



# Microbiología veterinaria.

Licenciatura en Medicina veterinaria y  
zootecnia

Segundo cuatrimestre

Enero – Abril

Morales Figueroa Carolina del Rocío

---

## Marco Estratégico de Referencia

---

### **Antecedentes históricos**

Nuestra Universidad tiene sus antecedentes de formación en el año de 1978 con el inicio de actividades de la normal de educadoras “Edgar Robledo Santiago”, que en su momento marcó un nuevo rumbo para la educación de Comitán y del estado de Chiapas. Nuestra escuela fue fundada por el Profesor Manuel Albores Salazar con la idea de traer educación a Comitán, ya que esto representaba una forma de apoyar a muchas familias de la región para que siguieran estudiando.

En el año 1984 inicia actividades el CBTiS Moctezuma Ilhuicamina, que fue el primer bachillerato tecnológico particular del estado de Chiapas, manteniendo con esto la visión en grande de traer educación a nuestro municipio, esta institución fue creada para que la gente que trabajaba por la mañana tuviera la opción de estudiar por las tardes.

La Maestra Martha Ruth Alcázar Mellanes es la madre de los tres integrantes de la familia Albores Alcázar que se fueron integrando poco a poco a la escuela formada por su padre, el Profesor Manuel Albores Salazar; Víctor Manuel Albores Alcázar en julio de 1996 como chofer de transporte escolar, Karla Fabiola Albores Alcázar se integró en la docencia en 1998, Martha Patricia Albores Alcázar en el departamento de cobranza en 1999.

En el año 2002, Víctor Manuel Albores Alcázar formó el Grupo Educativo Albores Alcázar S.C. para darle un nuevo rumbo y sentido empresarial al negocio familiar y en el año 2004 funda la Universidad Del Sureste.

La formación de nuestra Universidad se da principalmente porque en Comitán y en toda la región no existía una verdadera oferta educativa, por lo que se veía urgente la creación de una institución de educación superior, pero que estuviera a la altura de las exigencias de los

jóvenes que tenían intención de seguir estudiando o de los profesionistas para seguir preparándose a través de estudios de posgrado.

Nuestra universidad inició sus actividades el 19 de agosto del 2004 en las instalaciones de la 4ª avenida oriente sur no. 24, con la licenciatura en puericultura, contando con dos grupos de cuarenta alumnos cada uno. En el año 2005 nos trasladamos a las instalaciones de carretera Comitán – Tzimol km. 57 donde actualmente se encuentra el campus Comitán y el corporativo UDS, este último, es el encargado de estandarizar y controlar todos los procesos operativos y educativos de los diferentes campus, así como de crear los diferentes planes estratégicos de expansión de la marca.

## **Misión**

Satisfacer la necesidad de educación que promueva el espíritu emprendedor, basados en Altos Estándares de calidad Académica, que propicie el desarrollo de estudiantes, profesores, colaboradores y la sociedad.

## **Visión**

Ser la mejor Universidad en cada región de influencia, generando crecimiento sostenible y ofertas académicas innovadoras con pertinencia para la sociedad.

## **Valores**

- Disciplina
- Honestidad
- Equidad
- Libertad

## Escudo



El escudo del Grupo Educativo Albores Alcázar S.C. está constituido por tres líneas curvas que nacen de izquierda a derecha formando los escalones al éxito. En la parte superior está situado un cuadro motivo de la abstracción de la forma de un libro abierto.

## Eslogan

“Pasión por Educar”

## Balam



Es nuestra mascota, su nombre proviene de la lengua maya cuyo significado es jaguar. Su piel es negra y se distingue por ser líder, trabaja en equipo y obtiene lo que desea. El ímpetu, extremo valor y fortaleza son los rasgos que distinguen a los integrantes de la comunidad UDS.

---

## Patología y técnicas quirúrgicas de pequeñas especies

---

### **Objetivo de la materia:**

Conocer las características morfológicas, fisiológicas y de patogenicidad de las bacterias y los hongos, las relaciones de ellos con el medio ambiente y los animales. El alumno conocerá y realizará los métodos y procedimientos empleados en un laboratorio de bacteriología para la identificación de bacterias y hongos de interés veterinario. . .

### **Unidad I** Historia y situación actual de la microbiología, morfología y estructuras bacterianas

- I.1. Definición de la microbiología
- I.2. Personajes históricos relevantes en la microbiología
- I.3. Importancia de la bacteriología en veterinaria
- I.4. Situación actual de la microbiología
- I.5. Relación entre microbiología y salud pública
- I.6. Diferencia entre procariota y eucariota
- I.7. Formas y agrupaciones bacterianas
- I.8. Componentes estructurales Nutrición
- I.9. Nutrición
- I.10. Requerimientos físicos químicos
- I.11. Temperatura psicófilos, mesófilos y termófilos
- I.12. Aerobios, anaerobios, estrictos y facultativos
- I.13. Curva de crecimiento

