

MORFOLOGIA Y ESTRUCTURA BACTERIANA

María Catalina Pérez.

Analizaremos algunos aspectos de la morfología y estructura de las bacterias, microorganismos que integran la flora normal de las superficies cutáneo-mucosas del hombre y están vinculadas a numerosas y frecuentes patologías infecciosas humanas.

Importancia del tema:

En las últimas décadas se han hecho importantes avances en el estudio de la ultraestructura bacteriana, lográndose una identificación bioquímica de muchas de las fracciones subcelulares, estos avances han permitido ubicar definitivamente a las bacterias en el reino Procariota.

El conocimiento en profundidad de las diferentes estructuras y su composición ha permitido comprender, como muchas bacterias se relacionan con el hombre, ya sea cuando lo hacen como integrantes de la flora normal o cuando se comportan como agresoras para el mismo.

Ha sido fundamental poder demostrar que muchas estructuras bacterianas bien identificadas son importantes inmunógenos, siendo posible utilizarlas para la preparación de vacunas que han significado verdaderos avances en la Medicina de los últimos años (Ejemplo: vacunas contra agentes causantes de meningococcal supurada: *Haemophilus influenzae* tipo b).

El conocimiento de la composición bioquímica de las diferentes estructuras de las bacterias, así como de su metabolismo, ha permitido la comprensión del mecanismo de acción de diferentes antibióticos.

De gran relevancia han sido también los avances en el estudio del material genético bacteriano cromosómico y plasmídico que han posibilitado el desarrollo de técnicas

con aplicaciones en investigación y diagnóstico que han revolucionado las últimas décadas.

Es justo de todos modos señalar que a pesar de todas estas innovaciones la observación al microscopio óptico y la reacción de las bacterias ante las diferentes coloraciones sigue siendo de fundamental importancia en la taxonomía e identificación bacteriana.

Definición: Las bacterias o procariotas, son microorganismos unicelulares que se reproducen por fisión binaria (división simple). Muchos tienen vida libre. Contienen información genética, sistemas de producción de energía y sistemas biosintéticos necesarios para el crecimiento y reproducción.

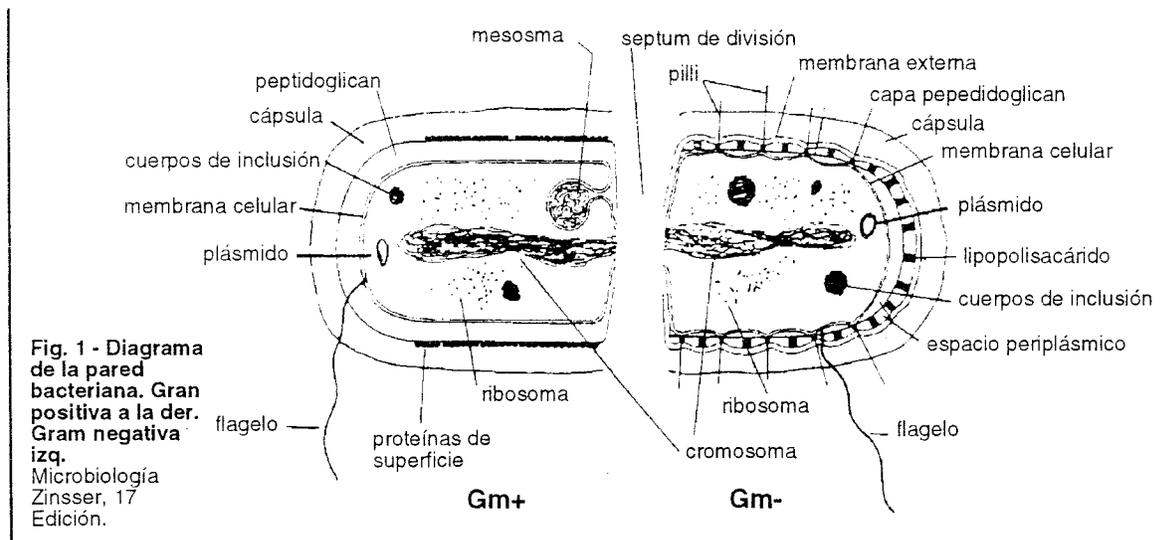
Ubicación dentro de los sistemas biológicos:

La gran división de los seres vivos se realiza según el tipo de células: eucariota y procariota.

Como veremos en el cuadro 1, animales y plantas, individuos multicelulares, tienen células eucariotas. También poseen este tipo de células algas, hongos y protozoos. (eu significa verdadero, *cariota*: núcleo).

Las bacterias son microorganismos unicelulares, siendo entonces células procariotas. Existen dos grupos de procariotas evolutivamente distintos, las eubacterias y las arqueobacterias.

Una célula bacteriana típica tiene las siguientes estructuras: Material genético ADN, bajo forma de un cromosoma único que no está rodeado de membrana nuclear, esta característica es la diferencia fundamental con la célula eucariota, la cual posee siempre membrana nuclear. Presentan además ribosomas, citoplasma y membrana



Cuadro 1
SERES VIVOS

Organización unicelular sin diferenciación	Célula procariota (núcleo primitivo)	Procariota: bacterias
Organización unicelular o colonial	Célula eucariota (núcleo verdadero)	Protistas: protozoarios, fitoflagelados
Multicelulares. Diferenciación celular en tejidos	Célula eucariota	Reinos: animal y vegetal
Uni o multicelular Uni o multinuclear	Célula eucariota	Hongos, algas

citoplasmática. Figura 1.

Por fuera está la pared bacteriana, estructura que por su composición bioquímica se puede decir que es propia de las bacterias, ya que las células vegetales tienen una pared celular pero está compuesta por celulosa. Algunas bacterias como los micoplasmas, carecen de pared celular.

Las diferentes estructuras bacterianas que observamos en la figura 1 las podemos dividir, según sean constantes en las células o no, en estructuras permanentes y variables.

Estructuras permanentes: - membrana celular
- ribosomas
- material genético

Estructuras variables: - pared celular
- flagelo
- fimbrias o pilis
- cápsula
- esporas

Al decir estructuras variables queremos decir que estas estructuras existen en algunas bacterias y no en todas, y aun en un mismo grupo bacteriano o una misma cepa bacteriana las puede presentar o no, dependiendo de las condiciones en donde se desarrolle. Las estructuras variables no son necesarias para la vida de la célula bacteriana.

