente aquellas de más reciente descripción como carbapenemasas. Además, se han descrito proteínas protectoras de la ADN girasa y bombas de eflujo.

Probablemente, los integrones no son móviles por sí mismos, pero con frecuencia se hallan en transposones que a su vez se encuentran en plásmidos conjugativos, asegurando su movilidad horizontal (Figura 19).

Los integrones pueden formar parte de plásmidos y de transposones que codifican resistencia múltiple a los antimicrobianos (Resistencia en cepas de *Klebsiella pneumoniae* a antimicrobianos β -lactámicos, quinolonas y aminoglucósidos)

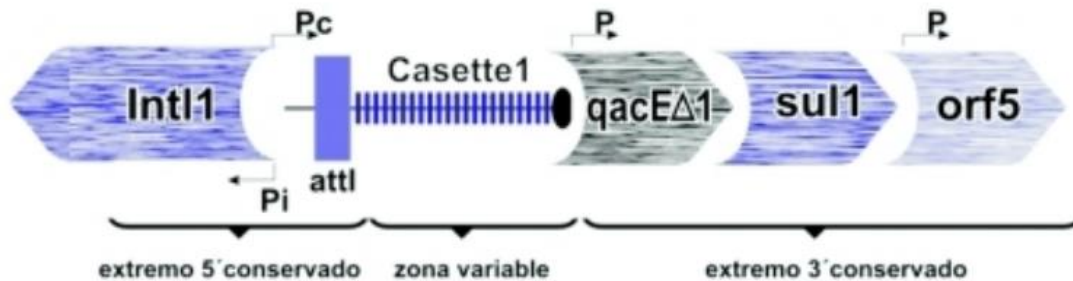


Figura 19. Representación esquemática de la estructura básica de un integrón. *intI1*: gen que codifica la integrasa clase 1.

Los genes *cassette* forman una familia de pequeños elementos móviles constituidos por un gen y un sitio de recombinación al final del *cassette*, denominado *attC* (Figura 20).

Pueden estar libres o integrados en un sitio específico del integrón. Los *cassettes* carecen de promotores y la expresión del gen que porta depende de su inserción en la orientación adecuada en un integrón.

Los genes *cassettes* pueden codificar resistencia a los antimicrobianos y representan una forma muy eficiente de empaquetamiento de información genética.

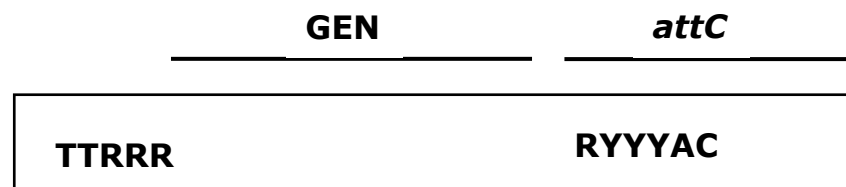


Figura 20. *Cassette*, formado por el gen y el sitio de recombinación *attC*.

El nivel de resistencia a un determinado antimicrobiano, codificado por un *cassette* genético de resistencia, depende de su posición en el integrón, más cercana o lejana del promotor común.

La diseminación de genes de resistencia aumenta considerablemente cuando forman parte de ***cassettes* genéticos móviles**, que los habilita para su transferencia horizontal por varios mecanismos. Algunos incluyen la movilización de *cassettes* entre integrones, mediada por la integrasa. En el caso de integrones que forman parte de un transposón, pueden transponerse desde el cromosoma hacia plásmidos y viceversa. Por su parte, los plásmidos conjugativos pueden transferirse de una bacteria a otra de la misma o de diferente especie, fenómeno genético particularmente importante por la presión selectiva existente a nivel hospitalario (Figura 21).

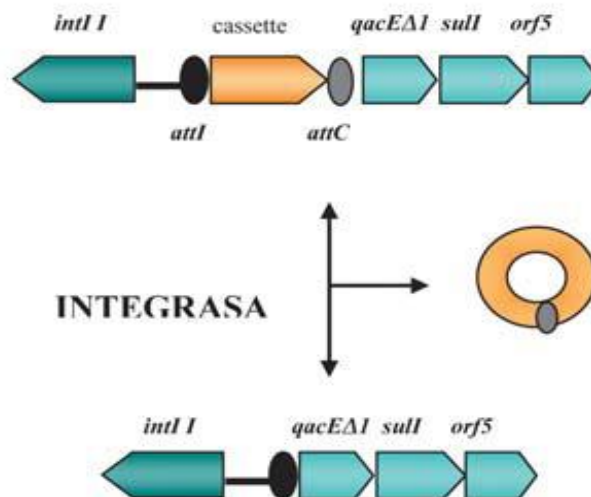


Figura 21. Adquisición de *cassettes* genéticos de resistencia. *int1*: gen que codifica la integrasa clase 1; *attI*: sitio de recombinación del integrón en el cual los *cassettes* son integrados. *attC*: sitio de recombinación del *cassette* genético

Los *cassettes* genéticos codifican resistencia a una amplia gama de compuestos antibacterianos, que incluyen antibióticos β -lactámicos, aminoglucósidos, trimetoprima, sulfonamidas, fenicoles, tetraciclinas, rifampicina, eritromicina y quinolonas.

Se han descrito más de 130 *cassettes* de resistencia a diferentes antimicrobianos; la mayoría pertenecientes a familias de utilización clínica como betalactámicos, aminoglucósidos, fluorquinolonas, rifamicinas, lincosaminas y macrólidos entre otros.

Los integrones que movilizan *cassettes* se asocian a otras plataformas genéticas (transposones, SI, islas genómicas, plásmidos conjugativos) que les permiten diseminarse a otras bacterias de la misma o diferente especie.

En la tabla 2 se resumen los elementos genéticos de las bacterias y su función.

Tabla 2. Bacterias: elementos genéticos y función.

Elemento genético	Definición	Función
Cromosoma	Codifica ARN ribosomal	Replicación, recombinación y expresión génica.
Plásmido	ADN extracromosomal. Unidad de replicación independiente del cromosoma.	Adaptación de la bacteria al medio y a su evolución.
Transposón	Segmento de ADN que puede movilizarse de forma autónoma. Contiene genes estructurales.	Causa mutaciones por adición o delección.
Secuencia de inserción (SI)	Segmento de ADN que puede movilizarse en forma autónoma. No tiene genes estructurales.	Brinda los sitios para la integración de plásmidos al cromosoma.
Bacteriófago	Virus que infecta a las bacterias. Puede conducir a la lisis celular o insertarse en el genoma bacteriano.	Puede codificar factores de patogenicidad (profagos)
Integrón	Permite la inserción de diferentes genes individuales, tiene un promotor para que se expresen.	Participa en la evolución de los plásmidos y transposones.
Gen-cassette	Es móvil y está formado por: un gen y un sitio de recombinación.	Empaqueta información genética.

RECOMBINACIÓN GENÉTICA

Las bacterias se reproducen por un proceso asexual (fisión binaria) aunque tienen mecanismos para lograr la variabilidad genética que necesitan para adaptarse a un ambiente cambiante. En general existen dos formas de cambiar la dotación genética de una bacteria: las mutaciones y la transferencia de fragmentos de ADN de una bacteria a otras con posterior recombinación de los fragmentos adquiridos en el cromosoma o en los plásmidos de las bacterias receptoras.

La recombinación genética es la incorporación de genes al genoma de una bacteria, provenientes de otra bacteria, de la cual adquiere caracteres que antes no tenía. Los genes que son adquiridos se recombinan con los existentes en la célula receptora. La bacteria receptora con frecuencia manifiesta características nuevas, siendo un mecanismo eficiente para adaptarse a ambientes desfavorables, para producir exotoxinas o para expresar resistencia a los antimicrobianos.

Cuando el ADN donado no lleva información para autorreplicarse, entonces es necesario que se recombine con el ADN receptor para conseguir su establecimiento.

Se reconocen dos tipos de recombinación:

- ♦ **Recombinación homóloga:** sucede cuando hay gran similitud entre el ADN donado y el receptor, por lo que se modifica solamente la posición de los genes existentes en el replicón y es infrecuente que las bacterias modifiquen sus características. Los genes responsables de la recombinación homóloga se designan como genes *rec*.
- ♦ **Recombinación heteróloga:** resulta de la introducción de genes nuevos en un replicón, entre secuencias diferentes de ADN. Los mecanismos por los cuales los genes nuevos pueden efectuar la recombinación son: generalizada, específica en un sitio, y por transposición. En la recombinación generalizada el segmento del donante es muy parecido al del receptor, y al mezclarse se obtiene un ADN híbrido. La recombinación en un sitio sucede cuando se introduce un segmento de ADN que se inserta en un sitio específico y es mediado por un fago. En la recombinación por transposición, los transposones se movilizan de un sitio a otro, como en la de un cromosoma a un plásmido, o en un mismo genoma.

Algunas cepas bacterianas poseen sistemas de restricción, que consisten en enzimas o endonucleasas de restricción que hidrolizan al ADN en sitios determinados. Brindan a las bacterias un mecanismo para distinguir su propio ADN y también les permite enmascarar los sitios de reconocimiento de su propio ADN, mediante metilaciones en la adenina o en la citosina. Una consecuencia de la restricción es que el ADN donado pueda ser hidrolizado antes de que se pueda establecer como parte de un replicón.

MECANISMOS DE TRANSFERENCIA HORIZONTAL DE GENES

La transferencia horizontal genética es el evento por el que un organismo adquiere material genético de otra célula que no es su progenitor. La transferencia lateral de genes entre cepas de la misma especie o entre especies bacterianas diferentes tiene un papel importante en el mantenimiento de la diversidad genética de la población.

bacteriana. Los genes que codifican los factores de patogenicidad pueden ser adquiridos en forma adicional. Por lo tanto las bacterias patógenas pueden emerger de sus ancestros no patógenos luego de adquirir bacteriófagos, transposones, plásmidos, o islas de patogenicidad (IP) que son grandes fragmentos o bloques de ADN. Las IP pueden adquirirse a través de plásmidos o por inserción de un fragmento lineal de ADN en el cromosoma, por transposición o recombinación. La adquisición de varios genes simultáneamente permite la obtención de características complejas en un solo paso. La transferencia natural de genes entre bacterias puede llevarse a cabo esencialmente mediante los mecanismos de transformación, transducción, y conjugación.

Transformación

La transformación natural consiste en la captura de ADN extracelular (cromosomal o plasmídico) por la célula bacteriana y su incorporación en forma heredable a las células hijas (Figura 22). La transformación involucra 4 etapas:

1. Desarrollo del estado de competencia de la bacteria receptora
2. Unión del ADN extracelular a la bacteria
3. Proceso y captura del ADN exógeno
4. Integración del ADN capturado al genoma y su expresión.

En el medio ambiente existe ADN libre, que se libera principalmente durante la muerte y la lisis bacteriana. La capacidad de la célula bacteriana para capturar el ADN libre se denomina “estado de competencia genética”. El estado de competencia forma parte de su fisiología normal, siendo transitorio y limitado a un determinado momento de la vida bacteriana; sin embargo *Neisseria gonorrhoeae* es competente constitutiva (competencia independiente de la fase de crecimiento). La selección del ADN depende de una proteína de la superficie de la bacteria que reconoce una secuencia del ADN igual a aquella ubicada en su propio cromosoma, y repetida en un alto número de copias.

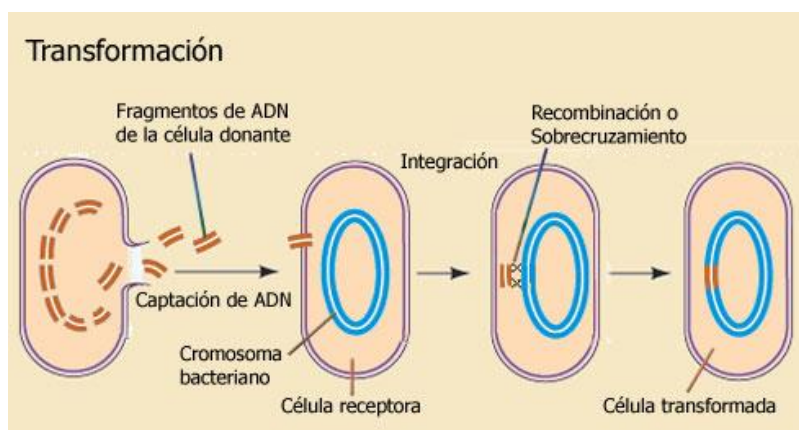


Figura 22. Transformación bacteriana.

Conjugación

La conjugación es un mecanismo de transferencia de genes de una bacteria a otra mediante el paisaje de plásmidos (Figura 23). Es muy efectivo para la diseminación de plásmidos entre bacterias gram negativas, gram positivas y entre ambas. Los

plásmidos se pueden clasificar en conjugativos que pueden transferirse por ellos mismos, y no conjugativos en los que los genes necesarios para su transferencia son codificados por el mismo plásmido, en un operón denominado *itra* (plásmidos tra⁺).

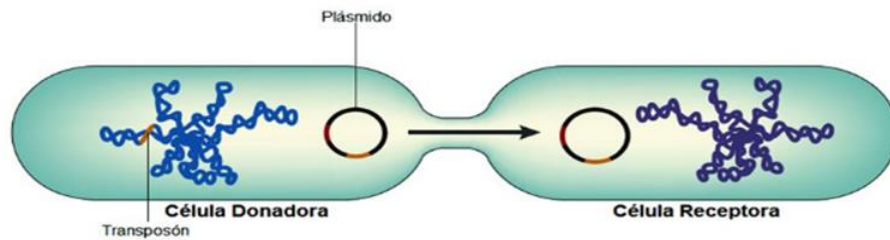


Figura 23. Conjugación bacteriana.