## **Unidad 2** Esterilización y desinfección, agentes quimioterapéuticos y antibióticos y genética bacteriana

### 2.1 Métodos de control físico de microorganismos

2.1.1 Calor húmedo: ebullición, autoclave, pasteurización, tindalización

2.1.2 Calor seco: incineración, pasteurización flama directa

2.1.3 Radiaciones rayos UV

### 2.2 Métodos de control químico de microorganismos

2.2.1 Desinfectantes y antisépticos

### 2.3 Acción por analogía sulfamidas y sustancias a fines

2.3.1 Inhibidores de las síntesis de pared celular: penicilina, cefalosporina y otros

2.3.2 Inhibidores de la proteína: amino glucósidos, macrolidos, lincomicina, tetraciclinas y cloranfenicol

2.3.3 Destruidores de la membrana citoplasmáticas: polimixina

2.3.4 Inhibidores de los ácidos nucleicos: quinolonas y nitrofuranos

2.3.5 Sinergismo, adición y antagonismo.

### 2.4 Resistencia bacteriana a las drogas

### 2.5 Mutación y selección

### 2.6 Conjugación y transformación

### 2.7 Litogénesis

### 2.8 Reacción polimerasa

### 2.9 Análisis de fragmentos de restricción

## **Unidad 3**

### **Relación hospedero bacteria, bacterias de interés veterinario e introducción a la micología**

- 3.1 Patogenicidad y virulencia
  - 3.1.1 Parasitismo: intracelular y extracelular
  - 3.1.2 Características patógenas de las bacterias
  - 3.1.3 Mecanismos de defensa del hospedero
  - 3.1.4 Clasificación de: enzootias, epizootias, panzootias y zoonoticas
- 3.6 Taxonomía y nomenclatura
- 3.7 Bacterias de interés veterinario
- 3.8 Clasificación de los hongos

## **Unidad 4**

### **Antimicóticos y micosis de interés veterinario**

- 4.1 Benzofuranos: griseofulvina
- 4.2 Polienos: anfotericina, nistatina
- 4.3 Imidazoles: Ketoconazoles, Clotrimazol miconazol
- 4.4 Pruebas de sensibilidad
- 4.5 Definición de micosis
- 4.6 Micosis superficiales
- 4.7 Micosis profundas
- 4.8 Micosis oportunistas
- 4.9 Aborto micotico
- 4.10 Micotoxinas y aflatoxinas

## Unidad I Historia y situación actual de la microbiología, morfología y estructuras bacterianas

### 1.1 Definición de la microbiología

La microbiología Veterinaria estudia bacterias, y hongos con capacidad de provocar alteraciones funcionales en órganos y tejidos de las diferentes especies animales y que a su vez pueden tener un alto potencial zoonótico.

### 1.2 Personajes históricos relevantes en la microbiología

La microbiología Veterinaria estudia bacterias, virus y hongos con capacidad de provocar alteraciones funcionales en órganos y tejidos de las diferentes especies animales y que a su vez pueden tener un alto potencial zoonótico.

La Microbiología Veterinaria es muy importante en el proceso de formación del médico veterinario, ya que le permite estructurar conceptos fundamentales para relacionar enfermedad con los diferentes agentes infecciosos de origen bacteriano, viral o fúngico, esta asignatura proporciona herramientas para aplicar la mejor prueba diagnóstica y la mejor alternativa terapéutica individual o de población animal y a su vez ayuda a implementar estrategias de prevención y control ideales, todo lo antes mencionado tiene como propósito el impactar positivamente el bienestar animal, lograr el equilibrio de los animales con su ecosistema y asegurar una buena calidad e inocuidad de los productos alimenticios derivados de los diferentes sistemas de producción para consumo humano.

### Historia de la Microbiología

1. Era de la Microbiología General y Médica (1680-1940)
2. Era de la Microbiología General y Biología Molecular (1941-1985)



### 3. Era de la Microbiología Molecular, Genómica y Proteómica (1986-)

Personajes históricos importantes.

1665. Robert Hook. Observación de la primera célula.

1684. Antonivan Leeuwenhoek. Descubrimiento de bacterias.

1798. Edward Jenner. Vacunación contra la viruela.

1857. Louis Pasteur. Microbiología de la fermentación ácido-láctica.

1860. Louis Pasteur. Las levaduras en la fermentación alcohólica.

1864. Louis Pasteur. Esclarecimiento de la controversial Generación espontánea

Personajes y sus acontecimientos:

Louis Pasteur (Francés 1822-1895)

- Isomería óptica inicio de la Estereoquímica
- Origen microbiano de las fermentaciones butírica, láctica y alcohólica
- Pasteurización
- Efecto Pasteur
- Teoría del origen microbiológico de las enfermedades
- Vacuna contra el carbunco (ántrax) y cólera en aves (las primeras atenuadas)
- Vacuna contra la rabia
- Termina con la teoría de la generación espontánea

1867. Joseph Lister. Principios antisépticos en cirugía.

1876. Ferdinand Cohn. Descubrimiento de las endosporas.

1881. Robert Koch. Métodos de estudio de bacterias en cultivos puros

Robert Koch Alemán (1843-1910)

- Descubre los agentes causales de la tuberculosis, (M. Tuberculosis), del carbunco (B. Anthracis) y del cólera (V. Cholerae)
- Aplica sus observaciones para establecer sus postulados, obtiene por primera vez cultivos puros, e introduce el uso de la tuberculina
- 1882. Robert Koch. Descubrimiento de la causa de la tuberculosis.

1882. Éliemetchnikoff. Fagocitosis.