Tamaño: Las bacterias presentan una amplia diversidad de tamaños, que va desde 0.5 a 2 micrómetros y algunas pueden llegar a 10 micras. No son visibles por supuesto al ojo humano y se visualizan con microscopio óptico (MO) o electrónico (ME).

Las bacterias pueden ser observadas al MO sin ser coloreadas si se las coloca en glicerol o soluciones no acuosas que aumenten el índice de refracción.

Las bacterias se pueden observar sin colorear utilizando la técnica de microscopía de campo oscuro en la que utilizando un condensador especial se ven sobre un fondo

oscuro como cuerpos brillantes. Esta técnica se usa para el examen de microorganismos no teñidos en suspensiones líquidas como es el caso de *Treponema pallidum*, agente de la sífilis, que se observan como espiroquetas delgadísimas.

Forma: Al MO o ME las bacterias se presentan con una morfología definida que está determinada por su pared rígida. Se pueden presentar como esféricas, ovaladas, denominándose cocos. Si la forma es cilíndrica se denominan bacilos o bastones.

Estos bastones pueden ser rectos, curvos o con forma de espiral, en este último caso les llamamos espirilos. Figura 2.

Las células bacterianas pueden mantenerse unidas en grupos después de que se han dividido, pero conservando siempre la independencia una célula de otra. Cocos o bacilos pueden agruparse en cadenas, en el caso de los cocos, cuando se presentan así agrupados, se denominan estreptococos. También se pueden presentar como diplococos.

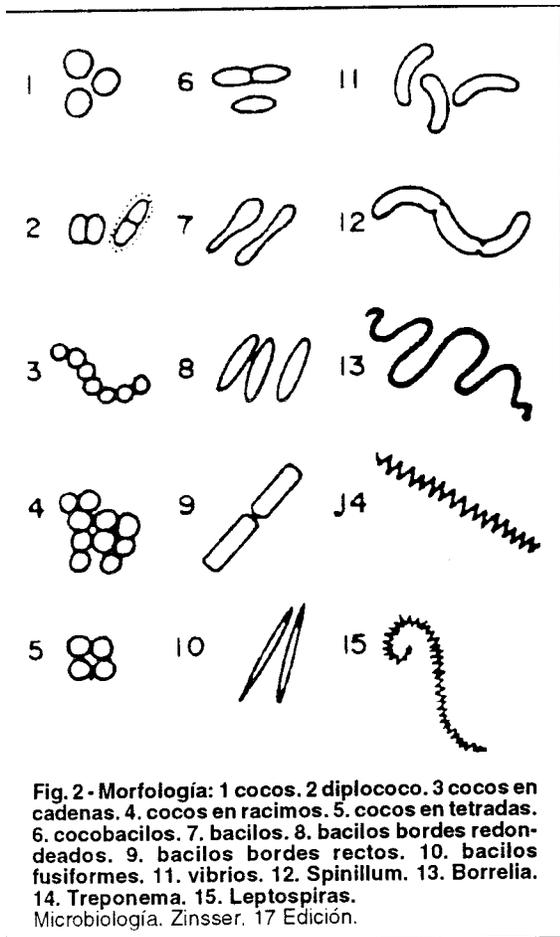
Si los planos de división son variados pueden agruparse en tétradas o como racimos, denominándose estafilococos.

Los bacilos pueden ser muy cortos, recibiendo el nombre de cocobacilos, otras veces pueden ser muy largos, pudiendo tener una longitud 10 veces superior a su diámetro. Los extremos pueden ser redondeados o rectos, pueden presentarse aislados, en largas cadenas o pueden agruparse en empalizadas o formando letras chinas.

La morfología bacteriana se observa al MO sin tinción como se señaló, o utilizando diferentes técnicas de tinción que ayudan a su mejor visualización ya que son incolores.

Las diferentes técnicas de tinción consisten en colorear las células con diferentes colorantes que tienen afinidad por materiales celulares específicos. Hay colorantes catiónicos, de carga positiva que tienen afinidad por constituyentes celulares de carga negativa, como los ácidos nucleicos y los polisacáridos.

Algunos ejemplos de colorantes catiónicos: azul de



metileno, cristal violeta, safranina.

Más adelante analizaremos algunos detalles de la coloración más utilizada en Bacteriología, denominada coloración de Gram en honor a quien en 1884 la describió. Es esta una coloración diferencial que permite dividir a las bacterias en Gram positivas, refiriéndose a aquellas que toman el primer colorante utilizado que tiñe las bacterias de color violeta y las Gram negativas, las que toman el último colorante utilizado en la técnica como colorante de contraste que las tiñe de rojo o rosado. Este tipo de coloración se denomina diferencial por lo que acabamos de analizar.

Otras coloraciones simples como el azul de metileno, se utilizan para observar simplemente la morfología.

Analizaremos la célula desde su interior para luego dedicarnos a las estructuras externas y apéndices.

Las estructuras internas de la célula están inmersas en el citoplasma, solución acuosa y viscosa, que contiene solutos orgánicos e inorgánicos y elementos especializados como ribosomas y gránulos de inclusión.

Material genético:

Ribosomas: La célula bacteriana presenta ribosomas libres en el citoplasma con coeficiente de sedimentación de 70S a diferencia de la célula eucariota que es de 80S. Se presentan también como polirribosomas que son cadenas de ribosomas asociados a ARN mensajero y en parte en relación con el ADN cromosómico. Contienen todos los componentes que permiten la síntesis proteica.

Las células poseen más ribosomas si están creciendo en medios ricos. El alto contenido de ARN determina gran afinidad por los colorantes básicos.