Varios de los genes involucrados en la propia transferencia de un plásmido se encuentran ubicados en transposones. Existen plásmidos que pueden ser movilizados de una célula a otra mediante los conjugativos

Las bacterias gram positivas efectúan la transferencia de plásmidos por un mecanismo símil-conjugación, ya que las células donantes y receptoras no se acoplan a través de los Pili, sino mediante una adhesina proteica (sustancia de agregación de *Enterococcus faecalis*). Dicha proteína se encuentra presente sobre la bacteria que contiene al plásmido y se une a un receptor que está sobre la superficie de todas las células de estas especies.

El transposón conjugativo es otro tipo de elemento genético que puede transferirse de una célula bacteriana a otra. Estos elementos sobre todo se han descrito en bacterias gram positivas. Generalmente se encuentran insertados en el cromosoma y se movilizan en forma independiente desde la célula donante a la receptora. Para su propia transferencia se escinden del genoma donante y adquieren una forma intermediaria libre circular de doble cadena que es clivada en una de sus cadenas y se moviliza hacia la bacteria receptora. Luego de la síntesis de la cadena complementaria la forma circular se integra en un nuevo sitio blanco del cromosoma de la célula receptora. Como los plásmidos conjugativos, algunos de estos transposones, pueden co-movilizar otras moléculas de ADN tales como plásmidos no conjugativos co-residentes en la misma célula.

Transducción

La transducción es el mecanismo de transferencia de genes de una bacteria a otra por medio de un bacteriófago como vector. El ciclo de multiplicación de un fago en una bacteria consta de las siguientes etapas (Figura 24):

1. Adherencia a la bacteria: los fagos se adsorben a receptores específicos sobre la superficie de la bacteria
2. Inyección del ADN del fago dentro de la célula
3. Replicación del genoma del fago
4. Síntesis de las macromoléculas que forman los componentes estructurales del fago
5. Empaquetado del ADN del fago dentro de las nuevas partículas virales
6. Liberación de los viriones.

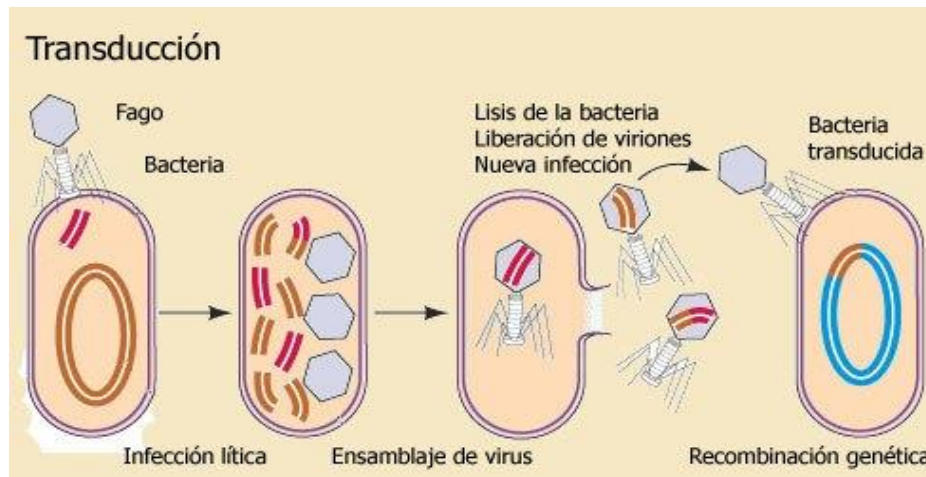


Figura 24. Transducción bacteriana

Durante la replicación, el ADN viral puede recombinarse con el ADN plásmidico o cromosomal de la bacteria. El ADN bacteriano contenido por un fago transductor se denomina exogenote. Cuando estos viriones transductores infectan a otra bacteria, le inyectan el exogenote y parte de este puede ser incorporado al genoma bacteriano.

La transducción se considera generalizada cuando cualquier gen o genes presentes en el genoma bacteriano tiene la misma probabilidad ser empaquetado dentro de la cápside viral.

Existen fagos temperados que se integran en estado de profago al cromosoma bacteriano. Esta integración se produce en sitios específicos llamados sitios de inserción o sitios *att*. Un fago integrado en el cromosoma bacteriano puede escindir-se. Cuando se produce la escisión del profago del cromosoma bacteriano para generar viriones infectivos solamente los genes próximos a los sitios *att* pueden ser transportados por medio de este mecanismo. Este tipo de transferencia de genes se denomina transducción especializada. La síntesis de las exotoxinas de *Corynebacterium diphtheriae* y de *Streptococcus pyogenes* depende de que las cepas estén infectadas por fagos lisogénicos. El proceso es reversible y el virus puede liberarse del cromosoma e iniciar un ciclo lítico. En este proceso pueden existir errores y a veces el genoma del fago lisogénico arrastra consigo alguno de los genes bacterianos adyacentes a su punto de integración que siempre es el mismo. Por eso los fagos así generados transducen con alta probabilidad estos genes y no otros a través de la transducción especializada.

EXPRESIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA DE LAS BACTERIAS: REGULACIÓN

La información contenida en la secuencia de bases de cada gen o grupo de genes relacionados del cromosoma o de los plásmidos se transcribe en un ARN mensajero. En el citoplasma, para expresar esas características, esa información se traduce a proteínas a través del código genético, que relaciona cada triplete de bases con un aminoácido. En las bacterias, la expresión de uno u otro gen está regulada y solo se

traducen los genes cuando las correspondientes proteínas son necesarias. Para simplificar esta regulación varios genes implicados en una misma vía metabólica se colocan en el genoma formando una única unidad de regulación u operón. El sustrato a degradar suele ser el que activa el operón, de forma que en su presencia se sintetizarán todas las enzimas de la vía y la transcripción de todos estos genes se inhibirá cuando la concentración del producto generado sea elevada. Algunos procesos se regulan a un nivel superior, activando o inhibiendo varios operones de forma coordinada. Se dice entonces que estos operones forman un regulón. Esto permite a la bacteria responder rápidamente para adaptarse a un factor que cambia en su ambiente, ya que un único estímulo externo o interno activa o inhibe varios operones. Cuando el estímulo es externo, debe ser transmitido por una proteína sensora que transmite la señal reguladora a través de la membrana hacia el citoplasma. *Shigella* spp. sintetiza o reprime la síntesis de factores de virulencia que le permiten invadir la pared intestinal según la temperatura externa. Las proteínas sensoras pueden servir también para evaluar la población de viables en bacterias patógenas (*quorum sensing*), y mediante intercambio de señales intercelulares los genes relacionados con la virulencia pueden activarse, o reprimirse a la vez en todas las bacterias de una misma población. Así es como la bacteria, cuando inicia un proceso infeccioso, adquiere mayor patogenicidad en relación a la inmunidad natural del huésped.

Genética de la resistencia a los antimicrobianos

Las bacterias son capaces de adquirir resistencia en función de su variabilidad genética. Nuevos mecanismos de resistencia se pueden adquirir mediante mutación o mediante transferencia de material genético entre células bacterianas de especies relacionadas o diferentes. Estos genes de resistencia pueden estar codificados en el material genético cromosómico o extracromosómico (plásmidos).

La resistencia a los antimicrobianos de codificación cromosómica se caracteriza por ser estable, perdurando en la cepa bacteriana que la ha adquirido. La frecuencia de mutación para un carácter de resistencia suele ser bajo, del orden de 10^{-9} . Esta baja frecuencia hace indispensable la presencia del factor de selección (antimicrobiano) para que se exprese.

Cuando una población bacteriana contiene células mutantes resistentes a un antimicrobiano, necesita ser expuesta a éste para que las células susceptibles sean eliminadas y las resistentes predominen en esta población. La baja frecuencia de mutación hace muy difícil que en una misma población bacteriana se encuentren resistencias cromosómicas asociadas. La resistencia cromosómica es más dificultosa de transferir entre bacterias que la plasmídica. La resistencia a los antimicrobianos de origen plasmídico se caracteriza por ser fácilmente transferible entre células bacterianas de especies relacionadas y aun de especies no relacionadas desde el punto de vista filogenético.

La transferencia horizontal, mediante elementos móviles extracromosómicos tiene una importancia epidemiológica significativa en la transmisión de resistencia a los antimicrobianos en comunidades cerradas como hospitales y establecimientos geriátricos. Se ha demostrado que la capacidad de resistir a la ampicilina adquirida por cepas de *Haemophilus influenzae* proviene de bacilos gram negativos del grupo de la

familia *Enterobacteriaceae*. **Esta capacidad de transferencia hace que una población bacteriana pueda transformarse en resistente a un determinado antimicrobiano aunque no haya sido sometida previamente a la presencia de esta droga.**

Como la replicación del ADN plasmídico es independiente de la duplicación celular, es habitual que se encuentren múltiples copias de estos plásmidos en una misma célula lo que asegura y mejora la actividad de la expresión del mecanismo de resistencia que codifican.

Algunos factores de resistencia están codificados en elementos genéticos transponibles o transposones. La resistencia los antimicrobianos codificada en transposones, tiene las características de la resistencia cromosómica en cuanto a su estabilidad, ya que frecuentemente está codificada en el cromosoma y suma las características de la plasmídica en cuanto es fácilmente transferible. Los transposones representan, además, una excelente herramienta para la "construcción" bacteriana de nuevos plásmidos que posean múltiples factores de resistencia.

CAPÍTULO 4

ANTIMICROBIANOS

El tratamiento rápido con antimicrobianos puede suponer para el paciente infectado la diferencia entre la curación y la muerte o la discapacidad crónica. Desafortunadamente, el uso y el abuso de los antimicrobianos han producido una expansión incesante de los microorganismos resistentes, con la consiguiente pérdida de eficacia de estos fármacos. Debido a su disponibilidad generalizada, a su costo generalmente bajo y a su relativa seguridad, los antimicrobianos se encuentran entre los medicamentos que más se utilizan de forma incorrecta. La mejora de las decisiones sobre el uso de los antimicrobianos requiere en última instancia una orientación de las decisiones terapéuticas hechas por los pacientes y los prestadores de atención sanitaria.

Los antimicrobianos de utilización clínica pueden ejercer su actividad por diferentes mecanismos de acción (Figura 25):

1. **Inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana**
2. **Alterando la integridad de la membrana citoplasmática**
3. **Bloqueando la síntesis o las funciones de los ácidos nucleicos**
4. **Impidiendo la síntesis de proteínas**
5. **Inhibiendo vías metabólicas**

Existen también antimicrobianos que protegen a otros de las enzimas hidrolíticas bacterianas, como los **inhibidores de las β -Lactamasas**.

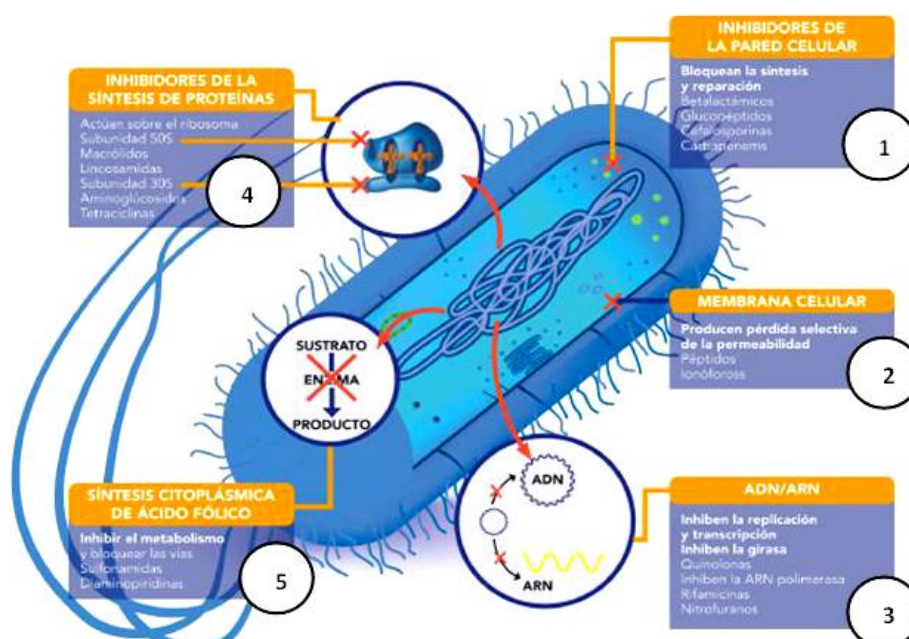


Figura 25. Mecanismo de acción de los antimicrobianos

CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS SEGÚN SU MECANISMO DE ACCIÓN

Los antimicrobianos atraviesan la cubierta bacteriana para alcanzar su sitio de acción, salvo cuando la diana es la envoltura externa de los microorganismos gram negativos. Las bacterias gram negativas ofrecen mayor resistencia que las gram positivas a la entrada de los antimicrobianos, ya que poseen una membrana celular externa que rodea la capa de peptidoglicano. Esa membrana desempeña un importante papel de barrera frente a algunos compuestos. A través de sus porinas difunden de forma pasiva pequeñas moléculas hidrofílicas (peso molecular < 600 Da) y se impide el paso de otras como los glucopéptidos (peso molecular >1.000 Da). En las bacterias gram positivas el límite de exclusión es de 100 kDa (mayor que la mayoría de los antimicrobianos).