1884. Robert Koch. Postulados de Koch.

1884. Christian Gram. Técnica de la tinción de Gram.

1885. Louis Pasteur. Vacuna contra la rabia.

1889. Sergei Winogradsky. Concepto de quimiolitótrofos.

1889. Martinus Beijerinck. Concepto de virus.

1890. Emil von Behring y Shibasaburo Kitasato. Antitoxina diftérica.

1890. Sergei Winogradsky. Crecimiento autotrófico de los quimiolitótrofos.

1901. Martinus Beijerinck. Método de enriquecimiento de cultivos.

1901. Karl Landsteiner. Grupos sanguíneos humanos.

1908. Paulehrlich. Agentes quimioterapéuticos.

1911. Francis Rous. Primer cáncer viral.

1915/1917. Frederick Twort/Felix d'Hérelle. Descubrimiento de virus bacterianos (bacteriófagos).

1928. Frederick Griffith. Descubrimiento de la transformación en neumococos.

1929. Alexander Fleming. Descubrimiento de la penicilina.

1931. Cornelius van Niel. H<sub>2</sub>S como donador de electrones en la fotosíntesis anoxigénica.
1935. Gerhard Domagk. Sulfas.
1935. Wendall Stanley. Cristalización del virus del mosaico del tabaco
1941. George Beadley Edward Tatum. Hipótesis de un gene-una enzima.
1943. Max Delbrücky Salvador Luria. Herencia de las características genéticas en bacterias.
1944. Oswald Avery, Colin Macleod, Maclyn mccarty. Explicación del trabajo de Griffith -el ADN es material genético. 1944. Selman Waksmany Albert Schatz. Descubrimiento de la estreptomina
1946. Edward Tatumy Joshua Lederberg. Conjugación bacteriana.
1951. Bárbara mcclintock. Descubrimiento de elementos transponibles.
1952. Joshua Lederberg y Norton Zinder. Transducción bacteriana.
1953. James Watson, Francis Crick y Rosalind Franklin. Estructura del ADN
1959. Arthur Pardee, François Jacob y Jacques Monod. Regulación de genes por una proteína represora.
1959. Rodney Porter. Estructura de la inmunoglobulina
1959. F. Macfarlane Burnet. Teoría de la selección por clonación.
1960. François Jacob, David Perrin, Carmen Sánchez y Jacques Monod. Concepto de operón.
1960. Rosalyn Yalow y Solomon Berson. Desarrollo de los radioinmuno-ensayos (RIA).
1961. Sydney Brenner, François Jacob y Matthew Meselson. El ARN mensajero y los ribosomas como el sitio de la síntesis de proteínas.
1966. Marshall Nirenberg y H. Gobind Khorana. Descubrimiento del código genético.
1967. Thomas Brock. Descubrimiento de bacterias que crecen en géiseres.
1969. Howard Temin, David Baltimore y Renato Dulbecco. Descubrimiento de los retrovirus/transcriptasa reversa.

1969. Thomas Brocky Hudson Freeze. Aislamiento de Thermusaquaticus, fuente de la Taqpolimerasa

1970. Hamilton Smith. Especificidad de la acción de las enzimas de restricción.

1973. Stanley Cohen, Annie Chang, robertyhellingy Herbert Boyer. ADN recombinante

1975. Georges Koholery Cesar Milstein. Anticuerpos monoclonales.

1976. Susumutonegawa. Re-arreglo de los genes de la inmunoglobulina.

1977. Carl Woesey George Fox. Descubrimiento de las arqueas.

1977. Fred Sanger, etevennikleny Alan Coulson. Métodos de secuenciación de DNA.

1981. Stanley Prusiner. Caracterización de priones

1982. Karl Stetter. Aislamiento del primer procariontecon T<sup>o</sup>óptima > 100<sup>o</sup>c.

1983. Luc Montagnier. Descubrimiento del HIV causa del SIDA. 1985. Karymullis. Invención de la PCR.

1986. Norman Pace. Ecología microbiana molecular

1992. Jedfuhrmany Edward delong. Descubrimiento de arqueas marinas.

1995. Craig Ventery Hamilton Smith. Secuencia completa de un genoma bacteriano.

1999~ Secuenciación de genomas Maximiliano Ruiz Castañeda.

Otros acontecimientos importantes:

Investigación en vacunas y Brucella

Fernando Latapíy Antonio González Ochoa. Micología Médica

Luis Felipe bojaliljaber. La clasificación de Micobacterias.

Valeria Sousa. Estudios en Cuatro Ciéneegas

Francisco G. Bolívar Zapata. Clonación de proteínas humanas

### 1.3 Importancia de la bacteriología en veterinaria

La humanidad se ha visto afectada por enfermedades que ocasionalmente en forma de peste o plaga se han extendido a través de comunidades enteras

La Microbiología Veterinaria es una asignatura básica y muy importante en el proceso de formación del médico veterinario, ya que le permite estructurar conceptos fundamentales para relacionar enfermedad con los diferentes agentes infecciosos de origen bacteriano, viral o fúngico.

Ésta ciencia proporciona herramientas para aplicar la mejor prueba diagnóstica y la mejor alternativa terapéutica individual o de población animal y a su vez ayuda a implementar estrategias de prevención y control ideales.