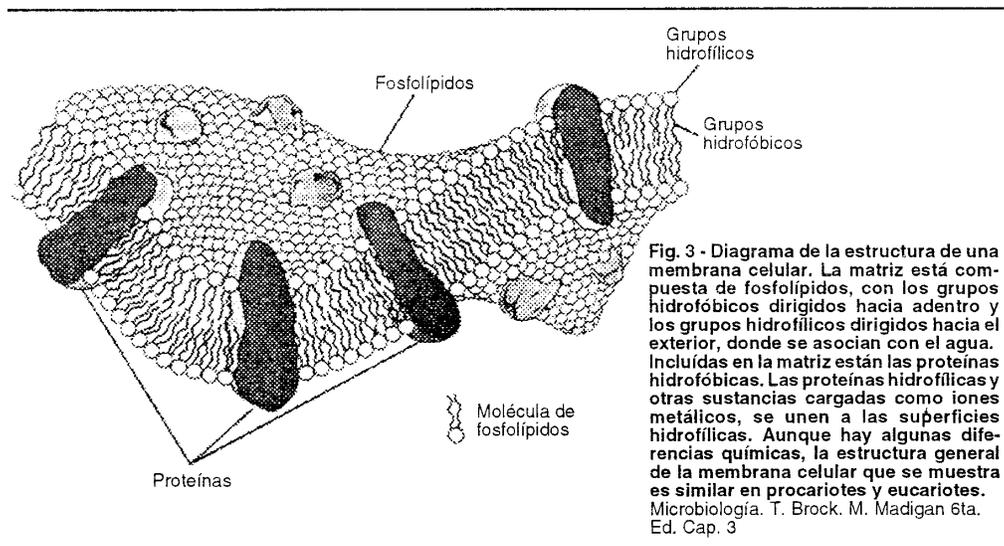
ADN bacteriano: Como se señaló, la célula procariota a diferencia de la eucariota carece de una membrana nuclear, tampoco posee nucléolo, ni aparato mitótico, y nunca configura una masa cromosómica definida.

El material genético está compuesto de una estructura fibrilar, constituida por un ADN circular de doble cadena, enrollado sobre sí mismo. Si bien se asocia a proteínas básicas, estas no son verdaderas histonas.

Los mesosomas son, al parecer, invaginaciones de la membrana citoplasmática y participan en la división celular y en la replicación de ADN. Si bien hay autores que opinan que son artefactos de técnica que se observan en las microfotografías electrónicas, hay otros que han observado que claramente el ADN se fija al mesosoma en la etapa previa de la división celular.

En las últimas décadas se han desarrollado muchas técnicas que permiten estudiar el ADN bacteriano, todas ellas con importantes aportes en la investigación y el diagnóstico. Por ejemplo, es posible por técnicas de secuenciación, conocer genomas enteros de bacterias o sectores de él que tengan interés, ya sea porque codifican la producción de alguna estructura, una toxina, etc. Estos sectores de ADN, se pueden separar del ADN total con enzimas de restricción para su posterior análisis o utilización en estudios de biología molecular.

Estas técnicas de biología molecular están destinadas a identificar sectores de ADN específico de una bacteria, por ejemplo: las técnicas de hibridación que identifican un trozo de ADN con una sonda genética complementaria de ese sector y marcada con un compuesto revelador; o la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que amplifica miles de veces el sector de interés.



Plásmidos y episomas: Algunas bacterias poseen material genético extracromosómico, denominados plásmidos y episomas. Los plásmidos son elementos genéticos constituidos por secuencias de ADN cortas circulares que se replican en forma autónoma. Como se verá en el capítulo de genética bacteriana, éstos poseen genes que codifican factores de agresión, factores de resistencia a antibióticos, producción de toxinas, etc.

Los episomas son elementos genéticos extracromosómicos que pueden existir en forma autónoma o incorporados al material genético.

Membrana celular: Estructura delgada que rodea a la célula de 8 nm de espesor. Es una estructura vital, si se altera, la célula pierde su vitalidad.

Composición: es similar a al mayor parte de las membranas biológicas. Figura 3. Una doble capa fosfolípida en donde el ácido graso hidrofóbico se orienta hacia el interior y el glicerol hidrofílico hacia el exterior de la célula. A diferencia de la célula eucariota no posee esteroides (excepto los micoplasmas).

Algunos antibióticos, cuyo blanco de ataque en la célula bacteriana es la membrana celular, actúan inmediatamente que la célula se pone en contacto con éstos. Los antibióticos de este tipo, son por su mecanismo de acción, tóxicos para los tejidos humanos y poco utilizados en medicina clínica.

Función: Delimita el interior del exterior celular, es una barrera osmótica muy importante, interponiéndose a la libre difusión entre el medio ambiente interno y externo.

Es una membrana con permeabilidad selectiva, a través de la cual ingresan los nutrientes y salen los productos de desecho. El transporte de solutos se realiza muchas veces por un sistema de transporte activo, como se analizará al estudiar el metabolismo bacteriano.

En la membrana celular están los sistemas de fosforilación, oxidación y transporte de electrones (citocromos) para la

producción de energía.

Dentro de las diversas actividades enzimáticas vinculadas a las proteínas de la membrana citoplasmática, podemos señalar su participación en la biosíntesis del ADN, de los constituyentes de la pared, etc.

Ya hemos hecho mención más arriba de los mesosomas que son organelos que se asocian a la membrana. Se observan al ME como sacos citoplasmáticos que contienen estructuras verticiladas, laminares, tubulares o vesiculares, y a menudo se asocian con tabiques de septación. Se ha demostrado que los mesosomas fijan el ADN cromosómico a la membrana citoplasmática.