1. Inhibición de la síntesis de la pared celular

Los antibióticos pertenecientes a este grupo constituyen una familia extensa de ATB y son los muy utilizados en la práctica clínica. Son ATB bactericidas y de amplio espectro. Inhiben la síntesis de la pared bacteriana. El mecanismo de acción se basa en la inhibición de la última etapa de la síntesis de la pared celular. Estos ATB se unen a enzimas conocidas como PLP (proteínas ligadoras de penicilina), necesarias para la síntesis del peptidoglucano e interrumpen la síntesis de la pared celular. Además, activan enzimas líticas (autolisinas) que llevan a la muerte bacteriana. Los glucopéptidos y lipopéptidos inhiben la última etapa de síntesis y ensamblado del peptidoglucano de la pared celular y dañan los protoplastos bacterianos alterando la permeabilidad de la membrana citoplasmática y la síntesis de RNA.

Actúan alternando la síntesis de la pared bacteriana:

- β -lactámicos: penicilinas, aminopenicilinas, cefalosporinas
- Glucopéptidos y lipopéptidos
- Carbapenemes
- Fosfomicina

2. Alteración de la integridad de la membrana citoplasmática

Los ATB que afectan la membrana celular modifican la permeabilidad y provocan la salida de electrolitos; actúan como detergentes catiónicos, llevando a la desestabilización y disrupción de la membrana. Este cambio altera la composición del medio intracelular y lleva a la muerte bacteriana (Figura 26). Ejemplos de ATB que actúan sobre la membrana plasmática son:

- Polimixinas
- Lipopéptidos

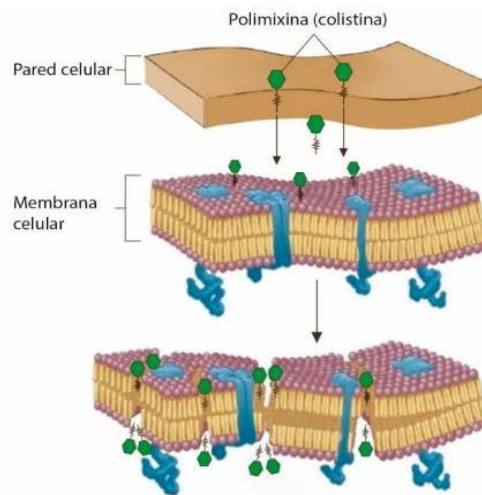


Figura 26. Alteración de la integridad de la membrana plasmática

3. Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos

Los ATB que actúan como inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos se unen a enzimas que participan en las etapas de transcripción y replicación del ADN (polimerasas, topoisomerasas, ADN girasas) impidiendo que el proceso continúe (Figura 27). Algunos antibióticos son capaces de actuar sobre el ADN produciendo un daño directo. Ejemplos de ATB que actúan como inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos:

- Rifamicinas
- Quinolonas
- Nitrofuranos
- Nitroimidazoles

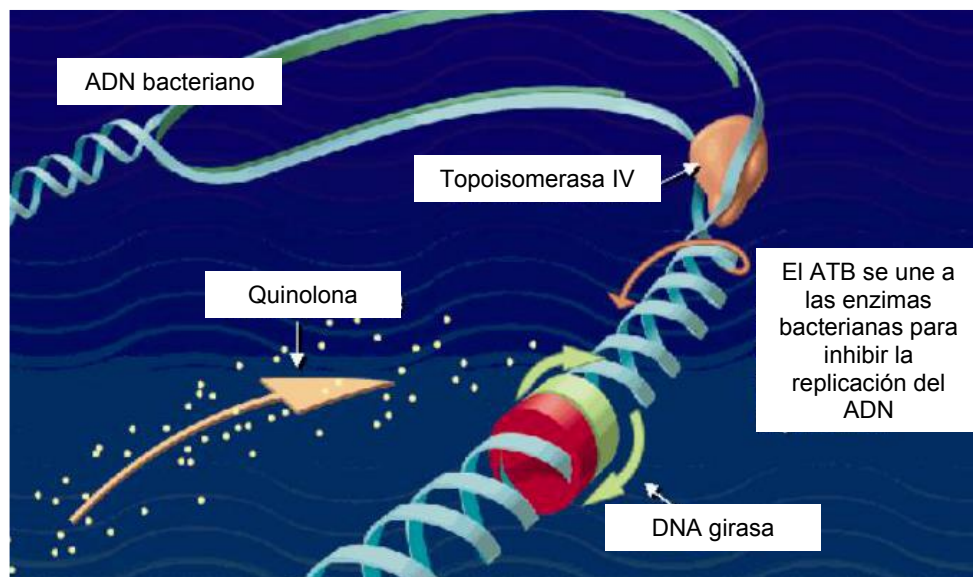


Figura 27. Mecanismo de acción de las quinolonas sobre la síntesis de ácidos nucleicos

4. Inhibición de la síntesis de proteínas

Una amplia variedad de antibióticos actúa inhibiendo la síntesis proteica. Esta inhibición es selectiva, gracias a las diferencias estructurales entre los ribosomas bacterianos y eucariotas.

Los antibióticos pueden unirse al ribosoma bacteriano, inhibir el inicio de la transcripción, bloquear la unión del ARNt con el ARNm, bloquear la traslocación dentro del ribosoma, para inhibir finalmente la síntesis proteica (Figura 28). Ejemplos de ATB que actúan en esta etapa son:

- Aminoglucósidos
- Tetraciclinas - Glicilciclinas
- Lincosamidas
- Macrólidos/Cetólidos
- Fusidanos
- Polipéptidos
- Oxazolidinonas

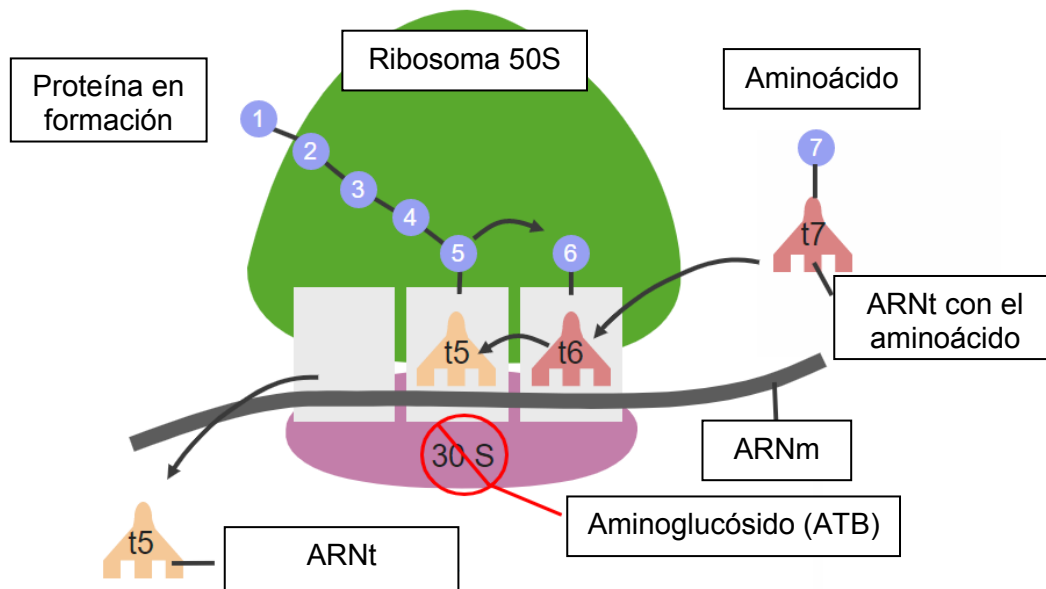


Figura 28. Mecanismo de acción de los aminoglucósidos

5. Acción sobre vías metabólicas

Muchas bacterias utilizan la vía de síntesis de folatos para la síntesis de purinas y por lo tanto de ácidos nucleicos, ya que son incapaces de obtener el ácido fólico del medio externo. Los ATB que actúan inhibiendo esta vía metabólica son las sulfamidas y la trimetoprima. Las sulfamidas actúan como antimetabolito compitiendo con el ácido paraaminobenzoico (PABA) por la enzima Dihidropteroato sintasa. Trimetoprima inhibe de forma reversible la enzima dihidrofolato reductasa bacteriana. La combinación de ambos tipos de ATB, trimetoprima y sulfametoxazol, actúa sinérgicamente bloqueando dos etapas consecutivas de esta vía metabólica esencial para muchas bacterias (Figura 29).

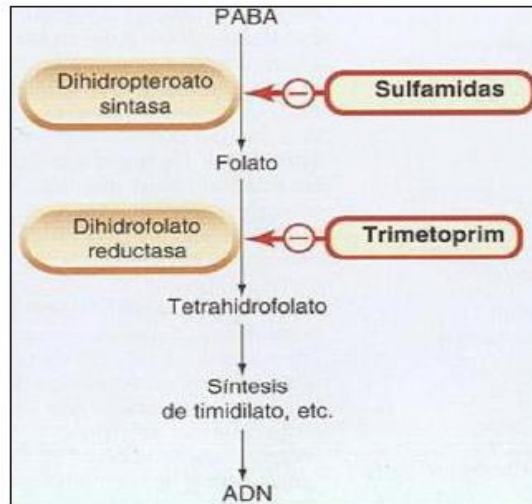


Figura 29. Acción de la trimetoprima sulfametoxazol sobre vías metabólicas

CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS ANTIBIÓTICOS DE USO FRECUENTE

Las características generales de los antibióticos (ATB) de uso frecuente en medicina humana son las siguientes:

β-lactámicos

Los ATB β-lactámicos tienen afinidad por las carboxipeptidasas y transpeptidasas involucradas en las etapas finales de la síntesis de la pared bacteriana. Estas enzimas se conocen como proteínas ligadores de penicilina (PLP o PBP). La unión de los β-lactámicos a las PLP inhibe el entrecruzamiento de las moléculas lineales precursoras del péptidoglicano. La actividad bactericida sucede por la activación de enzimas asociadas a la membrana celular (autolisinas) que destruyen la pared bacteriana. Por ello, todos los ATB pertenecientes a este grupo son bactericidas.

Dentro de esta familia de ATB encontramos las **penicilinas**, las **cefalosporinas**, los **carbapenemes** y los inhibidores de las β-lactamasas.

Las penicilinas forman una familia de antibióticos derivados del ácido 6-amino-penicilánico. Dentro de aquellas de uso frecuente podemos mencionar a la **penicilina**, las **aminopenicilinas (amoxicilina, ampicilina)**, la **acil ureido penicilina (piperacilina)**.

Las cefalosporinas derivan del ácido 7-amino-cefalosporánico. De acuerdo al orden temporal en que fueron desarrolladas, y por su espectro de actividad se las clasifica en generaciones: **primera (cefazolina, cefalotina, cefalexina)**, **segunda (cefuroxima)**, **tercera (ceftriaxona, cefotaxima, ceftazidima)**, **cuarta (cefepime)** y **quinta (ceftarolina, ceftolozano, ceftobiprol)**

Los carbapenemes son derivados de la tienamicina, entre los que podemos citar a **imipenem** y **meropenem**. Los inhibidores de las β-lactamasas se unen directamente a estas enzimas y las inactivan; son inhibidores suicidas porque

ocupan el centro activo de la β -lactamasa y son hidrolizados, permitiendo que otro β -lactámico presente en el medio no sea degradado y preserve así su actividad bactericida; como ejemplos de este grupo podemos mencionar a **sulbactam**, **ácido clavulánico**, **tazbactam** y **avibactam**.

Glucopéptidos y lipopéptidos

A esta familia de ATB pertenecen la **vancomicina** y la **teicoplanina (glucopéptidos)** y la **daptomicina (lipopéptido)**. Inhiben la síntesis de la pared bacteriana en la cara externa de la membrana celular cuando una unidad de N-acetil gluosamida-N-acetil murámico-pentapéptido se une a otra para alargar la molécula lineal.

Aminoglucósidos

Estas drogas estructuralmente contienen 2 o más aminoazúcares. Su efecto bactericida sucede por bloqueo de la síntesis de proteínas; el blanco de acción es la subunidad 30S ribosomal. La entrada de estos compuestos a la célula bacteriana se facilita en presencia de β -lactámicos. Ejemplos de ATB de esta familia: **gentamicina**, **amikacina**, **estreptomina**, **tobramicina**.

Tetraciclinas y glicilciclinas

Son antibióticos bacteriostáticos que bloquean estéricamente la unión de los aminoacil-ARNt al sitio aceptor en los ribosomas e inhiben la síntesis de polipéptidos. Existen tres generaciones de tetraciclinas: primera generación (**tetraciclina**), segunda generación (**minociclina**, **doxiciclina**) y tercera generación o glicilciclinas (**tigeciclina**).

Lincosamidas

La **clindamicina** está compuesta por aminoácidos unidos a aminoazúcares que se unen a la subunidad 50S de los ribosomas bacterianos inhibiendo la síntesis proteica.

Rifamicinas

A esta familia pertenece la **rifampicina**, derivado semisintético de la rifamicina y antibiótico macrocíclico complejo que inhibe la síntesis de ARN. Actúa al inicio de la fase de transcripción: bloquea la síntesis del ARN bacteriano fijándose en la ARN-polimerasa bacteriana para formar un complejo estable fármaco-enzima; de esta forma, la unión del fármaco suprime la formación de cadenas en la síntesis de ARN.

Macrólidos

Los macrólidos (**eritromicina**, **azitromicina**, **claritromicina**, **espiramicina** y otros). Se unen a la subunidad 50S de los ribosomas e inhiben la síntesis de proteínas por bloqueo de la traslocación de la elongación de la cadena peptídica.

Oxazolidinonas

Las oxazolidinonas, como el **linezolid**, son una nueva clase de antimicrobianos que producen una inhibición de la síntesis proteínica fijándose a la subunidad 50S ribosómica, y de la formación del complejo de iniciación 70S.