Lo anterior, tiene como propósito el impactar positivamente el bienestar animal, lograr el equilibrio de los animales con su ecosistema y asegurar una buena calidad e inocuidad de los productos alimenticios derivados de los diferentes sistemas de producción para consumo humano.

### 1.4 Situación actual de la microbiología

La microbiología en el campo laboral

- Agricultura
- Alimentos
- Biocombustibles
- Biotecnología
- Clínica
- Ecología

- Farmacéutica
- Investigación
- Relación entre microbiología y salud pública

## 1.5 Relación entre microbiología y salud pública

Antes del siglo XIX no existía relación entre salud pública y salud animal, sin embargo en la actualidad no existe línea divisoria entre animal y hombre debido a los actuales problemas como lo son las zoonosis, seguridad alimentaria, enfocada la salud pública y a las comunidades humanas y animales.

Entonces los MVZ somos los primordiales responsables de prevenir, controlar, erradicar e impedir que alcancen a la población humana.

Salud pública:

Es la ciencia que se ocupa de:

- Prevenir las enfermedades.
- Prologar la vida.
- Promover la salud física a través de esfuerzos sociales orientados a la mejora y el control de las infecciones.
- La educación en aspectos higiénicos-sanitarios.

Salud pública veterinaria

SPV «Mejorar la actividad encaminada a mejorar la salud de las poblaciones» Poblaciones animales

Es así como entonces cada Mvz reconocerá de manera cotidiana el resultado de la proliferación de los agentes biológico que afectan a la salud pública.

Una enfermedad es la resultante de una red de interacciones en las que intervienen: el agente (virus, bacterias, parásitos y otros), el hospedero (humano en casos de zoonosis y cualquier animal doméstico) y salvaje) y el medio ambiente que les rodea.

Agente y sus características.

El agente:

Es un elemento, sustancia o fuerza animada o inanimada; cuya presencia o ausencia puede entrar en contacto efectivo con un hospedero humano o animal susceptible y en condiciones ambientales propicias, servir como estímulo (estímulo desencadenante) para iniciar o perpetuar el proceso de enfermedad.

Clasificación de los agentes:

1. Físicos
2. Químicos
3. Biológicos

Físicos:

- Agentes punzo-cortantes
- Traumatismos
- Quemaduras
- Radiaciones
- Automotores, maquinarias y equipos industriales (lesiones ocupacionales)
- Contaminantes atmosféricos

Químicos:

Sustancias carcinogénicas:

- Arsénico
- Plomo
- Vapores tóxicos:
- Gases
- Contaminación ambiental

Biológicos:

- Parásitos animales: nematodos, cestodos, trematodos, protozoarios, metazoarios, etc.
- Parásitos vegetales: hongos y levaduras
- Bacterias y sus toxinas
- Rickettsias
- Espiroquetas
- Virus

Características de los agentes:

Morfología:

Tiene mucha importancia en la penetración del agente al huésped y en la ruta y tipo de transmisión, se tiene que tomar en cuenta el tamaño, la forma y la composición química.

Infecciosidad o infectividad:

Capacidad del agente de alojarse o penetrar y multiplicarse dentro de un organismo. Esta invasión del germen no necesariamente causará la enfermedad. Puede hacerlo o no



**Infección:**

Entrada, desarrollo o multiplicación de un agente infeccioso en el organismo de un animal. No es sinónimo de enfermedad, ya que puede manifestarse o cursar clínicamente inaparente

**Contaminación:**

Presencia del agente infeccioso en las superficies exteriores del cuerpo o de objetos (artículos)

**Medida de Infectividad (Dosis mínima infectante):**

Es el número mínimo de partículas infecciosas que se requieren para producir la infección, el número de un agente varía de un hospedero a otro y dentro de la misma especie, de la puerta de entrada, edad, etc.

**Mutagenicidad:**

Capacidad del agente de cambiar su estructura genética a través de mutación. Es importante conocer esta característica porque existen cepas resistentes a antibióticos.

**Patogenicidad:**

Es la capacidad de un agente de producir lesiones específicas en un hospedero susceptible; no implica gravedad o severidad sólo la habilidad de producirla. Cabe resaltar que la lesión en sí depende también, en lo particular, del estado fisiológico del huésped.

**Virulencia:**

Es el grado de severidad de una reacción patológica que un agente es capaz de producir independientemente del tipo de lesión de que se trate.

Inmunogenicidad Antigenicidad o Poder Antigénico (podría ser la característica principal):

Capacidad del agente estimular al hospedero a producir anticuerpos específicos, a la vez, la inmunogenicidad depende de la especie y raza del huésped, así como de la edad y su estado fisiológico entre otras, además de cierta influencia del medio ambiente como variación de clima que puede causar estrés.

Invasibilidad:

Capacidad del agente de difundirse en los tejidos del hospedero.

Variabilidad o Difusibilidad:

Capacidad del agente de adaptarse a las condiciones cambiantes del huésped o del ambiente. Tiene que ver con la capacidad de mutación y adaptación del agente.

Viabilidad:

Capacidad del agente de sobrevivir fuera de su huésped, es decir, en el medio exterior o medio ambiente

Gracias a estas características se pueden preparar vacunas o bacterinas en las cuales se someten a los agentes a diversos tratamientos, o pases sucesivos para que pierdan su capacidad de producir enfermedad (patogenicidad) y conserven la de producir anticuerpos (antigenicidad).