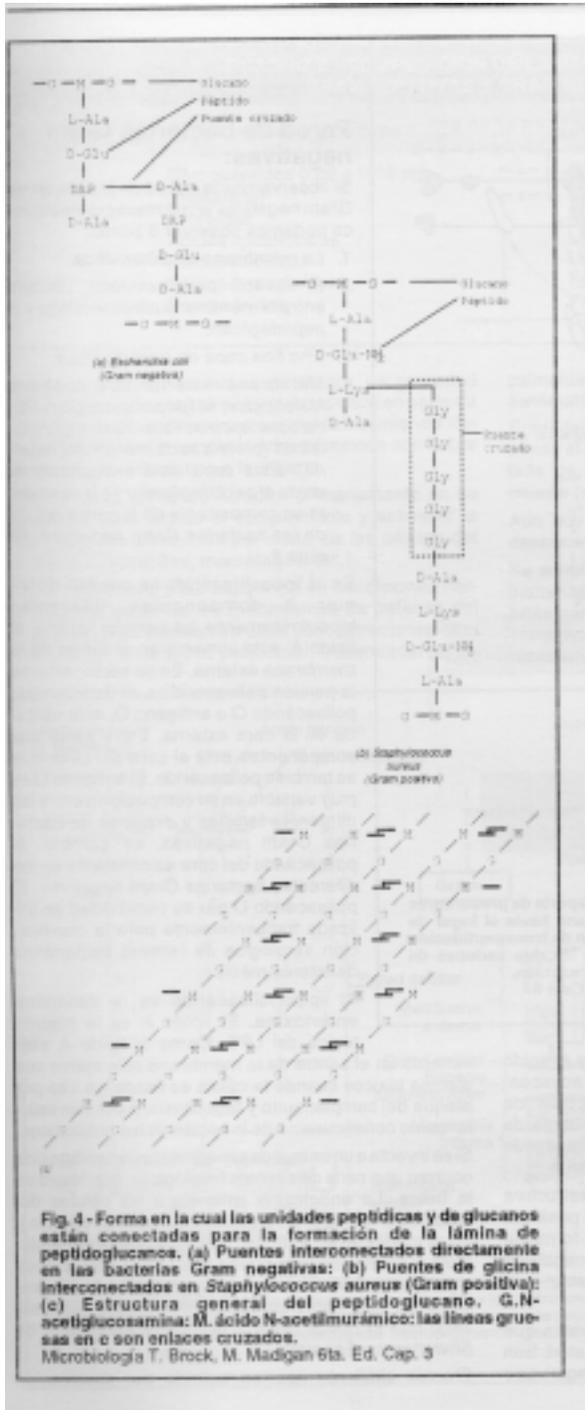
Pared celular: Estructura rígida presente como ya se dijo en la mayoría de las bacterias, se sitúan por fuera de la membrana citoplasmática. Es una estructura vital para las bacterias que las poseen. Si ésta se destruye o se impide su formación, la célula pierde su viabilidad.

El peptidoglicano, principal constituyente de la pared, es un polímero constituido por unidades repetidas del monómero formado por: dos derivados de carbohidratos, N-acetil Glucosamina y N-acetil Murámico (N-Ac.G, N-Ac.M), unidas por enlaces beta 1-4 y asociados a cortas cadenas peptídicas a través del N-acetil Murámico. Figura 4.

El espesor de la pared en los diferentes microorganismos, oscila entre 0,150 μm y 0,500 μm de (μm =micra).

Podemos imaginar entonces la pared celular, como una macromolécula gigante constituida por peptidoglicano, que en forma de bolsa rodea toda la célula, representando del 10 al 40 % del peso de la bacteria.

Unido al N-acetil murámico se encuentra un tetrapéptido como se aprecia en la figura 4. Los tetrapéptidos de una cadena de peptidoglicano se unen con los de la otra a través de puentes peptídicos. Los aminoácidos que forman los tetrapéptidos son los siguientes: L-Alanina, Acido D-Glutámico, Acido mesodiaminopimélico (o L-Lisina) y D-



Alanina.

Podríamos resumir de la siguiente manera la síntesis del péptidoglucano:

En el momento de la división celular se debe formar la nueva pared celular. Las autolisinas, enzimas producidas por la propia bacteria, forman brechas en la "vieja pared"

de la célula en división. A nivel de esas brechas o aberturas es donde se agrega el peptidoglucano de la nueva pared en formación. Figura 5.

La mayor parte de la información se ha obtenido de la síntesis del peptidoglucano de *Staphylococcus aureus* y la explicación que sigue se restringirá a este organismo. En el citoplasma se une el N-acetil Murámico a un transportador lipídico de membrana: el bactoprenol, luego se une la N-acetil Glucosamina y, finalmente, el puente de pentaglicina. El bactoprenol transporta el bloque formado a través de la membrana citoplasmática. Una vez en el espacio periplásmico, estos bloques son colocados en las brechas ya formadas.

El paso final y fundamental para una correcta función de la pared es la unión los monómeros de peptidoglucano entre sí.

Esta unión la realizan enzimas denominadas transpeptidasas. A este paso se lo conoce como transpeptidación.

La Penicilina y sus derivados, los antibióticos más usados en Medicina, actúan precisamente inhibiendo la síntesis de la pared celular, llevando a la lisis de la bacteria.

La unión de los puentes peptídicos se pueden hacer como ocurre en la mayoría de las bacterias por uniones directas transpeptídicas entre la D-Alanina de un puente peptídico y el ácido diaminopimélico (DAP) de otro tetrapéptido adyacente. En *Staphylococcus aureus* la reacción de transpeptidación se efectúa mediante un puente de pentaglicina, el cual une la L-Lisina de un tetrapéptido con la D-Alanina de otro tetrapéptido adyacente.

Existen diferencias en el espesor de esta estructura básica, el peptidoglucano de las bacterias Gram positivas tienen una capa gruesa de 0,02 a 0,06 μm en forma de multicapas, mientras que las bacterias Gram negativas y las bacterias ácido alcohol resistentes la tienen más fina, de 0,01 μm .

Al peptidoglucano se le unen otros componentes que son, por lo tanto, también integrantes de la pared. Son diferentes en las bacterias Gram positivas, negativas y ácido alcohol resistentes. Revisaremos algunos aspectos de la composición de los tres tipos de paredes. (Cuadro 2)

Pared de bacterias Gram negativas:

Si observamos la pared de las bacterias Gram negativas al microscopio electrónico podemos observar 3 zonas:

1. La membrana citoplasmática.
2. El espacio periplásmico, ubicado entre la membrana citoplasmática y el peptidoglucano.
3. Una fina capa de peptidoglucano.
4. Membrana externa que contiene fosfolípidos, el lipopolisacárido (LPS) característico de estas bacterias y proteínas (proteínas de membrana

externa). Esta capa está estrechamente unida al peptidoglicano y se la considera un componente de la pared celular de las bacterias Gram negativas. Figura 6.

En el lipopolisacárido se pueden distinguir 3 componentes diferentes bioquímicamente. La porción lipídica, el lípido A, está inmersa en el centro de la membrana externa. En su sector externo la porción polisacárida, el denominado polisacárido O, o antígeno O, está ubicado en la cara externa. Entre estos dos componentes está el core del LPS, que es también polisacárido. El antígeno O es muy variable en su composición entre las diferentes familias y especies de bacterias Gram negativas, en cambio, el polisacárido del core es constante en las diferentes bacterias Gram negativas. El polisacárido O por su variabilidad es utilizado frecuentemente para la clasificación serológica de familias bacterianas de interés médico.