Quinolonas

Las quinolonas constituyen un grupo químicamente muy heterogéneo. Son antibióticos bactericidas que actúan inhibiendo las topoisomerasas, enzimas que catalizan el superenrollamiento del DNA cromosómico y que aseguran una adecuada división celular. Las fluorquinolonas (**norfloxacin**, **ciprofloxacina**, **levofloxacina** y otras) son las quinolonas más nuevas; presentan un átomo de flúor en la posición 6 del núcleo de la quinolona.

Fusidanos

A este grupo pertenece el **ácido fusídico**, que actúa inhibiendo la síntesis proteica bacteriana mediante el bloqueo del factor de elongación G (FEG), evitando que éste se una a los ribosomas y a la GTP (guanosina trifosfato), lo que da como resultado la inhibición tanto de la translocación de péptidos como del desmontaje de ribosomas.

Nitrofuranos

Entre los nitrofuranos de uso frecuente, se encuentra la **nitrofurantoína** y la **furazolidona**; actúan bloqueando la síntesis proteica en la Unidad ribosomal 50S, rompe las cadenas de ADN y bloquea la actividad de la acetil-coenzima A.

Nitroimidazoles

Metronidazol es un nitroimidazol que actúa sobre las proteínas que transportan electrones en la cadena respiratoria de las bacterias anaerobias, mientras que en otros microorganismos se introducen entre las cadenas de ADN, inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos.

Sulfamidas y trimetoprima

Ambos interfieren con la biosíntesis de ácido fólico. Las sulfamidas (sulfametoxazol) son análogos estructurales del ácido p-aminobenzoico y compiten por el sitio activo de la tetra-hidropteroato-sintetasa. La trimetoprima es un análogo del ácido dihidrofólico y compite por la dihidrofólico-reductasa. Cuando se administran en combinación sulfamidas y trimetoprima (**sulfametoxazol + trimetoprima**) ocurre una acción sinérgica al inhibir dos pasos consecutivos en el metabolismo del folato.

Polipéptidos

Tienen actividad bactericida y actúan como detergentes de la membrana celular de las bacterias, aumentando la permeabilidad por interacción con los fosfolípidos de la membrana y provocando su destrucción de la membrana celular bacteriana. Dentro de este grupo encontramos la **polimixina** y la **colistina**.

MECANISMOS DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA

La resistencia bacteriana a los antimicrobianos (RAM) es la capacidad de una bacteria de sobrevivir a los efectos bactericidas o bacteriostáticos de un ATB. La RAM es un problema de salud mundial que se encuentra en constante evolución: frecuentemente se reportan nuevos mecanismos de resistencia bacteriana a los antibióticos, tanto en bacterias gram negativas como en gram positivas.

La presencia de resistencia en una bacteria causante de infección disminuye las posibilidades de obtener la curación clínica y la erradicación bacteriológica e incrementa los costos del tratamiento, la morbilidad y la mortalidad; por lo que es importante seleccionar el tratamiento adecuado, no solo para lograr la curación del paciente sino para evitar la emergencia de la RAM.

Resistencia natural y resistencia adquirida

La resistencia antibiótica puede ser natural o adquirida (Tabla 3). La **resistencia natural** es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano y su aparición es previa al uso de los antibióticos. Por ejemplo, todos los gérmenes gram negativos son resistentes a la vancomicina y esta situación no es variable. Se transmite de forma vertical de generación en generación. La **resistencia adquirida** es variable y es adquirida por una cepa de una especie bacteriana. Esta resistencia puede llevar a un fracaso terapéutico cuando se utiliza un ATB supuestamente activo sobre la bacteria que produce la infección. La aparición de RAM en una bacteria puede producirse a través de mutaciones, por cambios en la secuencia de bases del cromosoma, o por transmisión de material genético extracromosómico procedente de otras bacterias. En este último caso, la transferencia de genes se realiza horizontalmente a través de plásmidos u otro material genético móvil como transposones e integrones.

La **transferencia horizontal de genes** (THG) es el principal mecanismo de expansión de genes de resistencia a los antibióticos ya que, no solo permite la transmisión a otras generaciones, sino también a otras especies bacterianas. De esta forma una bacteria puede adquirir resistencia a uno o varios antibióticos sin necesidad de haber estado en contacto con estos. Es importante destacar que las bacterias pueden presentar simultáneamente más de un mecanismo de resistencia a los antibióticos.

Tabla 3. Principales características de la resistencia natural y la resistencia adquirida

	Resistencia natural	Resistencia adquirida
Características	Resistencia propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. El sitio de acción está ausente o es inaccesible	Variable. Puede estar presente en una cepa bacteriana habitualmente sensible al antibiótico
Mecanismos de adquisición	Genes de resistencia	Mutaciones en el cromosoma bacteriano. Elementos genéticos móviles: plásmidos, transposones
Formas de transmisión	Vertical (a las células hijas)	Vertical (a las células hijas) Horizontal a través de elementos genéticos móviles

Las bacterias presentan RAM por diversos mecanismos (Figura 30):

1. **Modificación enzimática del antimicrobiano:** impiden la acción del antibiótico después de su entrada a la célula.
2. **Impermeabilidad:** evitan la penetración del antibiótico a la célula
3. **Modificación del blanco de acción:** cambian la conformación del blanco de acción de manera que ya no sea reconocido por el antibiótico.
4. **Eflujo:** reducen la concentración intracelular del antibiótico mediante su bombeo hacia el exterior de la célula.

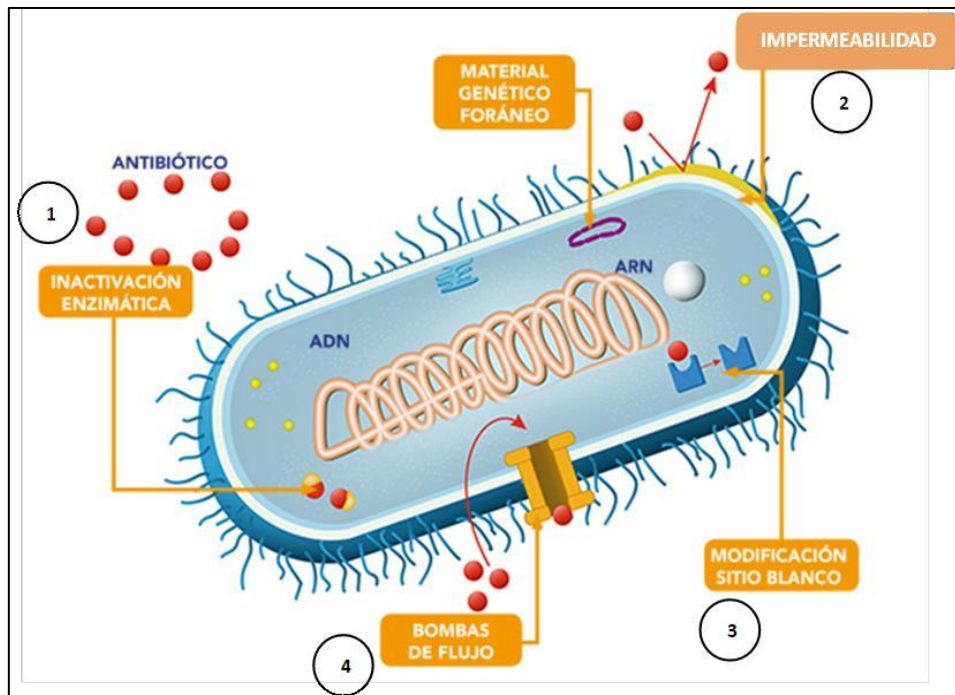


Figura 30. Principales mecanismos de resistencia a los antimicrobianos

1. Modificación enzimática

Existen numerosas enzimas bacterianas que pueden hidrolizar o modificar a un ATB, de manera que éste no pueda llegar de forma activa a su sitio de acción.

a. Inactivación enzimática de los β -lactámicos: β -lactamasas

La producción de β -lactamasas es uno de los principales mecanismos de RAM, especialmente en bacterias gram negativas. Estas enzimas son capaces de inactivar a los antibióticos β -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactames y carbapenemes). Los genes que codifican a las β -lactamasas pueden encontrarse como parte constitutiva del cromosoma de algunas especies bacterianas o en el ADN plasmídico. En este último caso, el gen de resistencia puede transferirse entre distintas especies.

Los antibióticos β -lactámicos interactúan con dos grupos principales de enzimas bacterianas:

- enzimas de la síntesis de la pared celular: PLP (o PBP)
- enzimas que inactivan a los agentes β -lactámicos

Las β -lactamasas hidrolizan el enlace amida del anillo β -lactámico, constituyendo la principal causa de resistencia a los antibióticos β -lactámicos. Son producidas por bacterias gram positivas y gram negativas. En las gram positivas las β -lactamasas son liberadas en altos niveles al medio externo; en las bacterias gram negativas se encuentran casi exclusivamente en el espacio periplásmico.

Los genes que codifican las β -lactamasas pueden estar localizados en el cromosoma bacteriano como las cefalosporinasas de tipo *AmpC* de las enterobacterias. Los genes codificantes también pueden estar localizados en elementos extra-cromosomales como plásmidos, transposones e integrones que permiten su rápida diseminación horizontal intra o intergénero y especie. Este evento cobra relevancia en comunidades cerradas como hospitales y geriátricos y guarderías.

Hay numerosos tipos de betalactamasas descritas, algunas son específicas para penicilinas (penicilinasas) o cefalosporinas (cefalosporinasas), otras como las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) pueden afectar a varios ATB betalactámicos. En particular, las betalactamasas bacterianas que hidrolizan los carbapenemes (un grupo de betalactámicos) reciben el nombre de carbapenemasas, y actualmente representan el mayor reto infectológico, porque inactivan a todos o casi todos antibióticos betalactámicos además de que las cepas que las poseen en general presentan resistencia a otras familias de antibióticos.

Las β -lactamasas pueden actuar como:

- ♦ **penicilinasas**, activas principalmente frente a las penicilinas
- ♦ **cefalosporinasas**, con mayor actividad frente a las cefalosporinas que a las penicilinas
- ♦ **β -lactamasas de espectro ampliado (BLEA)**, activas frente a penicilinas y cefalosporinas de primera generación
- ♦ **β -lactamasas de espectro extendido (BLEE)**, activas también frente a las cefalosporinas de tercera generación. Aparecen de manera predominantes en enterobacterias, principalmente en *Klebsiella* spp. y *Escherichia coli*, aunque se han diseminado a otras especies
- ♦ **carbapenemasas** con capacidad hidrolítica frente a los carbapenemes (imipenem, meropenem, ertapenem). Estas enzimas inactivan a todos o casi todos los β -lactámicos y las cepas presentan generalmente multirresistencia a las otras familias de antibióticos. Muchas de las enzimas que se denominan como carbapenemasas confieren resistencia no sólo a carbapenemes sino también a otros β -lactámicos. Las cepas bacterianas con enzimas adquiridas que hidrolizan carbapenemes son infrecuentes, aunque en la actualidad se están comunicando con mayor frecuencia. Existen distintos tipos de carbapenemasas, como Sme, NMC-A, IMI y KPC. Excepto KPC, todas hidrolizan imipenem y meropenem, penicilinas, cefalosporinas de primera generación y aztreonam, pero no cefalosporinas de tercera generación (cefotaxima, ceftriaxona y ceftazidima) y los genes codificantes han sido

hallados en el cromosoma bacteriano. La KPC también hidroliza todas las cefalosporinas de tercera generación.

- ♦ Las **metalo-β-lactamasas (MBL)** adquiridas en bacilos gram negativos se han convertido en un reto terapéutico ya que, estas enzimas, presentan un amplio perfil de hidrólisis de sustratos que incluye carbapenemes y beta-lactámicos de amplio espectro.

La diseminación de carbapenemasas del tipo KPC o MBL se produce por plásmidos, teniendo por lo tanto una rápida diseminación intra o inter género.

Estos mecanismos de resistencia tienen relevancia clínica por los fracasos terapéuticos en los pacientes infectados con cepas portadoras de MBL o KPC.

La letalidad de las infecciones invasivas por *K. pneumoniae* productora de MBL oscila entre el 47 y el 68%. Dada la rápida diseminación de las cepas portadoras de MBL o KPC en los hospitales, es fundamental su pronta detección desde el Laboratorio de Microbiología y la consecuente implementación de medidas de prevención

b. Enzimas modificadoras de aminoglucósidos

Estas enzimas pueden estar codificadas en plásmidos y en el cromosoma; la mayoría reside en transposones. Según la modificación que inducen se pueden dividir en: aminoglucósido-acetil-transferasas; adenil-transferasas o nucleotidil-transferasas y fosfo-transferasas.

2. Impermeabilidad

Una bacteria puede desarrollar impermeabilidad a un antibiótico al que originariamente era susceptible. La impermeabilidad adquirida es en general de codificación cromosómica y sucede por mutación en los genes que codifican las porinas en las bacterias gram negativas. Las porinas son proteínas de membrana de la bacteria que están especializadas en el transporte de sustancias al interior celular. Ciertos ATB pueden utilizar las porinas bacterianas para ingresar al medio intracelular. Diversas mutaciones en los genes que codifican a las porinas pueden alterar su estructura o disminuir su expresión, impidiendo así el ingreso del ATB. Este mecanismo de resistencia es propio de bacterias gram negativas. Las alteraciones de la permeabilidad pueden afectar simultáneamente a distintos antibióticos no relacionados por un mismo mecanismo de acción y originar multirresistencia antimicrobiana.