## 1.6 Diferencia entre procariota y eucariota

La teoría celular, establece que todos los seres vivos están constituidos por células y que toda célula proviene de una preexistente, en efecto, desde los minúsculos microorganismos hasta las inmensas ballenas azules están formadas por células.

Sin embargo, la estructura de las mismas puede ser muy diferente, los dos modelos de organización celular que existe en la naturaleza: las células procariotas y eucariotas.

De los 3.800 millones de años que la vida lleva existiendo sobre la Tierra, la historia completa de la humanidad, desde la vida en las cavernas hasta el moderno departamento de nuestros días, representa bastante menos del uno por ciento de todo este tiempo, realmente es un período insignificante.

Durante los primeros dos mil millones de años los únicos habitantes de la Tierra fueron exclusivamente las bacterias.

En realidad, tan importantes son estos microorganismos bacterianos, y tan importante es su evolución, que la división fundamental de los seres vivos en la Tierra no es la tradicionalmente supuesta entre plantas y animales, sino entre procariotas y eucariotas.

### Células procariotas

Las células procariotas estructuralmente son las más simples y pequeñas. Como toda célula, están delimitadas por una membrana plasmática que contiene pliegues hacia el interior (invaginaciones) algunos de los cuales son denominados laminillas y otro es denominado mesosoma y está relacionado con la división de la célula.

La célula procariota por fuera de la membrana está rodeada por una pared celular que le brinda protección.

El interior de la célula se denomina citoplasma. En el centro es posible hallar una región más densa, llamada nucleoide, donde se encuentra el material genético o ADN, es decir que el ADN no está separado del resto del citoplasma y está asociado al mesosoma, en el citoplasma también hay ribosomas, que son estructuras que tienen la función de fabricar proteínas. Pueden estar libres o formando conjuntos denominados polirribosomas.

Las células procariotas pueden tener distintas estructuras que le permiten la locomoción, como por ejemplo las ciliias (que parecen pelitos) o flagelos (filamentos más largos que las ciliias).

### Células eucariotas

Las células eucariotas tienen un modelo de organización mucho más complejo que las procariotas. Su tamaño es mucho mayor y en el citoplasma es posible encontrar un conjunto de estructuras celulares que cumplen diversas funciones y en conjunto se denominan organelas celulares.

El siguiente esquema representa el corte de una célula a la mitad para poder observar todas sus organelas internas.

Entre las células eucariotas podemos distinguir dos tipos de células que presentan algunas diferencia: son las células animales y vegetales, a continuación describiremos las organelas presentes en ambas células y mencionaremos aquellas que le son particulares sólo a alguno de estos tipos.

Organelos y sus funciones:

El límite externo de la célula es la membrana plasmática, encargada de controlar el paso de todas las sustancias y compuestos que ingresan o salen de la célula, la membrana plasmática está formada por una doble capa de fosfolípidos que, cada tanto, está interrumpida por proteínas incrustadas en ella.

Algunas proteínas atraviesan la doble capa de lípidos de lado a lado (proteínas de transmembrana) y otras sólo se encuentran asociadas a una de las capas, la interna o externa (proteínas periféricas), las proteínas de la membrana tienen diversas funciones, como por ejemplo el transporte de sustancias y el reconocimiento de señales provenientes de otras células,

El núcleo celular

El núcleo contiene el material genético de la célula o ADN. Es el lugar desde el cual se dirigen todas las funciones celulares, está separado del citoplasma por una membrana nuclear que es doble, cada tanto está interrumpida por orificios o poros nucleares que permiten el intercambio de moléculas entre el citoplasma y el interior nuclear. Esto le brinda la apariencia de una pelota de golf. Una zona interna del núcleo, que se distingue del resto, se denomina nucléolo. Está asociado con la fabricación de los componentes que forman parte de los ribosomas.

En el interior del núcleo, el ADN y un tipo especial de proteínas, llamadas histonas, forman la cromatina, durante gran parte del ciclo de vida de la célula la cromatina se encuentra en estado relajado. Pero en cierto momento, comienza a retorcerse y compactarse. El ADN se enrolla en sí mismo y sobre las proteínas tantas veces que llega a tener un aspecto de cuerpo sólido.

En este nuevo estado compactado, la cromatina se reorganiza en un número determinado de cuerpos densos llamados cromosomas. Por lo tanto, como están formados por el ADN, contienen la información genética, por ejemplo, en uno de los cromosomas se encontrará la información para el color del pelo, en otro podrá estar la información para el largo del cuerpo, etc.

#### Otras organelas con membrana

Las membranas internas de las células eucariotas determinan distintos ambientes donde se desarrollarán funciones diferentes, es como una fábrica donde las tareas se realizan en lugares separados para hacerlas más eficientes.

Entre las organelos con membrana se encuentra el retículo endoplasmático, tiene la apariencia de un laberinto y su membrana está asociada a la del núcleo, se distingue una región del retículo que está asociada con los ribosomas. Los ribosomas se pegan a la superficie externa de la membrana del retículo y le da una apariencia rugosa o granulada.