Al lipopolisacárido (LPS) se le denomina endotoxina, siendo el lípido A su la porción tóxica. Como el lípido A está inmerso en el centro de la membrana sólo ejerce sus efectos tóxicos cuando la célula es lisada, ya sea por ataque del complemento y fagocitosis, o por lisis celular como consecuencia de la acción de antibióticos.

Si se inyecta a un animal de experimentación endotoxina, ocurren una serie de eventos fisiológicos, el primero es la fiebre. La endotoxina estimula a las células del huésped a liberar proteínas denominadas pirógenos y éstos modifican el centro termorregulador del encéfalo. Pero el animal también puede sufrir otras alteraciones como disminución de leucocitos y plaquetas en sangre, sufriendo finalmente un estado inflamatorio generalizado que lo puede llevar a la muerte (fenómeno de Shwartzman-Sanarelli).

Efectos similares ocurren cuando por destrucción bacteriana hay endotoxinas en sangre. La gravedad del cuadro clínico se sabe hoy que depende en parte de la cantidad de endotoxinas circulantes, pudiendo determinar desde un simple cuadro infeccioso con fiebre, a sepsis,

shock séptico o la muerte.

La toxicidad del lípido A radica primariamente en su habilidad para activar el complemento y estimular la liberación de citoquinas por parte de las células del huésped (leucocitos, macrófagos, etc.).

El complemento y las citoquinas en condiciones normales son parte de los mecanismos de defensa del huésped, pero si están en altas concentraciones desencadenan un proceso perjudicial. Desencadenan localmente un proceso inflamatorio y una respuesta sistemática que constituye el shock séptico.

Entendemos por shock la serie de eventos que determinan el colapso del sistema circulatorio que lleva a la falla de múltiples órganos vitales y, finalmente a la muerte (multiple organ system failure, MOSF).

Aún hoy no es posible decir exactamente como se desencadena este fenómeno.

Se acepta que cuando en la sangre se libera LPS de bacterias Gram negativas lisadas, éstos se unen a proteínas, denominadas proteínas fijadoras de LPS. El complejo LPS-proteína fijadora de LPS interactúa con receptores CD₁₄ de monocitos, macrófagos y células endoteliales. Posteriormente se desencadenan 3 fenómenos que tienen como acción final el daño endotelial difuso y, por ende, la falla multiorgánica.

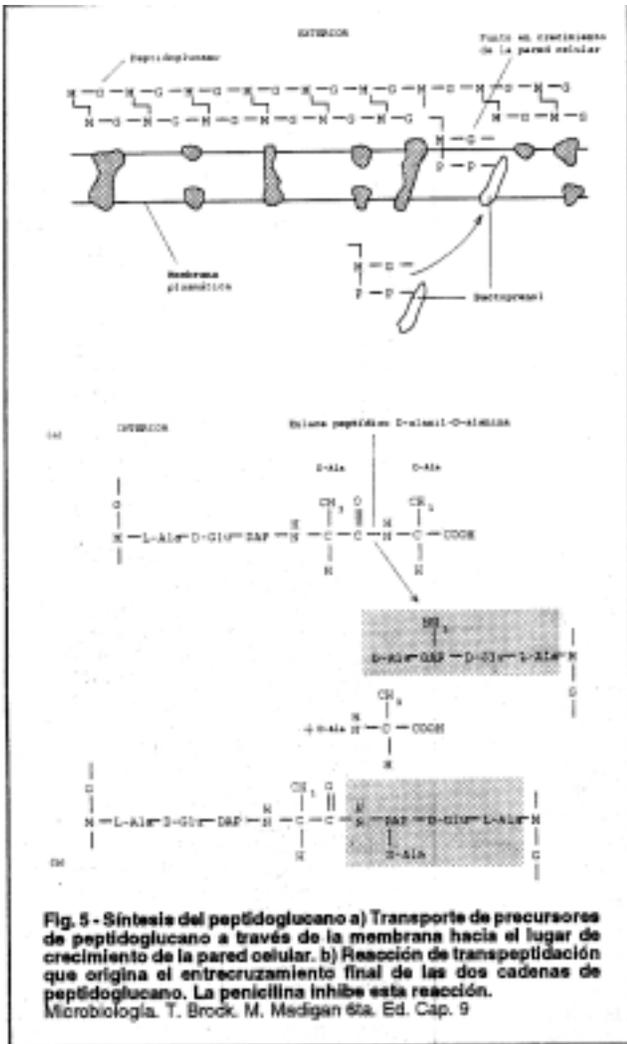
El primero es la liberación de citoquinas por los monocitos, macrófagos y otras células tisulares como IL1, IL6, IL8 (IL interleuquina), factor de necrosis tumoral (FNT). Estas a su vez estimulan la producción de prostaglandinas y leucotrienos, que son los mediadores del daño endotelial en múltiples órganos. En segundo lugar se activa el complemento y en tercer lugar se activa la cascada de la coagulación. Figura 7.

La membrana externa contiene además numerosas proteínas. Algunas de ellas la atraviesan de lado a lado, constituyendo canales, denominados porinas. Estos poros permiten el pasaje de moléculas de bajo peso molecular, como nutrientes. Las grandes moléculas no atraviesan la membrana externa, por esto estas bacterias, a diferencia de las Gram positivas, no son sensibles a una enzima, la lisozima que destruye el peptidoglicano. Incluso algunos antibióticos de alto peso molecular no pueden atravesar la membrana externa y, por lo tanto, las bacterias no son sensibles a ellos.

Pared de las bacterias Gram positivas:

Lo primero a señalar es la gruesa capa de peptidoglicano en forma de múltiples capas. Unidos a él se encuentran los ácidos teicoicos (del griego *techos*, pared). Son polisacáridos que se unen al ácido N-acetil murámico del

CUADRO 2	
Composición de la pared celular de Gram positivas y Gram negativas	
Bacterias Gram positivas	Bacterias Gram negativas
Glucopéptidos 0.02 a 0.06 µm µm Proteínas	Glucopéptido 0.01 Membrana externa:
Acidos lipoteicoicos	Lipoproteínas
Acidos teicoicos	Lipopolisacáridos
Acidos teicurónicos	Fosfolípidos
Polisacáridos	Proteínas
	Polisacáridos



peptidoglicano. Algunos ácidos teicoicos tienen unido un lípido (ácidos lipoteicoicos).