3. Modificación del blanco de acción

Ciertas bacterias son capaces de modificar la molécula blanco a la cual se une el ATB para ejercer su acción; de esta manera, la afinidad del ATB por su sitio de unión a la molécula blanco disminuye o desaparece. Un ejemplo de este mecanismo es *Staphylococcus aureus* resistente a la metililina (SAMR). Esta bacteria produce una molécula blanco-modificada y en consecuencia, el ATB se une con menos afinidad y la bacteria se vuelve resistente al ATB. Las cepas SAMR presentan resistencia a casi todos los β-lactámicos.

i. **Gen/cassette *mecA* de *Staphylococcus***

El determinante genético de resistencia a meticilina en *Staphylococcus* es el gen *mecA*, de localización cromosómica, que codifica la síntesis de una proteína ligadora de penicilina diferente, denominada PBP2a (Figura 31).

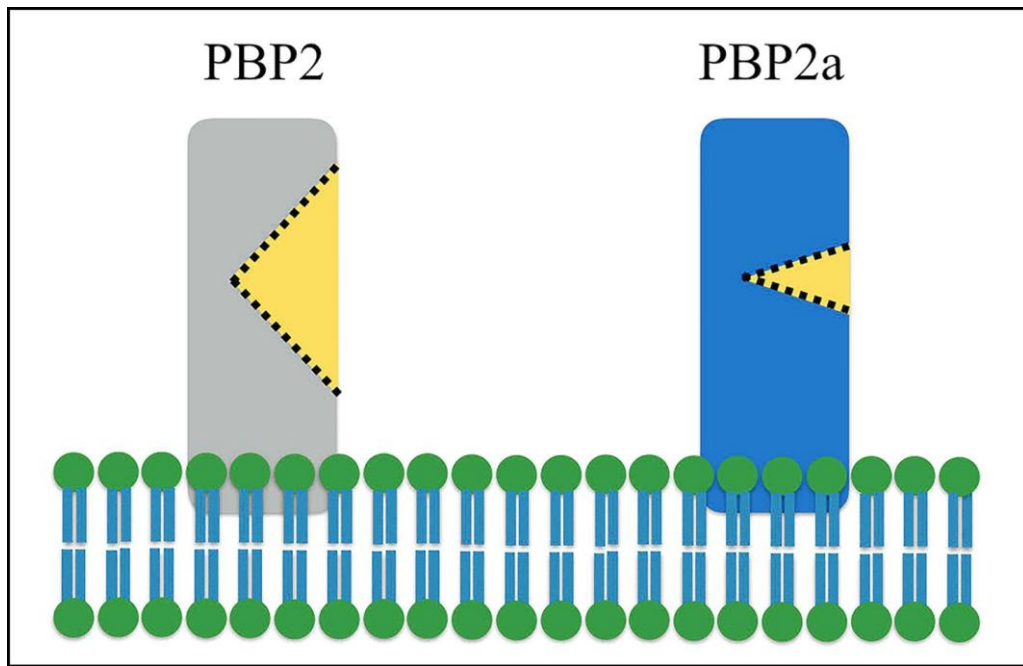


Figura 31. Proteínas ligadoras de penicilina (PBP o PLP): PBP2 y PBP2a

El gen *mecA* se encuentra inserto en un *cassette* (SCCmec) que porta dos genes reguladores: el gen *mecR1* (regulador de la señal de transducción del gen *mecA*) y el gen *mecI* (codifica la proteína represora de la transcripción del gen *mecA*). La transcripción del gen *mecA* sucede cuando el antimicrobiano β -lactámico se liga al receptor-dominio de unión a penicilina de la membrana celular que está codificado por el gen *mecR1*, y entonces la proteasa autocatalítica se une al gen *mecI*, bloquea la región operadora de *mecA*, siendo posible la expresión de PBP2a originando resistencia a TODOS los antimicrobianos β -lactámicos. Las cepas de *Staphylococcus aureus* que portan el SCCmec son conocidas como **SARM** (*S. aureus* resistentes a meticilina).

El SCCmec es un elemento genético móvil, inserto en el cromosoma en una localización específica, en el extremo 3' del fragmento de lectura abierta (ORF). Hasta el momento, se han descrito ocho tipos de SCCmec (I-VIII). Los diferentes tipos varían en la composición genética y en el tamaño.

Los tipos más pequeños, SCCmec IV, V, VI y VII contienen sólo genes reguladores para resistencia a meticilina, por el contrario, los tipos SCCmec I, II y III llevan elementos de transposición y genes que codifican resistencia a antibióticos no β -lactámicos. Los tipos IV, V, VI y VII causan infecciones (piel y partes blandas, pulmón) en la comunidad (SARM-Co), con resistencia a β -

lactámicos, sin resistencia acompañante a otros antimicrobianos. Los tipos I, II y III son agentes de infecciones intrahospitalarias o asociadas a cuidados de la salud (SAMR-H); el SCCmec también codifica resistencia a otros antimicrobianos (quinolonas, macrólidos, aminoglucósidos).

ii. Resistencia a glucopéptidos en *Enterococcus* spp.

El género *Enterococcus* se caracteriza por su resistencia intrínseca a múltiples antimicrobianos de utilización clínica: aminoglucósidos, lincosamidas, cefalosporinas. Los glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina) constituyen frecuentemente la única alternativa terapéutica para las infecciones producidas por este género de bacterias. Sin embargo, en la última década, han emergido cepas resistentes a este grupo de antimicrobianos como patógenos humanos.

La resistencia a los glucopéptidos en *Enterococcus* está mediada por *clusters* génicos; están descritos ocho operones (*vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL* y *vanM*). *vanA*, *vanB* y *vanM* presentan resistencia de alto nivel a vancomicina (CIM ≥ 128 mg/L). Además, *vanA* y *vanM* generan fenotipos con alto nivel de resistencia a teicoplanina, aunque se han detectado excepciones. *vanB* expresa poca o ninguna resistencia a teicoplanina (CIM ≤ 1 mg/L). El genotipo *vanD* expresa niveles moderados de resistencia a vancomicina (CIM 16-128 mg/L) y susceptibilidad a teicoplanina, y *vanC*, *vanE*, *vanL* y *vanG* codifican bajo nivel de resistencia a vancomicina.

Todos los fenotipos comparten un mecanismo de resistencia muy similar. Los fenotipos *vanA* y *vanB* tienen importancia epidemiológica por su transferencia horizontal y por estar presentes en las especies *Enterococcus faecalis* y *E. faecium*, que son las más frecuentemente recuperadas en infecciones localizadas e invasivas.

4. Bombas de eflujo

Las bombas de eflujo son proteínas de membrana encargadas del transporte de metabolitos y compuestos tóxicos desde el interior de las bacterias al exterior. Por medio de este mecanismo, las bacterias pueden expulsar al ATB, reduciendo la concentración del ATB dentro de la bacteria con una velocidad igual o mayor que la velocidad de entrada del mismo.

Este tipo de resistencia afecta a diferentes grupos de antibióticos: β -lactámicos, quinolonas, tetraciclinas, macrólidos.

Multirresistencia, resistencia extrema y pandroga-resistencia

Existe una relación directa entre la utilización de ATM y la resistencia bacteriana. Las bacterias desarrollan mecanismos de resistencia a través de mutaciones espontáneas o mediante la adquisición de genes. La transferencia horizontal (conjugación, transducción, transformación) permite el intercambio de información genética entre los integrantes de la microbiota bacteriana.

Las bacterias pueden presentar simultáneamente más de un mecanismo de RAM. La coexistencia de varios mecanismos puede dar lugar a bacterias multirresistentes, bacterias con resistencia extrema o bacterias pandroga resistentes a los antibióticos

Desde un enfoque microbiológico se consideran tres situaciones globales en la resistencia bacteriana a los antibióticos de utilización clínica: la multirresistencia, la resistencia extrema y la pandroga resistencia. Es fundamental que el médico conozca estos conceptos, dada su implicancia clínica y epidemiológica.

❖ **Multirresistencia (MDR)**

Una cepa es multirresistente cuando presenta resistencia al menos a 1 antibiótico de 3 o más diferentes familias de antibióticos.

❖ **Resistencia extrema (XDR)**

Una cepa tiene resistencia extrema cuando expresa resistencia al menos a un antibiótico en todas las familias, excepto en dos familias de antibióticos.

❖ **Pandroga resistencia (PDR)**

Una cepa es pandroga resistente cuando presenta resistencia a todos los antibióticos en todas las familias de antibióticos.

El uso adecuado de estas definiciones permite una mejor comprensión de la extensión del problema de la resistencia y hace posible la comparación de los datos de vigilancia epidemiológica entre instituciones, regiones y países. Para lograr diseñar y llevar a cabo intervenciones dirigidas cuyos resultados puedan ser medidos, es imprescindible que la información acerca de la resistencia a los antimicrobianos se organice en un conocimiento específico de las características y la magnitud del problema.

Cuando un paciente internado está colonizado o infectado con un microorganismo multirresistente, con resistencia extrema o pandroga resistencia, debe procederse a su aislamiento inmediato según las normas de Bioseguridad, para evitar su diseminación a otros individuos dentro de la Institución de Salud.

En la tabla 4 se resumen los principales mecanismos de resistencia de los antimicrobianos de uso frecuente en medicina.

Tabla 4. Mecanismos de resistencia de los antimicrobianos de uso frecuente.

ANTIMICROBIANO	SITIO/DIANA	MECANISMO DE RESISTENCIA
β- lactámicos	β - lactamasa PBP2a	-Hidrólisis enzimática del núcleo β - lactámico -Baja afinidad para PBPs
Aminoglucósidos	RNAr 30S	-Modificación por acetiltransferasas, adeniltransferasas o alteración ribosomal de las fosfotransferasas
Fluoroquinolonas	DNA girasa	-Mutaciones en los genes de la DNA girasa -Bombas de expulsión, mutaciones en el gen de la DNA topoisomerasa IV
Fusidanos	Factor de elongación G	-Alteración en el factor de elongación G / disminución de la permeabilidad
Glucopéptidos y Lipopéptidos	Complejos D- Ala-D-Ala	-Secuestro por la pared celular
Macrólidos, lincosamidas	RNAr 50S	-Metilación del RNAr -Bombas de expulsión
Oxazolidinonas	RNAr 50S	-Inhibición de la formación del complejo de iniciación 70S
Rifamicinas	Subunidad β de la RNA polimerasa	-Alteraciones en la RNA polimerasa
Tetraciclinas y glicilciclinas	RNAr 30S	-Bombas de expulsión -Protección ribosomal
Nitrofuranos	RNAr 50S	-Bloqueo de la síntesis proteica en el ribosoma, rompe las cadenas de ADN -Inhibición de la síntesis de carbohidratos por bloqueo de la acetil-coenzima A
Nitroimidazoles	Proteínas transportadoras de electrones de la cadena respiratoria	-Inhibe la síntesis de DNA
Sulfonamidas	Síntesis de ácido tetrahidrofólico	-Sobreproducción de ácido p-aminobenzoico
Trimetoprima	Síntesis del ácido tetrahidrofólico	- <i>Bypass</i> , por una dihidrofolato reductasa

CAPÍTULO 5

PATOGENIA BACTERIANA

Desde su nacimiento el ser humano es colonizado por un gran número de bacterias y otros microorganismos. Esta interacción de las bacterias con el hombre puede resultar indiferente, beneficiosa o perjudicial. Si bien no existe ninguna regla establecida, dividiremos a las bacterias que colonizan al ser humano en dos grandes grupos, uno que abarca los microorganismos capaces de convivir con el hombre sin causar daño (microbiota comensal) y otro que comprende a los que producen enfermedades (patógenos).

Definiremos como **microbiota normal** a aquellos microorganismos que habitan normalmente en los individuos sanos, sin provocar invasión. Se la llama también microbiota indígena, nativa o autóctona del hombre. Su composición varía de un individuo a otro.

La **microbiota normal** constituye un ecosistema que desempeña un papel importante en la protección del huésped ante la invasión por microorganismos patógenos. Sus mecanismos protectores son: 1) competición por los mismos nutrientes (interferencia), 2) competición por los mismos receptores en las células del huésped (tropismo), 3) síntesis de productos secretados, como bacteriocinas (antibióticos), que son tóxicos para otros microorganismos, por lo general de la misma especie, 4) producción de ácidos grasos volátiles u otros metabolitos que son tóxicos para los microorganismos competidores, 5) estimulación continua del sistema inmunitario para mantener niveles bajos, pero constantes, de la expresión de la molécula de histocompatibilidad de clase II (HLA-DR) en macrófagos y otras células presentadoras de antígenos, y 6) estimulación de los factores inmunitarios de protección cruzada, como los anticuerpos naturales. El efecto último de los tres primeros mecanismos protectores consiste en limitar la cantidad o el predominio de cualquier otra especie.

Si bien los microorganismos que normalmente integran la microbiota comensal normal habitualmente no causan ningún efecto, la mayoría de los patógenos responsables de las enfermedades infecciosas humanas son derivados de este grupo. La administración de ATM de amplio espectro disminuye el número total de bacterias en el intestino. Esta actividad da como resultado una proporción aumentada de especies micóticas, en general comensales, y de cepas bacterianas resistentes. Cuando la administración del ATM cesa, se produce un rebrote natural y el intestino es repoblado. Sin embargo, hay una ventaja selectiva para las enterobacterias aerobias de rápido crecimiento sobre los anaerobios, que poseen una multiplicación más lenta. Esta ventaja aumenta la probabilidad de desarrollar una bacteriemia por bacterias gram negativas. Casi todos los microorganismos colonizadores son transitorios, pero algunos persisten durante toda la vida, lo que supone que el costo biológico para el huésped y el microorganismo es bajo.