La zona del retículo asociada a los ribosomas tiene la función de fabricar proteínas y se denomina retículo endoplasmático rugoso o granular (RER o REG), la porción de retículo libre de ribosomas se denomina retículo endoplasmático liso (REL) y tiene, entre otras, la función de fabricar lípidos.

El Complejo de Golgi es otra organela que tiene forma de sacos membranosos apilados, aquí llegan y se modifican algunas proteínas fabricadas en el RER, los productos son dirigidos hacia diferentes destinos: Golgi es el director de tránsito de las proteínas que fabrica la célula. Algunas son dirigidas hacia la membrana plasmática, ciertas proteínas serán exportadas hacia otras células y otras serán empaquetadas en pequeñas bolsitas membranosas (llamadas vesículas).

Los lisosomas son un tipo especial de vesículas formadas en el complejo de Golgi que contiene en su interior enzimas que actúan en la degradación de las moléculas orgánicas que ingresan a la célula, a este proceso se lo denomina digestión celular.

### Mitocondrias

Estas están rodeadas de una doble membrana, la membrana interna presenta una gran cantidad de pliegues llamados crestas, en el interior, o matriz mitocondrial, se encuentra una molécula de ADN y ribosomas, en las mitocondrias se realizan las reacciones químicas que permiten generar energía química a partir de moléculas orgánicas en presencia de oxígeno y esta energía es la que mantiene todos los procesos vitales de la célula.

### Cloroplastos

Están presentes solamente en las células vegetales.

Tiene una membrana externa, una interna y además un tercer tipo de membrana en forma de bolsitas achatadas, llamadas tilacoides, que parecen platos apilados, cada una de estas pilas se denomina grana.

### Vacuolas

Son vesículas membranosas presentes en las células animales y vegetales, sin embargo son mucho más importantes en las células vegetales y pueden ocupar hasta el 70-90% del citoplasma, en general, su función es la de almacenamiento.

### Ribosomas

Son organelas formadas por dos subunidades (mayor y menor) que se originan en el nucléolo y que, una vez en el citoplasma se ensamblan para llevar a cabo su función, los ribosomas

están a cargo de la fabricación o síntesis de las proteínas, los hacen libres en el citoplasma o asociados a la superficie del RER.

### El citoesqueleto

En el citoplasma de las células eucariotas existe un conjunto variado de filamentos que forman un esqueleto celular, necesario para mantener la forma de la célula y sostener a las organelas en sus posiciones, es una estructura muy dinámica pues constantemente se está organizando y desorganizando y esto le permite a la célula cambiar de forma (por ejemplo para aquellas células que deben desplazarse) o permitir el movimiento de las organelas en el interior del citoplasma.

### Centriolos

Son dos estructuras formadas por filamentos que pueden observarse en el citoplasma de las células animales, participan durante la división de la célula.

### Pared celular

Las células vegetales, por fuera de la membrana plasmática, presenta una pared celular que le brinda protección, tiene una composición distinta a las paredes que se encuentran en las células procariotas, los depósitos de ciertos compuestos en las paredes celulares otorgan a las partes de las plantas la dureza y rigidez características, por ejemplo, de los troncos de los árboles.



## 1.7 Formas y agrupaciones bacterianas

### Clasificación basada en morfología bacteriana

La descripción microscópica de una bacteria en cuanto a su forma y agrupación, permite al microscopista llevar a cabo la identificación parcial de agentes causales de enfermedades, la forma celular de las bacterias varía, en ocasiones significativamente, de acuerdo a la fase de crecimiento en la que se encuentren, al estado nutricional, a la temperatura de incubación y a muchos otros factores, incluyendo la exposición a diversos agentes quimioterapéuticos.

Por lo anteriormente descrito y con fines meramente académicos, su descripción se basa en cuatro formas geométricas básicas:

#### 1)- Esférica (cocos).

Células individuales, pero se asocian en agrupaciones características que son útiles frecuentemente para identificar a las bacterias.

#### 2)- Cilíndrica (bacilos).

Varían considerablemente en la proporción entre longitud y anchura, la forma del extremo puede ser plana, redondeada, en forma de puro o bifurcada, aunque muchos bacilos aparecen aislados, pueden permanecer juntos después de dividirse para formar pares o cadenas. Algunos bacilos son curvados formando comas distintivas o espirales incompletas. Otras pueden adquirir una gran variedad de formas casi esféricas aisladas o filamentosas alargadas que pueden ramificarse.

#### 3)- Helicoidal o Espirales.

Son bacilos largos retorcidos y se denominan espirilos si son rígidos y espiroquetas si son flexibles.

4)- Coma o Vibriones.

Células bacterianas en forma de coma.

Los microorganismos con forma de bastón pueden ser de morfología regular, más cortos (cocobacilares) o tener alguno de sus extremos ensanchado (corineformes), las bacterias helicoidales en la que la forma espiralada puede ser laxa (cuatro vueltas) o más apretada (14 a 20 vueltas por microorganismo), además de las formas señaladas, existen algunas otras con morfología caprichosa, las cuales reciben el nombre de bacterias Pleomórficas, debido a la diversidad de formas que pueden adoptar

Clasificación morfológica bacteriana individual / agrupada

En la morfología de las bacterias deben de considerarse dos aspectos principales:

1. La de células individuales
2. Células agrupadas.

Terminología y representación esquemática de formas bacterianas:

A)- Esférica (coco):

- Cocos. *Staphylococcus* sp. Y *Streptococcus* sp.
- Grano de café (esferas aplanadas unilateralmente). *Neisseria* sp.
- Semillas de uva. *Corynebacterium poinsettiae*.