Los ácidos lipoteicoicos están embebidos en la membrana citoplasmática por su porción lipídica. Los ácidos teicoicos tienen por función estabilizar la pared.

La superficie externa del peptidoglicano de las bacterias Gram positivas está usualmente cubierta de proteínas. Los diferentes grupos de bacterias Gram positivas y las diferentes especies, difieren en la composición de sus proteínas y ácidos teicoicos, siendo esto útil para la clasificación serológica y la identificación.

En la pared de las bacterias Gram positivas no existe una endotoxina, sin embargo, la presencia de estas bacterias en los tejidos y en la sangre determina síntomas similares al shock séptico que ocurre ante la presencia de endotoxinas. Las mismas citoquinas que se liberan ante la presencia de los LPS, se sabe que son liberadas ante presencia de la pared de las bacterias Gram positivas con sus mismos

efectos.

A la luz de las investigaciones actuales, al aparecer fragmentos de peptidoglicano, ácido teicoico o una combinación de los dos, juegan un papel semejante al LPS. Si se inyectan a animales tienen efectos similares que los LPS.

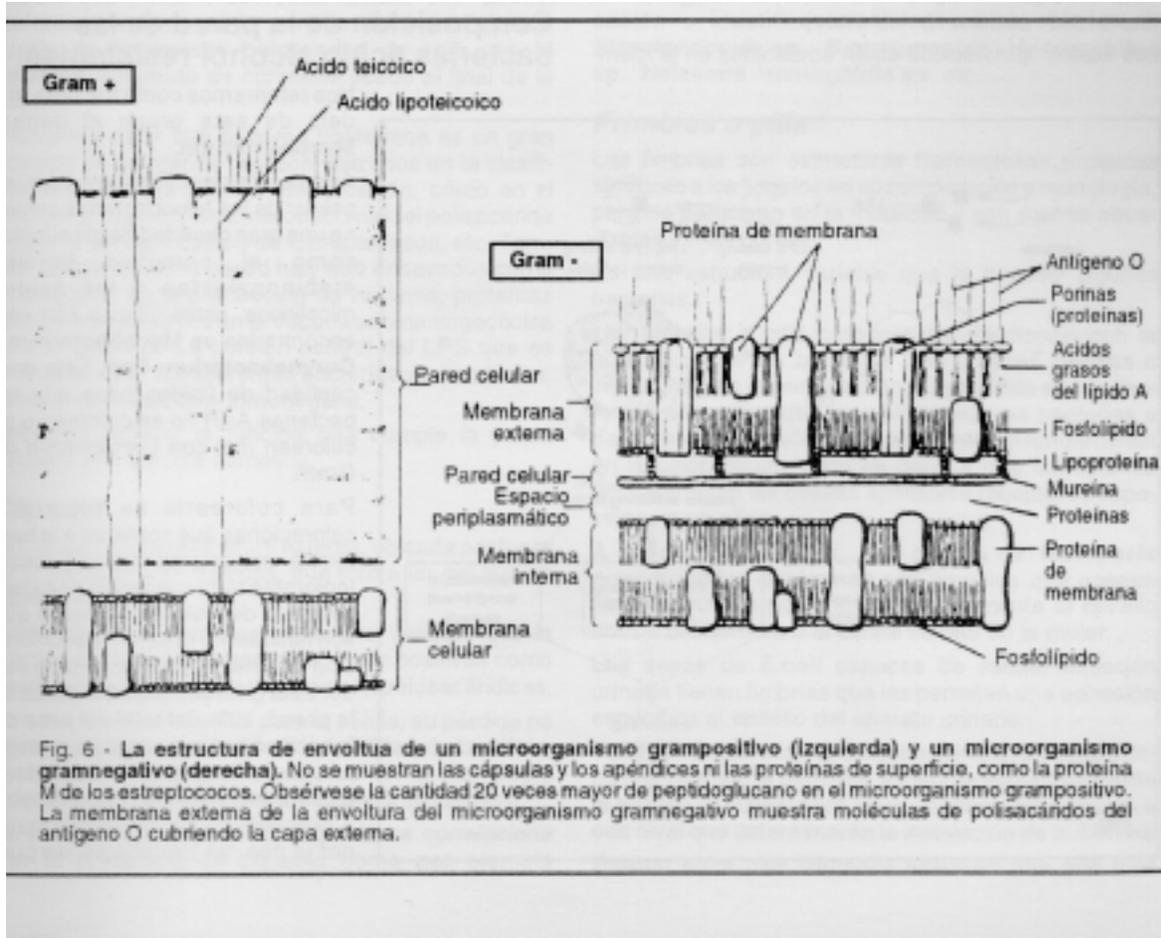
Al peptidoglicano de la pared de las bacterias Gram positivas, se pueden unir proteínas como la proteína M de *Streptococcus pyogenes* (o Streptococcus grupo A) que se vincula con la virulencia, y también se pueden asociar polisacáridos como el polisacárido C que permite la clasificación en serotipos del género Streptococcus (A, B, C, D, E, F, etc.).

Composición de la pared de las bacterias ácido alcohol resistentes (AAR):

Nos referiremos como bacteria modelo de este grupo al género *Mycobacterium*.

Además del peptidoglicano, la pared celular de las micobacterias contiene una gran cantidad de glicolípidos como el complejo lipídico arabinogalactano y los ácidos micólicos, éstos últimos son sólo encontrados en *Mycobacterium* y *Corynebacterium Spp*. Esta gran cantidad de lípidos hace que las bacterias AAR no se colorean o se colorean mal con la coloración de Gram.

Para colorearlas, se somete a las bacterias a una coloración con Fucsina (colorante rojo) con ayuda de calentamiento y luego que son teñidas así, resisten la decoloración con una mezcla de alcohol ácido. Esta gran cantidad de lípidos de la pared, 10% del total del peso de la célula de micobacterias, protege a la bacteria de la acción deletérea de los componentes del fagolisosoma y, probablemente, sea esta la razón por la que las micobacterias pueden sobrevivir dentro de los macrófagos. Los componentes de la pared de las micobacterias también tienen la capacidad de estimular al sistema inmune, tanto es así que se utiliza para aumentar la producción de anticuerpos cuando se inyecta antígenos proteicos, o sea, se utiliza como adyuvante. El adyuvante de Freund tiene como componente básico, la pared micobacteriana.