La microbiota normal puede clasificarse en dos grandes grupos:

- a) **Microbiota residente o invariable:** compuesta por tipos relativamente fijos de microorganismos en sitios determinados (se restituye con rapidez).
- b) **Microbiota transitoria:** constituida por gérmenes no patógenos o potencialmente patógenos que permanecen sobre la superficie corporal o sobre las mucosas durante horas, días o meses. Son microorganismos que provienen del ambiente y cobran significación cuando la flora permanente desaparece aprovechando la situación para proliferar y en algunas circunstancias invadir y ser responsables de producir enfermedad.

Las especies que forman la **microbiota normal** están determinadas por factores ambientales, como la dieta, las condiciones sanitarias y los hábitos higiénicos. Los lactobacilos son comensales comunes en el intestino cuando los productos lácteos representan una parte significativa de la dieta.

Las hormonas también pueden influir en la microbiota comensal normal. La microbiota vaginal premenárquica y posmenopáusica difiere mucho de la que está presente durante la etapa fértil. La microbiota comensal normal también está influenciada por los receptores de las células del huésped, a la que se adhieren los microorganismos y seleccionan los microorganismos que colonizarán un huésped determinado.

Un efecto beneficioso de la microbiota normal en el sistema inmunitario es el de generar una respuesta más rápida y eficaz ante los microorganismos invasores. Los antígenos suelen ser presentados al sistema inmunitario de manera ordenada y específica. Los linfocitos T reconocen los antígenos sólo después de que se hayan mostrado en la superficie de un macrófago (u otra célula presentadora) en asociación con una molécula del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH). Por lo general, el 75-85% de los monocitos circulantes en adultos mantiene niveles bastante altos de expresión de moléculas del CMH. La expresión de CMH es mucho menor en los monocitos de los recién nacidos. La estimulación constante por la microbiota microbiana natural del huésped mantiene el nivel relativamente elevado de expresión de moléculas del CMH en los macrófagos y, quizá, en otras células presentadoras de antígenos, lo que sirve para mantener un sistema inmunitario eficaz y en constante estimulación. Esta modulación se debe, al menos en parte, a la producción de bajo nivel de IFN- γ ; IL-4 y otras citocinas y quimiocinas por los linfocitos T activados y las células endoteliales y representa una interfase esencial entre los sistemas inmunitarios innato y adaptativo.

En comparación con estos beneficios positivos, las consecuencias negativas de la colonización por microbiota natural son: la estimulación de anticuerpos bloqueadores no funcionales, las respuestas de reacción cruzada a los tejidos del huésped, las respuestas inapropiadas de linfocitos T y la inflamación crónica de bajo grado, que es una parte integrante de las afecciones degenerativas crónicas, como en la enfermedad cardiovascular y el cáncer.

CONCEPTO DE INFECCIÓN Y ENFERMEDAD

En ciertas circunstancias, la microbiota normal, puede por sí sola, producir patología, debido a que los microorganismos pueden ser introducidos en los tejidos o al torrente sanguíneo o bien pasar de su localización habitual a otro sitio del organismo,

ocasionando diferentes tipos y grados de enfermedad. Estas últimas reciben el nombre de **infecciones endógenas**.

El término **infección** describe la persistencia o multiplicación de un microorganismo patógeno en o sobre un huésped, mientras que el término **enfermedad** describe a una infección que ocasiona un daño significativo a un huésped.

En la producción de una **enfermedad infecciosa** es posible considerar las siguientes etapas:

1. **Acceso de los microorganismos a las superficies corporales y adherencia o colonización**
2. **Invasión**
3. **Establecimiento del microorganismo patógeno en el huésped**, lo que determina por parte de aquel, estrategias de resistencia al sistema inmune del huésped y/o producción de toxinas.

Estos eventos se manifiestan en términos de los síntomas que presenta el huésped.

MECANISMOS DE PATOGENIA BACTERIANA

Como hemos mencionado, las bacterias patógenas utilizan diversos mecanismos para causar enfermedad en la célula huésped. Sin embargo, existen fuertes evidencias que indican que distintos patógenos emplean estrategias comunes para causar infección y enfermedad.

1. ACCESO DE LOS MICROORGANISMOS A LAS SUPERFICIES CORPORALES Y ADHERENCIA O COLONIZACIÓN

El primer evento en la interacción entre un microorganismo patógeno y el huésped es la unión a una célula eucariota superficial. La adherencia microbiana requiere la participación de al menos dos factores: un **receptor** de la célula eucariota y **una molécula del microorganismo** que lo adhiera al mencionado receptor (**adhesina**). Generalmente, los receptores son residuos de carbohidratos específicos ubicados sobre la superficie de la célula eucariota y las **adhesinas** son proteínas o polisacáridos ubicados en la superficie microbiana. Muchos microorganismos poseen diversos mecanismos alternativos de unión a células eucariotas, los que pueden expresarse bajo diferentes condiciones ambientales o sobre distintas superficies del huésped.

Los diversos mecanismos de adherencia pueden actuar cooperativamente para colonizar una superficie y comenzar la infección.

Existen distintos tipos de fimbrias; se clasifican según características estructurales comunes y sus mecanismos de biogénesis. *Escherichia coli* puede codificar muchas fimbrias. Las bacterias con tipos específicos de fimbrias se han asociado a ciertos sitios de infección. Las fimbrias *P* o *Pap* (pili asociados con pielonefritis) de *E. coli* uropatógena, son uno de los ejemplos más claros de tropismo tisular mediado por adhesina; la presencia de fimbrias *P* se ha asociado claramente con la colonización e invasión del tracto urinario (Figura 32).

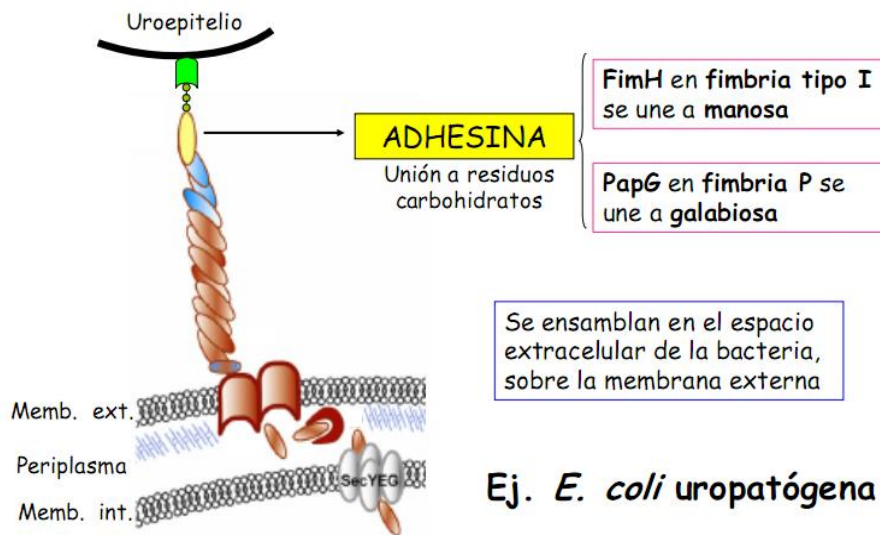


Figura 32. Fimbrias P de *Escherichia coli* uropatógena (UPEC)

Factores de adherencia microbiana de naturaleza proteica

Pueden dividirse en dos grupos: fimbrias o pili y adhesinas no fimbriales.

- **Fimbrias o pili:** están presentes en bacterias patógenas gram negativas. Algunos ejemplos de bacterias que poseen estos factores de adherencia son:
 - * *Escherichia coli* uropatógena y enteropatógena
 - * *Vibrio cholerae*
 - * *Pseudomonas aeruginosa*
 - * *Neisseria* spp
- **Adhesinas no fimbriales:** son proteínas que actúan como factores de adherencia, pero no forman la típica estructura polimérica fimbrial. Están presentes tanto en bacterias gram negativas como gram positivas. Ejemplos de bacterias que poseen estos factores de adherencia son:
 - **Gram positivas:**
 - * *Staphylococcus* spp.
 - * *Streptococcus* spp.
 - **Gram negativas:**
 - * *Yersinia pseudotuberculosis*
 - * *Escherichia coli* enteropatógena
 - * *Neisseria* spp.

Factores de adherencia microbiana de naturaleza polisacárida

- **Glicocálix** en *Streptococcus mutans*
- **Antígeno capsular K** en *Escherichia coli* enteropatógena.

- **Otros factores de adherencia:** *Streptococcus pyogenes* (estreptococo del grupo A), posee una adhesina (**ácido lipoteicoico**) que se encuentra anclada en las proteínas de la superficie celular bacteriana y que se une a receptores presentes en las células epiteliales superficiales de naturaleza glicoproteica (fibronectina). *Staphylococcus aureus*, presenta también una proteína específica para adherirse a este mismo receptor y *Treponema pallidum* se une a esta glicoproteína mediante las adhesinas de superficie (P_1 , P_2 , y P_3).

Biopelículas bacterianas o *biofilm*

Las biopelículas son poblaciones bacterianas inmersas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares. Las bacterias forman microcolonias con distinta morfología por adherencia entre sí y a la superficie.

Los biofilms han sido reconocidos como factores importantes en la patogenia de muchas infecciones humanas persistentes, incluyendo placa dental, caries, infección periodontal, neumonía por *Pseudomonas* spp. en fibrosis quística, cistitis crónica, otitis media, endocarditis bacteriana, osteomielitis, prostatitis crónica. También se ha demostrado que una variedad de dispositivos médicos implantables puede portar biofilms, provocando infecciones asociadas, destacando la sepsis por catéteres endovenosos y arteriales. Además, se han descrito en implantes médicos sintéticos, como catéteres intravasculares, catéteres urinarios, sigmoidoscopios, tubos de traqueostomía y lentes de contacto. Constituyen, también, un problema serio en válvulas cardíacas artificiales, marcapasos y prótesis ortopédicas las cuales, una vez infectadas, generan infecciones excepcionalmente difíciles de resolver mediante antibióticos. Las biopelículas pueden contribuir al aumento de la resistencia a los ATM. La matriz de exopolisacáridos que rodea las células puede crear una barrera de exclusión a los ATM o, directamente, formar un complejo con estos fármacos para inactivarlos. En las biopelículas, las bacterias crecen más despacio, y ese crecimiento más lento puede reducir la asimilación del fármaco y causar cambios fisiológicos que podrían afectar la eficacia de este.

Las consecuencias de la formación de biopelícula son, entre otras, la infección crónica, la alteración de la cicatrización de las heridas, la mayor resistencia a los antimicrobianos (ATM) y la diseminación de émbolos infecciosos.

La capacidad de formar biofilm no parece restringirse a ningún grupo específico de microorganismos y, en la actualidad, se considera que bajo condiciones ambientales adecuadas la inmensa mayoría de las bacterias, independiente de la especie, puede existir dentro de biofilms adheridos a superficies en una interfase sólido/ líquida. Dentro de los microorganismos que están asociados a la formación de biopelículas podemos mencionar a *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*.

Un avance importante en la comprensión de los biofilms ocurrió con el descubrimiento de proteínas responsables del mecanismo de **quorum sensing** o de auto-inducción, también llamado de señalización célula-a-célula y translocación coordinada de genes responsables de factores de defensa y virulencia. La unión de los microorganismos a una superficie y ulterior formación de un biofilm necesita que las bacterias se cercioren que han efectuado contacto. Para lograrlo requieren de señales químicas coordinadas

que les permitan comunicarse entre ellas. El desarrollo de interacciones célula-a-célula se facilita por la estrecha proximidad existente entre las bacterias biofilm. Esta interrelación, vía mensajeros de pequeñas moléculas, denominada *quorum sensing*, beneficia a la bacteria al permitirle sentir la presencia de microorganismos vecinos, determinar la densidad de la población existente y responder a eventuales condiciones cambiantes. El proceso *quorum-sensing* funciona debido a que cada bacteria que se une a una superficie produce una molécula señal "yo estoy aquí", de manera tal que mientras más bacterias se unen, se incrementa la concentración local de esta señal. Una vez logrado esto, se inducen diferentes fenómenos en la bacteria, para finalmente gatillarse la diferenciación biofilm. Su objetivo es coordinar determinados comportamientos o acciones entre microorganismos del mismo género, de acuerdo a su número. Los gérmenes que utilizan *quorum sensing* elaboran y secretan moléculas señalizadoras, llamados auto-inductores. Las principales moléculas empleadas para comunicarse con las demás bacterias son las acil-homoserina-lactonas, que predominan en bacterias gram negativas, mientras que oligopéptidos modificados prevalecen en gérmenes gram positivos. Las bacterias también poseen un receptor que puede detectar específicamente el auto-inductor respectivo.

Se ha propuesto que las biopelículas tienen cinco fases de desarrollo (Figura 33): 1) adherencia inicial y reversible, 2) adherencia irreversible, 3) desarrollo de una arquitectura de biopelícula, 4) desarrollo de microcolonias y 5) dispersión de células a partir de la biopelícula.