B)- Cilindros (bacilos):

Cocobacilos (ovales).	<i>Brucella sp.</i>
Bacilos de extremos redondeados.	<i>Escherichia coli.</i>
Bacilos de extremos rectangulares.	<i>Bacillus anthracis.</i>
Bacilos fusiformes (forma de huso, extremos afilados).	<i>Bacteroides sp.</i>
- Filamentos (cilindros largos).	<i>Actinomyces sp</i>

C)- Cilindros Helicoidales o Espirales:

- Cilindro en forma de "S" o de "gaviota". *Campylobacter sp.*
- Espirilos con extremos redondeados.- *Spirillum sp.*
- Espirilos con extremos de "gancho".- *Leptospira sp.*
- Espirilos con extremo afilado.- *Treponema sp.*



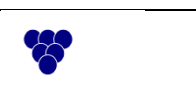






D)- Curvos:

- Bacilos curvados (forma de coma). *Vibrio sp.* Y *Campylobacter sp.*

Clasificación de la morfología bacteriana basándose en su agrupación

Las células bacterianas prácticamente nunca se encuentran en forma individual, sino que se encuentran agrupadas ya sea en forma irregular o en ocasiones formando agrupaciones tan características que se designan con nombres especiales y que son de utilidad en la identificación bacteriana, las bases fisicoquímicas precisas de los diferentes tipos de agrupación bacteriana generalmente se desconocen, pero a menudo son un reflejo del plano de división celular y de la velocidad con lo que las células se dividen.


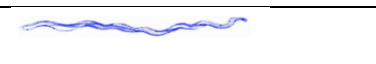



## Terminología y representación esquemática de agrupaciones bacterianas.

Diplococos (pares de cocos)	<i>Streptococcus sp.</i> Y <i>Neisseria sp.</i>	
Cadenas de cocos	<i>Streptococcus sp.</i>	
Racimos (cúmulos de cocos)	<i>Staphylococcus sp.</i>	
Tétradas (cuatro cocos)	<i>Aerococcus sp.</i>	
Sarcinas (Paquetes cuboidales)	<i>Sarcina sp.</i>	
Estreptobacilos (bacilos en cadenas)	<i>Lactobacillus sp.</i>	
Empalizadas bacilos paralelos	<i>Corynebacterium sp.</i>	
Formas de "V"	<i>Corynebacterium sp.</i>	
Letras Chinas.	<i>Corynebacterium sp.</i>	

Clasificación bacteriana, Güirís ADM 2013.

## Forma y dimensiones bacterianas:

Las dimensiones de las bacterias están sujetas a una considerable variación, en la mayoría de los casos la forma bacilar posee dimensiones que fluctúan entre 2 - 6  $\mu\text{m}$  de largo y 0.5 - 1.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, la forma helicoidal o espirilar pueden ser más largas (hasta 20 - 500  $\mu\text{m}$ ) y más delgadas (0.1 - 0.2  $\mu\text{m}$ ) o con diámetros de 7  $\mu\text{m}$ . Los cocos tienen un diámetro aproximado de 0.6 - 1  $\mu\text{m}$ , de acuerdo con su tamaño, las bacterias pueden agruparse de una manera general en:

	
Grandes (Espiroquetas, <i>Bacillus sp.</i> , <i>Clostridium sp.</i> ).	
Medianas (Enterobacterias).	
Pequeñas ( <i>Brucella sp.</i> , <i>Pasteurella sp.</i> , <i>Haemophilus sp.</i> )	
Muy Pequeñas ( <i>Rickettsia sp.</i> , <i>Chlamydia sp.</i> , <i>Mycoplasma sp.</i> ).	

Las bacterias varían de tamaño según el medio de cultivo y la fase de crecimiento en que se encuentren.

## I.8 Componentes estructurales Nutrición

### I.9 Nutrición

#### Fisiología bacteriana

El estudio de las funciones realizadas por los microorganismos, la función fundamental de todo ser vivo es crecer, esto es : aumentar en forma ordenada el número y la masa de todos sus componentes celulares y que están compuestas fundamentalmente por macromoléculas de: proteínas, polisacáridos, lípidos y ac. Nucleicos

#### Requerimientos nutricionales

##### Agua:

Más del 80% de la composición celular bacteriana es agua. Es el solvente universal, cumple una función tampón y actúa como coenzima de enzimas hidrolasas.

##### Fuente de Carbono:

Todos los compuestos orgánicos poseen carbono. Las fuentes más simples de carbono son el:

- CO<sub>2</sub>
- CH<sub>4</sub>

##### Fuentes más complejas son:

- Aminoácidos
- Hidratos de carbono
- Lípidos

De acuerdo a la fuente de carbono utilizada las bacterias se clasifican en:

- Autótrofas (litrosas)
- Heterótrofas(organotrofas)

Autótrofas (litrosas):

Utilizan como fuente de carbono sustancias simples : CO<sub>2</sub> y CH<sub>4</sub>

Heterótrofas(organotrofas):

Requieren de macromoléculas orgánicas más complejas Ej.: Hidratos de carbono.