Después de analizar las diferencias entre la composición de las paredes de las bacterias Gram positivas, negativas y ácido alcohol resistentes se puede ir comprendiendo la importancia que esto tiene en el momento de estudiar mecanismos de agresión, sensibilidad a antibióticos, taxonomía, clasificación bacteriana, identificación, etc. También es necesario señalar que el tipo de pared celular podría determinar el hecho de que unas bacterias se tiñan con la coloración de Gram y otras no, y por qué las que no lo hacen sean Gram positivas y otras negativas. Recientemente se ha demostrado que en las bacterias Gram positivas es la gruesa capa de peptidoglicano con numerosos ácidos teicoicos unidos a ella, la que determina que estas bacterias retengan al colorante cristal violeta utilizado en el primer paso de la coloración, y resistan la decoloración con alcohol acetona. Por el contrario, las que lo pierden al ser descoloradas, las Gram negativas, tienen una fina capa de peptidoglicano y la membrana externa rica en lípidos, que podrían ser solubilizados con alcohol acetona y facilitar así la pérdida del cristal violeta, quedando finalmente coloreadas de rojo con safranina,

colorante de contraste usado al final de la técnica.

Podríamos decir que la pared bacteriana es un gran mosaico de antígenos que son utilizados en la clasificación bacteriana y en la identificación, como en el caso del antígeno O en enterobacterias, el polisacárido C para la serotipificación de estreptococos, etc. También antígenos de la pared han sido ensayados como inmunógenos en la producción de vacunas, como proteínas de membrana externa en la vacuna antimeningocócica para el grupo B. La porción central del LPS, que es invariable entre las diferentes bacterias y no es tóxica, se ha ensayado también como inmunógeno.

También es importante señalar la función que cumple la pared celular como barrera osmótica.

Cápsula: Es una envoltura externa, ubicada por fuera de la pared celular, mucosa, que forma un gel que se adhiere a la célula.

Como se señaló, es una estructura variable que la pueden producir tanto bacterias Gram positivas como Gram negativas. La gran mayoría son polisacáridicas.

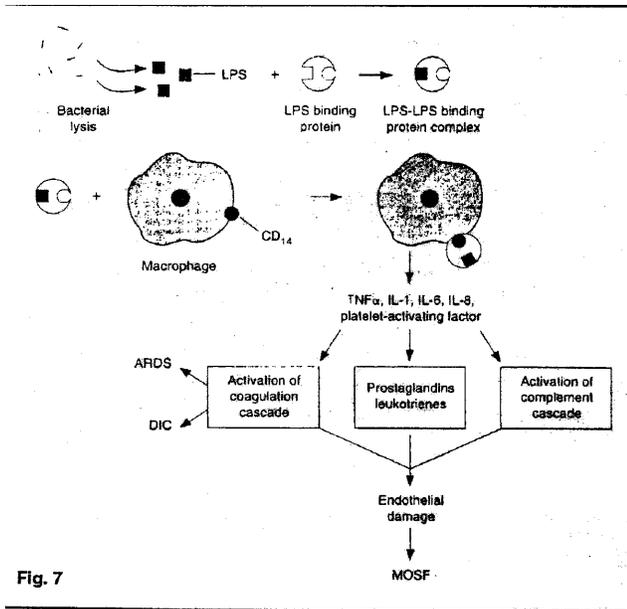


Fig. 7

No es una estructura vital para la célula, su pérdida no se relaciona con la pérdida de viabilidad de la célula, pero sí se relaciona con cambios en la morfología colonial y en la pérdida de la virulencia bacteriana.

La virulencia de algunos patógenos se correlaciona con la presencia de cápsula, como por ejemplo: *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* tipo b. La cápsula protege a la bacteria de la fagocitosis, principal mecanismo de defensa que pone en juego el huésped ante la presencia de bacterias capsuladas. Una respuesta efectiva para defenderse de este tipo de bacterias implica la producción de anticuerpos que se unan específicamente a la cápsula facilitando así la opsonización y la fagocitosis.

De su capacidad antigénica se desprende el uso de la cápsula para la producción de diferentes vacunas que estimulan la formación de anticuerpos específicos, y han demostrado ser efectivas (vacuna anti-neumocócica, anti-*Haemophilus influenzae* tipo b, anti-meningocócica A y C, etc).

Las bacterias que producen cápsula forman en los medios sólidos colonias acuosas, mucoides (M) o lisas (S), en cambio, las cepas rugosas (R) no producen cápsula. La pérdida de la capacidad de formar cápsula por mutación S a R se correlaciona con la pérdida de la virulencia y aumento de la facilidad de destrucción por los fagocitos, pero no afecta la viabilidad.

La presencia de cápsulas también se puede demostrar por tinción negativa con tinta china. La tinta china no penetra la cápsula pero delimita un contorno refringente alrededor del cuerpo bacteriano sobre un fondo oscuro.

Los antígenos capsulares son muy útiles en la clasificación

e identificación de diferentes bacterias; *Streptococcus sp.*, *S. pneumoniae*, *Haemophilus sp.*, *Neisseria meningitidis sp.*, etc.

Fimbrias o pilis: Las fimbrias son estructuras filamentosas proteicas similares a los flagelos en su composición y morfología, pero no participan en la motilidad y son menos abundantes y más cortas.

Es una estructura variable que la poseen algunas bacterias. Las fimbrias o pilis comunes se relacionan con la adherencia de las bacterias a superficies inertes o vivas. De gran importancia en este sentido es la adherencia específica que presentan muchas bacterias a determinados epitelios, jugando un papel fundamental en la colonización. Esto se debe a que las fimbrias encuentran en las células epiteliales receptores específicos para ellas.

A modo de ejemplo, las cepas de *Neisseria gonorrhoeae* patógenas son aquellas que poseen fimbrias que se adhieren específicamente al epitelio uretral del hombre o al cérvix uterino en la mujer.

Las cepas de *E. coli* capaces de causar infección urinaria tienen fimbrias que les permiten una adhesión específica al epitelio del aparato urinario.

También *E. coli* enteropatógena clásica (EPEC) tiene fimbrias que le permiten adherirse específicamente al epitelio intestinal para luego producir los cambios a ese nivel que determinarán la instalación de la diarrea.