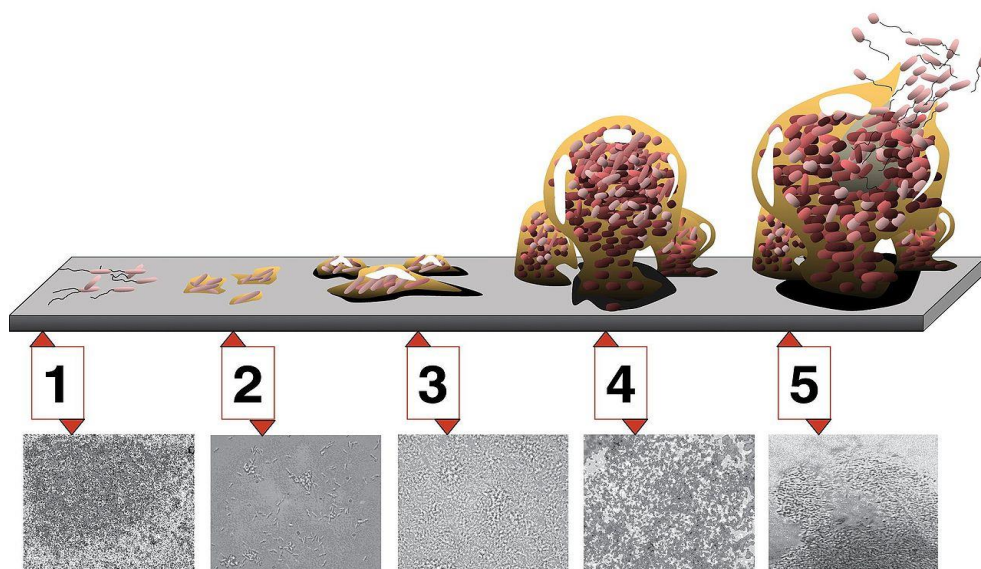


Figura 33. Fases del desarrollo de la biopelícula o *biofilm*.

2. INVASIÓN

Una vez que se adhieren al huésped, algunos patógenos necesitan ingresar en el mismo para realizar su ciclo de infección. Este mecanismo se conoce como invasión y puede ser dividido en dos tipos: extracelular e intracelular.

- **Invasión extracelular:** es cuando los microorganismos diseminan en el hospedador, pero permanecen fuera de la célula. Esta estrategia es usada por

Streptococcus β hemolíticos del grupo A y *Staphylococcus aureus*. Estas especies secretan varias enzimas como hialuronidasas, lipasas, estreptoquinasas y nucleasas. La invasión extracelular permite a estos patógenos acceder a muchos otros tejidos donde ellos son capaces de proliferar, diseminar a otros sitios, expresar toxinas e iniciar una respuesta inflamatoria.

- **Invasión intracelular:** ocurre cuando un microorganismo penetra dentro de la célula del huésped y sobrevive dentro de ella. Algunos patógenos se comportan como **intracelulares obligados**, los cuales requieren de células viables para su crecimiento. Éstos incluyen *Chlamydia* spp, *Rickettsia* spp, *Mycobacterium leprae*. Otros patógenos son **intracelulares facultativos**. Éstos usan su habilidad para entrar y sobrevivir dentro de la célula del huésped como una manera de proliferación y dispersión a otros tejidos. Los patógenos intracelulares pueden residir en fagolisosoma, fagosoma o en citosol. Algunos ejemplos de bacterias intracelulares facultativos son: *Shigella* spp, algunas cepas de *Escherichia coli* y *Proteus*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Neisseria meningitidis*, *Salmonella* spp; *Legionella pneumophila*; *Listeria monocytogenes*, *Mycobacterium tuberculosis*.

3. ESTABLECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS PATÓGENOS EN EL HUÉSPED

El inóculo inicial generalmente no es suficiente para producir daño o colonizar el huésped; por ello, el patógeno debe poder multiplicarse dentro de los tejidos para producir enfermedad. Para esto debe encontrar condiciones adecuadas de temperatura, pH, potencial de oxidorreducción y disponibilidad de nutrientes. También deben encontrar vitaminas y factores de crecimiento.

Las formas por las cuales los patógenos causan daño al huésped son variadas y rara vez los síntomas son debidos simplemente a la presencia de una población bacteriana. Si bien una gran masa de células puede bloquear vasos sanguíneos, válvulas cardíacas o la vía respiratoria, la forma en que los patógenos producen daño en el huésped suele ser más específica. Muchos de ellos producen **toxinas**.

Producción de toxinas

El uso genérico del término **toxina** puede referirse a cualquier sustancia, natural o manufacturada, que provoca efectos adversos a las células u organismos vivos. Sin embargo, en el contexto de las enfermedades infecciosas y de la patogenia de los microorganismos, este término se emplea para describir las moléculas producidas por los microorganismos y liberadas con el fin de afectar las células y tejidos diana en el huésped infectado.

Esta familia de productos bacterianos puede clasificarse de distintas maneras:

- 1) Por su composición química (p. ej., proteínas, lípidos, lipopolisacáridos)
- 2) Por su diana celular o tisular primaria (p.ej., enterotoxinas, neurotoxinas, leucotoxinas)
- 3) Por su mecanismo de acción molecular (toxinas proteolíticas, toxinas ADP-ribosiladoras, toxinas adenilato ciclasas; toxinas desaminadoras)
- 4) Por su acción en moléculas diana intracelulares

- 5) Por su efecto biológico principal (toxina dermonecrótica, toxina productora de edema, toxina hemolítica)
- 6) Por los microorganismos que las producen (toxina del cólera, toxina diftérica).

Como es evidente, las dificultades asociadas con la descripción y la clasificación de estos productos bacterianos reflejan las limitaciones respecto al conocimiento de su producción y liberación, interacción con las células diana y entrada en ellas, mecanismo de acción y relevancia clínica.

Las técnicas de investigación derivadas de los análisis genómicos y proteómicos, combinadas con los nuevos descubrimientos en biología celular y molecular, han permitido un incremento de la cantidad y calidad de los conocimientos adquiridos sobre las toxinas bacterianas. Entre estos avances hay que citar el descubrimiento de nuevas toxinas, la determinación de las estructuras primaria, secundaria y terciaria de muchas toxinas, la dilucidación de nuevos mecanismos moleculares y de nuevas funciones para toxinas conocidas, así como la identificación de las relaciones familiares entre moléculas aparentemente distintas. Es evidente que los procesos patogénicos implicados en las infecciones bacterianas son complejos y constituyen secuencias bien orquestadas en las que intervienen muchos componentes, incluso en las enfermedades en las que suele considerarse que están mediadas sobre todo por toxinas.

Una serie diversa de productos de los microorganismos, aparte de las toxinas, permiten al patógeno acceder al lugar apropiado en el huésped, transmitir señales ambientales que regulan la expresión de toxinas distintas y otros factores determinantes de virulencia por parte del patógeno, y que protegen al microorganismo de su eliminación por las defensas del huésped.

El desarrollo de la patogenia bacteriana como una disciplina individual y la disponibilidad de las secuencias genómicas han facilitado la identificación de factores de virulencia ignorados hasta entonces, que son necesarios para que aparezca la infección y que se desarrolle la enfermedad clínica. Muchos microorganismos producen una serie adicional de toxinas (bacteriocinas) que se dirigen a otros microorganismos y que no afectan a las células eucariotas. Asimismo, numerosas toxinas bacterianas son enzimas que actúan en sitios intracelulares específicos en las células huésped.

La producción de toxinas por bacterias patógenas promueve su diseminación a través de células y tejidos, no solamente por el daño causado directamente sobre las células, sino que también alteran mecanismos de defensa del huésped.

Las toxinas bacterianas son sustancias de composición química variada que producen efectos locales o sistémicos en el huésped infectado. Se las divide en **endotoxinas** y **exotoxinas**.

Endotoxinas

Las **endotoxinas** son lipopolisácaridos (LPS) de la pared celular de las bacterias gram negativas que se liberan cuando se produce la lisis bacteriana, desempeñando un papel importante en las enfermedades causadas por estos microorganismos. En pequeñas cantidades producen fiebre, activación del complemento por vía alterna, activación de macrófagos y estimulación de linfocitos B. En grandes cantidades producen shock séptico e incluso la muerte.

Exotoxinas

Las **exotoxinas** son de naturaleza proteica, se sintetizan en el citoplasma durante la fase de desarrollo logarítmico de la bacteria, se transportan a través de la membrana citoplasmática y se liberan al exterior. La síntesis de la toxina puede ser codificada por el DNA cromosómico o por DNA plasmídico o estar asociados con estado de lisogenia. En su mayoría presentan dos subunidades (A y B). La subunidad B, no tóxica, es responsable de la fijación de la toxina a un receptor de la superficie celular, que explicaría la especificidad tisular y facilitaría la acción o penetración de la subunidad A. Esta última subunidad es la responsable de la toxicidad. Las subunidades, separadamente, no muestran ningún efecto tóxico sobre las células. En algunas bacterias son producidas en forma continua por las bacterias en crecimiento, otras son sintetizadas cuando las células entran en su fase estacionaria. Las bacterias que esporulan pueden liberar sus toxinas cuando se lisa la célula, luego de formada la espora. Las exotoxinas bacterianas juegan un importante papel en el curso de un proceso infeccioso. Algunas exotoxinas actúan en forma local, otras se diseminan lejos del sitio donde son elaboradas, produciendo efectos sistémicos.

Mecanismos de acción de las toxinas

Las toxinas causan daño por diversos mecanismos: por lisis celular (destrucción de membranas), por bloqueo de la síntesis proteica, por aumento o disminución de una función celular normal (aumento del AMPc), o por bloqueo de una función nerviosa. A continuación se mencionan ejemplos de estos mecanismos:

- **Por lisis celular:**
 - toxina con acción lipasa (lecitinasas o hemolisinas)
 - toxinas que se insertan en la membrana para formar poros (estreptolisinas)
- **Por bloqueo de la síntesis proteica:**
 - toxina diftérica
- **Por aumento o disminución de una función celular normal**
 - toxina colérica
 - enterotoxina termolábil
 - toxina pertussis
- **Por bloqueo de la función nerviosa**
 - toxina tetánica
 - toxina botulínica

RESPUESTA INMUNITARIA CONTRA LAS BACTERIAS

Ante la agresión de un patógeno, nuestro sistema inmunológico posee mecanismos básicos de protección que impiden el ingreso, la colonización y su propagación local o a distancia. Por un lado, existen las barreras naturales como la piel, las mucosas, el

epitelio mucociliar, el jugo gástrico y la bilis, que limitan la entrada del microorganismo. Otros mecanismos de defensa inespecíficos son la fiebre, el sistema de complemento, el interferón, las células fagocíticas (neutrófilos, macrófagos, células dendríticas), y los linfocitos *natural killer* (NK y NKT), que actúan brindando respuestas locales rápidas que actúan en el sitio de la infección y pueden restringir el crecimiento y la propagación del agente agresor.

Respuesta inmune innata

La inmunidad innata es una respuesta no específica, rápida y eficiente frente a los agentes infecciosos. Se basa en el reconocimiento de patrones moleculares conservados comunes a los microorganismos, conocidos como Patrones Moleculares Asociados a Patógenos (PAMP); este reconocimiento desencadena una cascada de respuestas inmunes destinadas a eliminar la amenaza. Y el tercer mecanismo es la respuesta inmunitaria adaptativa específica frente al antígeno, conformada por los anticuerpos y los linfocitos T, los cuales fortalecen los mecanismos innatos, eliminando de forma específica a los microorganismos y parásitos que consiguen atravesar las primeras dos barreras de defensa.

Cuando estos sistemas funcionan adecuadamente, en general suelen ser efectivos para controlar la mayoría de las infecciones y evitar que se produzca la enfermedad, aunque no siempre es necesario utilizar todos los componentes del sistema inmune para impedir una infección; la mayoría de las veces suele bastar con la acción de las barreras fisicoquímicas.

Otras veces la situación se resuelve con la inmunidad natural y en otros casos es necesaria la intervención de la inmunidad específica para que complete el trabajo de las anteriores y garantizar una protección duradera. Cuando una bacteria ingresa al organismo se produce inicialmente la activación de los mecanismos innatos y la respuesta inflamatoria.

Las bacterias extracelulares son aquellas que pueden replicarse por fuera de las células eucariotas; sus principales mecanismos de erradicación son la opsonización (Figura 34), la inflamación y la fagocitosis, que llevan a la lisis bacteriana.

Tras atravesar las barreras físicas, las moléculas de la superficie bacteriana activan las vías alternativas y de la lectina del sistema del complemento.

El grueso peptidoglucano de las bacterias gram positivas y el antígeno O de gran longitud del lipopolisacárido (LPS) de la mayoría de las bacterias gram negativas, previenen que el complemento acceda a la membrana bacteriana y la protegen frente al daño. Este sistema es una defensa clave y temprana. Los fragmentos generados, como C3a, C5a y C3b, facilitan la inflamación, la quimiotaxis y la fagocitosis, mientras que el complejo de ataque de membrana (MAC) destruye a las bacterias gram negativas.

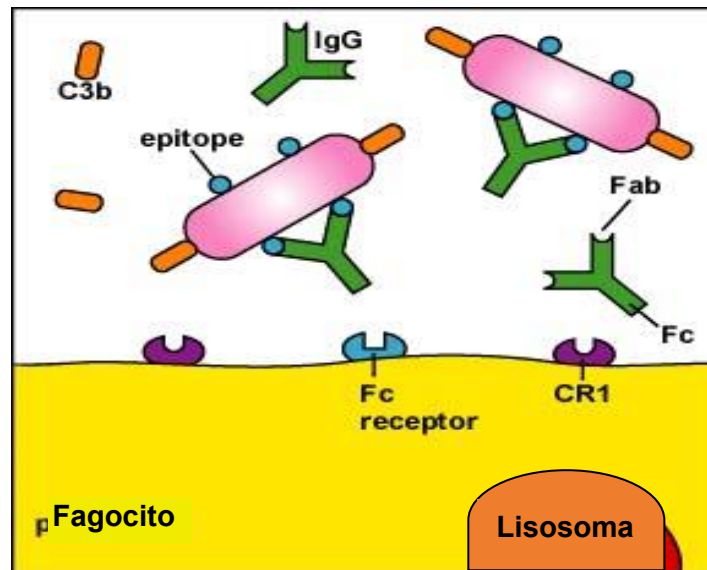


Figura 34. Opsonización. La porción Fab de la IgG se une a epítopes de un antígeno. La porción Fc ahora puede unir el antígeno a los receptores Fc en los fagocitos.