Existen otros pilis llamados sexuales que son más largos y se presentan en número de dos o tres por célula. Estos pilis sexuales intervienen en el intercambio genético entre bacterias, de allí su nombre. El apareamiento de dos bacterias y la transferencia de ADN a través del pili sexual se conoce como conjugación. Se transfiere material genético de una célula donadora a una receptora y se transfiere sólo pequeños sectores de ADN, en general un plásmido o una porción de cromosoma movilizadora por un plásmido.

La célula donadora tiene un plásmido llamado conjugativo que posee la información genética para que esa célula

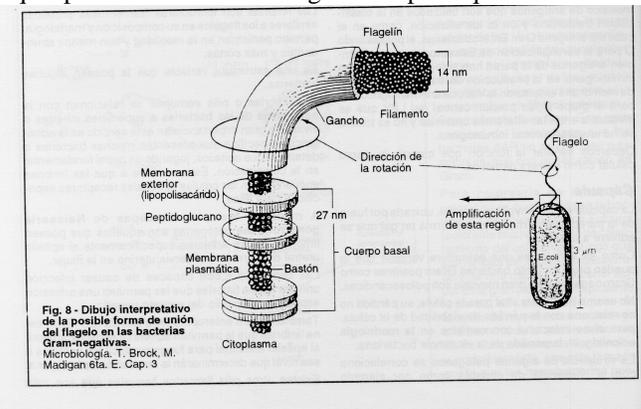
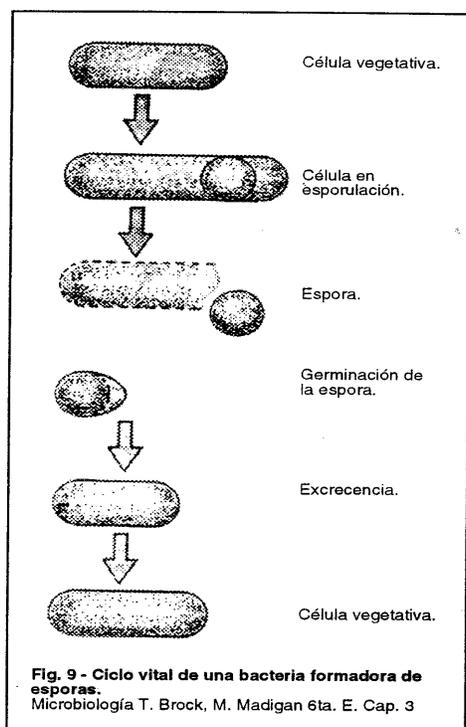


Fig. 8 - Dibujo interpretativo de la posible forma de unión del flagelo en las bacterias Gram-negativas. Microbiología. T. Brock. M. Madigan 6ta. E. Cap. 3



produzca el pili sexual que le permita la unión a la célula receptora.

Una vez unidas los pilis sexuales se retraen, permitiendo que las células se unan y pase el ADN de la célula donadora a la receptora, formándose, al parecer, una verdadera unión entre las membranas de las células que forma un puente para el pasaje de ADN.

La célula receptora está estrechamente emparentada con la donadora y posee un receptor específico para los pilis sexuales.

Flagelos: los flagelos son filamentos largos, delgados, helicoidales, de longitud y diámetro uniforme. Son responsables de la motilidad de las bacterias.

Presentan flagelos fundamentalmente: bacilos Gram positivos y Gram negativos. El flagelo está compuesto de 3 partes, el filamento, el gancho y el cuerpo basal.

El filamento es externo con respecto a la célula y se une al gancho en la superficie celular. El gancho está fijado al cuerpo basal, que a su vez está anclado en la membrana plasmática. El cuerpo basal está compuesto de un cilindro y dos o más juegos de anillos contiguos a la membrana plasmática, el peptidoglicano y, en el caso de las bacterias Gram negativas, a la membrana externa. Figura 8.

Los flagelos pueden variar en número desde uno, unos pocos o varios cientos como en algunas cepas de *E. coli*.

Según el número de flagelos y su topografía en la célula podemos hablar de **monotricas** cuando tienen un flagelo

único, **lofotricas** cuando presentan un penacho de varios flagelos polares, **anfítricas** si los flagelos se encuentran en ambos polos y **peritricas** cuando los flagelos están distribuidos sobre toda la superficie celular.

Esporos: algunas bacterias producen en su interior esporos o endosporas. Estas estructuras son muy resistentes al calor, la desecación, la radiación, los ácidos, y los desinfectantes químicos. Los producen algunas familias de bacilos Gram positivos. El espora se forma en la célula vegetativa en ciertas condiciones como son la escasez de nutrientes. En lugar de dividirse la célula, sufre una compleja serie de fenómenos que dan lugar a la formación de la espora.

Una espora puede permanecer en ese estado durante muchos años pero puede convertirse de nuevo en una célula vegetativa y volver a multiplicarse, fenómeno denominado germinación de la espora.

El descubrimiento de que hay bacterias que forman esporos fue de gran importancia para la microbiología. El conocimiento de que existen estas formas altamente termoresistentes fue esencial para el desarrollo de métodos adecuados de esterilización de medicamentos, alimentos, medios de cultivo microbiológicos, etc. El ciclo vital de una bacteria productora de esporos se puede ilustrar como se ve en la figura 9.

Los esporos son impermeables a los colorantes, entonces se pueden observar como regiones no teñidas dentro de células que han sido coloreadas con colorantes básicos como el azul de metileno. Existen además coloraciones especiales para teñir los esporos.

Si observamos una espora al microscopio electrónico se ve que presenta numerosas capas. La capa más externa es una delicada y delgada cubierta llamada exosporium. Le sigue la cubierta de la espora, que está compuesta de una capa o más de una sustancia parecida a la pared celular. Por debajo de la cubierta se encuentra la corteza y dentro de ella, el núcleo o corazón que contiene la pared de la bacteria que dio origen al espora, la membrana citoplasmática y la región nuclear.

Las esporas son ricas en ácido dipicolínico e iones calcio y hay evidencias que esta asociación cumple una función importante para conferir la excepcional resistencia al calor de los esporos.

Inclusiones y productos de almacenamiento: dentro de algunas bacterias se pueden observar gránulos y otras inclusiones. Casi siempre su función es el almacenamiento de compuestos energéticos como el ácido poli β -hidroxi-butírico que se utiliza como fuente de carbono y energía. En otros gránulos se almacena glucógeno.

Con frecuencia las inclusiones pueden verse directamente con el microscopio de luz sin tinciones especiales.