Mecanismos de evasión bacteriana

Los patógenos bacterianos extracelulares han desarrollado distintos mecanismos de evasión:

- Inhibición de la opsonización**, mediante proteínas bacterianas que se unen a las inmunoglobulinas por la fracción cristalizable (Fc) impidiendo que los anticuerpos reconozcan a la bacteria y la opsonicen. Ejemplo: proteína A de *Staphylococcus aureus*.
- Inhibición de anticuerpos neutralizantes por degradación enzimática de la Fc**
- Inhibición de la fagocitosis**: mediante la cápsula, la bacteria ejerce un bloqueo de la acción del sistema del complemento evitando la opsonización por C3b y promoviendo su degradación. Ejemplos: *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*.
- Evasión de la lisis celular**, por mecanismos tales como la resistencia al óxido nítrico, resistencia al suero y presencia de proteínas de membrana externa en *Neisseria* spp.
- Inhibición de la respuesta quimiotáctica inducida por C5a**: por producción de una C5apeptidasa (*Streptococcus agalactiae*, *S. pyogenes*).
- Evasión a la activación del complemento**, mediante el recubrimiento de la superficie bacteriana con IgA (enmascaramiento). Tal es el caso que ocurre en las infecciones por *Neisseria meningitidis*.
- Producción de enzimas que degradan las inmunoglobulinas**, como las proteasas de *Haemophilus influenzae* contra la IgA.
- Supresión de la respuesta inflamatoria por la producción de citoquinas supresoras** (*Yersinia enterocolitica* produce IL-10)
- Activación de receptores tipo Toll (TLR) y receptores citoplasmáticos en células inmunitarias**, desencadenando cascadas de señalización que promueven la producción de citoquinas inflamatorias, como interleuquina-1 (IL-1), IL-6 y factor

de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interferón gamma (IFN γ). Estas citoquinas, junto con las células dendríticas (CeDen), linfocitos NK y NKT, amplifican la inflamación local y sistémica, iniciando la fase aguda de la infección. En esta fase se producen fiebre, alteraciones metabólicas y producción de proteínas como la C-reactiva, las cuales potencian la fagocitosis y activan el sistema de complemento.

j. Inhibición de la formación del fagolisosoma (efecto “caballo de Troya”)

Como vemos, La inflamación local facilita el flujo de componentes inmunitarios al sitio de infección. La acción de quimioquinas y TNF- α estimula la adhesión y migración de neutrófilos y monocitos hacia los tejidos infectados; estas células fagocitan bacterias utilizando receptores específicos para glucanos bacterianos y opsoninas, como C3b y la proteína C-reactiva. Dentro de los fagocitos, las bacterias son destruidas mediante mecanismos dependientes e independientes de oxígeno, que incluyen la producción de peróxido de hidrógeno, óxido nítrico y proteínas antimicrobianas. Mientras que los neutrófilos actúan rápidamente pero tienen vidas cortas, los macrófagos, activados por IFN- γ y TNF- α , son más duraderos y especializados en eliminar bacterias intracelulares.

Respuesta inmune adaptativa

La presentación de antígenos bacterianos por células dendríticas a linfocitos T CD4 (LT CD4) inicia la **respuesta adaptativa**. Las células TH1, inducidas por IL-12, potencian la inflamación y la actividad de los macrófagos, esenciales contra bacterias intracelulares y micobacterias. Las células TH17, promovidas por IL-1, IL-6 y TGF- β , activan neutrófilos y células epiteliales, fundamentales para respuestas antibacterianas tempranas.

Simultáneamente, los linfocitos B (LB) producen anticuerpos específicos (IgM e IgG), impulsados por estímulos del complemento (C3d), IL-4 e IL-6; los anticuerpos opsonizan bacterias, activan el complemento y neutralizan toxinas bacterianas.

El equilibrio entre las respuestas proinflamatorias (TH1 y TH17) y reguladoras es crucial para evitar el daño tisular excesivo. Sin embargo, la inflamación descontrolada puede llevar a patologías graves como shock séptico, mediado por TNF- α y la extravasación masiva de líquidos.

Una respuesta primaria específica frente a una infección bacteriana puede tardar de 5 a 7 días desde el ingreso de la CeDen al ganglio linfático, hasta la activación, expansión y maduración de la respuesta. En la reexposición a la infección, los linfocitos T (LT) de memoria pueden responder rápidamente a la presentación del antígeno a la CeDen, al macrófago o al LB; los LB de memoria también responden velozmente al antígeno y la producción de anticuerpos puede iniciarse en 48 o 72 horas.

Los patógenos intracelulares poseen la capacidad de sobrevivir y multiplicarse dentro de los macrófagos, los cuales si bien pueden destruir los microorganismos patógenos intracelulares cuando son activados por quimioquinas, pueden ser utilizados como una reserva protectora o un sistema de transporte que ayuda a propagar los microorganismos por vía sistémica. Algunas bacterias intracelulares de importancia médica son *Mycobacterium tuberculosis*, *M. leprae*, *Brucella* spp, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* serovar *Typhi*, *Chlamydomphila psittaci*. Una de las estrategias clave de la inmunidad innata contra las bacterias intracelulares es la

capacidad de detectar y eliminar las células infectadas. Este proceso implica la detección de PAMP por receptores de reconocimiento de patrones (PRR) en la superficie de las células fagocíticas. Los PRR reconocen los componentes bacterianos e inician cascadas de señalización, que conducen a la producción de citoquinas y otros mediadores inmunes. Estas citoquinas luego reclutan y activan células inmunes adicionales para eliminar las células infectadas. Otra estrategia importante es la destrucción de bacterias intracelulares por péptidos antimicrobianos. Estos péptidos, producidos por diversas células inmunes, tienen la capacidad de matar bacterias alterando sus membranas celulares o interfiriendo con procesos celulares esenciales. Algunos péptidos antimicrobianos incluso actúan como moléculas de señalización para coordinar la respuesta inmune. Determinadas bacterias intracelulares, como *Salmonella* spp, pueden inhibir la formación del fagosoma o modificarlo y no permitir su maduración; otras, como *Listeria monocytogenes*, pueden escapar de la vacuola hacia el citoplasma e invadir células adyacentes.

Recientemente se ha descrito un mecanismo denominado **piroptosis**, mediante el cual la inmunidad innata combate a las bacterias intracelulares. Este proceso se caracteriza por la lisis de las células huésped infectadas y la liberación de contenidos intracelulares, lo que alerta al sistema inmunológico de la presencia de una infección. La piroptosis se inicia por la activación de una caspasa (enzima que cataliza la muerte celular programada o apoptosis), la caspasa-1, en respuesta a PAMP o patrones moleculares asociados a daños (DAMP). La activación de la caspasa-1 conduce a la oligomerización de la gasdermina D, que forma poros en la membrana celular, causando su lisis (Figura 35). La liberación de bacterias intracelulares o sus componentes a través de estos poros desencadena otras respuestas inmunes, como la inflamación y el reclutamiento de células inmunes. Se ha demostrado que la piroptosis es eficaz contra bacterias intracelulares como *Salmonella enterica* y *Legionella pneumophila*.

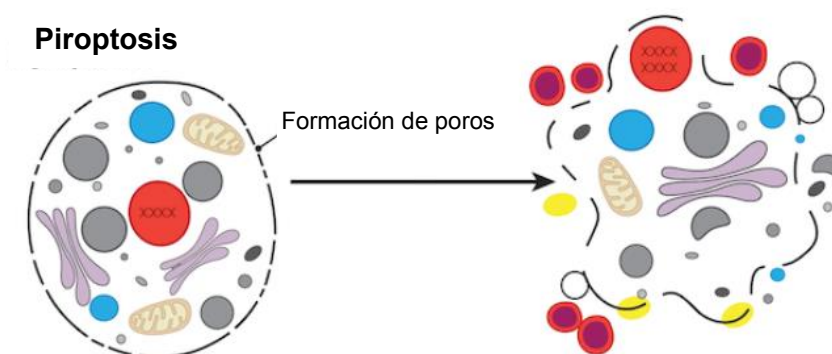


Figura 35. Piroptosis. La caspasa-1 se activa en respuesta a PAMP, produciendo la oligomerización de la gasdermina D que forma poros en la membrana celular causando la lisis de la célula infectada.

La **autofagia** es otro mecanismo que ha sido relatado recientemente, por el cual la inmunidad innata elimina las bacterias intracelulares. Consiste en un proceso en el cual una célula secuestra material citoplasmático, incluidas las bacterias, en una vesícula de doble membrana llamada autofagosoma. Luego, el autofagosoma se fusiona con los lisosomas, donde el material secuestrado se degrada y se elimina.

(Figura 36). Este proceso no solo elimina las bacterias intracelulares, sino que también proporciona una plataforma de presentación de antígenos para los macrófagos y las CeDen, lo que optimiza las respuestas inmunitarias adaptativas. Estudios actuales han demostrado que la autofagia desempeña un papel crucial en la defensa del huésped contra *Mycobacterium tuberculosis*, *S. enterica* y *L. pneumophila*, entre otras bacterias. La vía de la autofagia puede activarse mediante varias señales, incluidos los PAMP y las citoquinas, lo que indica que forma una parte integral de la respuesta inmunitaria innata contra las bacterias intracelulares.

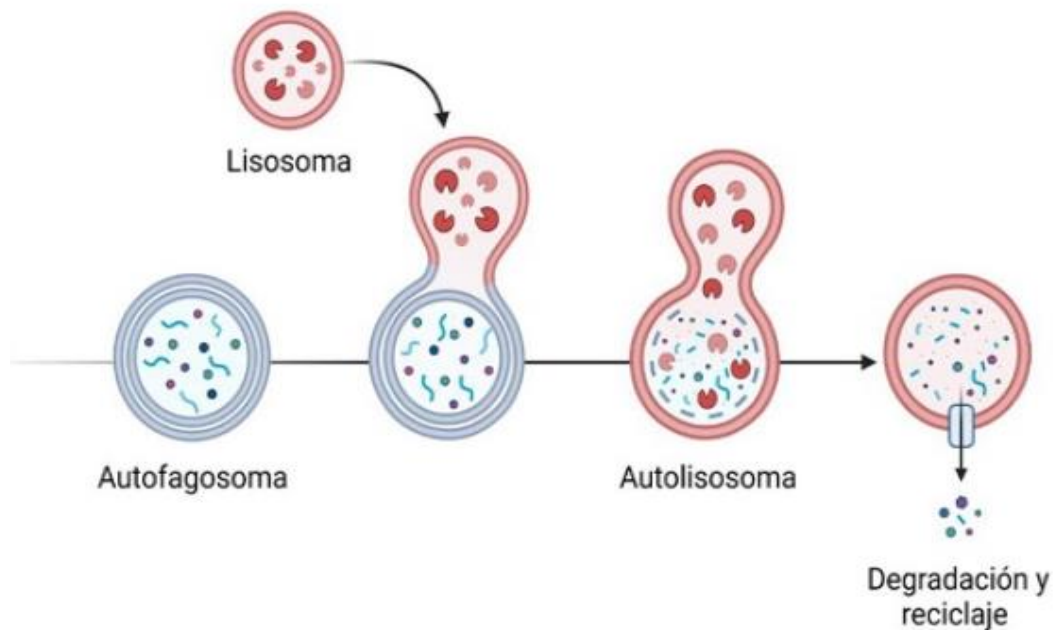


Figura 36. Autofagia. Formación del autofagosoma que luego se fusiona con el lisosoma (autofagolisosoma) donde ocurre la degradación del sustrato cuyos productos son liberados al citoplasma.

En síntesis, **la inmunidad contra las bacterias integra la acción de componentes innatos y adaptativos**, orquestando una respuesta compleja para eliminar el patógeno y prevenir daños tisulares y sistémicos excesivos al huésped.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

Basualdo JA, Coto C, de Torres R. Microbiología Biomédica Tomo 1. 3° ed. Buenos Aires; Editorial Atlante, 2023.

Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E y Cantón Moreno R. eds. Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. Procedimientos en Microbiología Clínica. 2017. ISBN: 978-84-697-4782-7.

Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología Médica. 9a ed. Madrid, España, 2021.

Mandell GL, Douglas y Bennet JE. Enfermedades Infecciosas. 9na ed. Elsevier, 2021.

Riedel S, Morse SA, Mietzner T, Miller S. Microbiología Médica. Jawetz, Melnick y Adelberg. 28° ed. México DF. Mcgraw-Hill Education, 2019.

Chambers, H. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*. Emerg. Infect. Dis 2001; 7:178-82.

David MZ, Daum RS. Community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiology and clinical consequences of an emerging epidemic. Clin. Microbiol. Rev 2010; 23: 616-87.

Hausner y col. Bacterial group I introns: mobile RNA catalysts. Mobile DNA. 2014; 5-8.

Fluit AC, Schmitz FJ. Resistance integrons and superintegrons. Clin. Microbiol. Infect 2004; 10: 272-88.

Magiorakos AP y col. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin. Microbiol. Infect 2012; 18: 268-281.

Munita JM, Arias CA. Mechanisms of Antibiotic Resistance. Microbiology Spectrum 2016; 4(2):10-6.

Quinteros M, Radice M, Gardella N, Rodríguez MM, Costa N, Korbenfeld D. and Microbiology Study Group. Extended-spectrum, β -lactamases in Enterobacteriaceae in Buenos Aires, Argentina, Public Hospitals. Antimicrob. Agents Chemother 2003; 47: 2864-67.

Tian J, Liu H, Che J, Song L. Editorial: Innate immunity against intracellular bacteria: mechanisms and strategies. Front Immunol 2024; 15, 1396114. Doi: 10.3389/fimmu.2024.1396114.