Nitrogeno: Componente principal de proteínas y ac. Nucleicos

Azufre: Es utilizado por la bacteria para sintetizar aminoácidos azufrados tales como la cisteína y metionina, también forma parte de vitaminas como la biotina y tiamina

Dadores y receptores de H<sub>2</sub> Las bacterias patógenas para la especie humana, realizan su metabolismo en base a reacciones químicas, obteniendo energía fundamentalmente por oxido-reducción. De modo que requieren de sustratos oxidables y aceptores finales de electrones

Iones inorgánicos:

- Fosforo
- Potasio
- Magnesio

Oligoelementos:

- Fierro
- Cobre
- Molibdeno
- Zinc

## 1.10 Requerimientos físicos químicos

Condiciones que proporciona el medio que influyen en el crecimiento bacteriano:

1. Temperatura
2. Presión osmótica
3. pH

## 1.11 Temperatura: Psicófilos, mesófilos y termófilos

Cada especie o cepa bacteriana tiene temperaturas cardinales distintas, de modo que una bacteria puede presentar una temperatura óptima superior a la temperatura máxima de otra, o inferior a la temperatura mínima de una tercera, según el rango de temperaturas al que pueden crecer las distintas bacterias, se pueden establecer tres tipos principales:

Microorganismos psicófilos

Las psicófilas o criófilas: crecen a partir de entre -5 a 5°C.

A) Las llamadas psicófilas obligadas tienen temperatura óptima a 15-18°C, como por ejemplo *Flavobacterium*. La bacteria *Polaromonas vacuolata*, recientemente aislada en aguas heladas de la Antártida es lo que pudiéramos llamar un psicófilo extremo: tiene su óptimo de crecimiento en 4°C, y es incapaz de crecer a 14°C (¡se muere de calor!).

B) Las psicrófilas facultativas o psicotolerantes (también llamadas psicrotrofas) presentan temperatura óptima en torno a los 20-30°C y máximas a los 35°C. Las bacterias y hongos psicrotrofos son los responsables de que los alimentos guardados en nevera se estropeen al cabo del tiempo.

Ejemplos de medios permanentemente fríos son la mayor parte de las aguas oceánicas (cuya temperatura media es de unos 5°C, pero que en las profundidades alcanzan sólo 1-2°C por encima de cero) y las áreas permanentemente heladas del Ártico y de la Antártida. En los medios helados existen pequeñas bolsas o microcavidades de agua líquida, donde pueden medrar algunos microorganismos. Un ejemplo no bacteriano muy característico es el alga de las nieves (*Chlamydomonas nivalis*), que llega a conferir color rojo a la nieve en algunas zonas de montaña a mitad de la estación estival.

#### Microorganismos mesófilos

Los mesófilos presentan temperaturas óptimas a los 25-40°C y máximas entre 35 y 47°C. La mayor parte de las eubacterias (incluyendo las patógenas) pertenecen a esta categoría. La mayor parte de los microorganismos que viven en ambientes templados y tropicales, incluyendo los simbioses y parásitos, pertenecen a esta categoría.

#### Microorganismos termófilos

Las únicas formas de vida capaces de vivir por encima de 65°C son todas procariotas. Los termófilos presentan óptimos a 50-75°C y máximos entre 80 y 113°C. Dentro de esta categoría se suele distinguir las termófilas extremas (=hipertermófilas), que pueden llegar a presentar óptimos cercanos a los 100°C, y que taxonómicamente pertenecen al dominio de las Archaea.



Los hábitats naturales con temperaturas permanentemente altas (por encima de 45-50°C) están restringidos a unas pocas zonas de la biosfera, normalmente relacionadas con fenómenos volcánicos:

- Fuentes termales volcánicas terrestres (en zonas de EE. UU., Japón, Nueva Zelanda e Islandia);
- Fuentes termales submarinas: los llamados “humeros” (fumarolas hidrotermales) asociados a las grandes dorsales oceánicas);
- Fumarolas
- Los materiales en fermentación como acúmulos de abono (compost) y ensilados pueden alcanzar 65°C.

## 1.12 Aerobios, anaerobios, estrictos y facultativos

Metabolismo por su forma oxido-reducción en las bacterias de interés médico los sistemas de óxido-reducción que transforman la energía química de los nutrientes en una forma biológicamente útil, incluyen :

- La fermentación
- La respiración

En la fermentación tanto la molécula dadora como la aceptara de electrones, son compuestos orgánicos

En la respiración hay un aceptor final exógeno, que cuando es el oxígeno hablamos de respiración aerobia, y cuando es un compuesto inorgánico hablamos de respiración anaerobia

En las bacterias el aceptor final de electrones puede ser:

O<sub>2</sub>, nitratos, sulfatos, o sustancias orgánicas y esta capacidad de aceptor final de electrones permite clasificar la bacteria en tres grupos:

Aerobio estricto	Receptor final es el O <sub>2</sub> . Ej.: Mycobacterium tuberculosis
Anaerobio estricto	Receptor final es SO <sub>4</sub> o NO <sub>3</sub> . Ej.: Clostridium perfringens)
Aerobio facultativo	Respiración aeróbica anaeróbica fermentación (Mayora de bacterias patógenas para le especie humana)

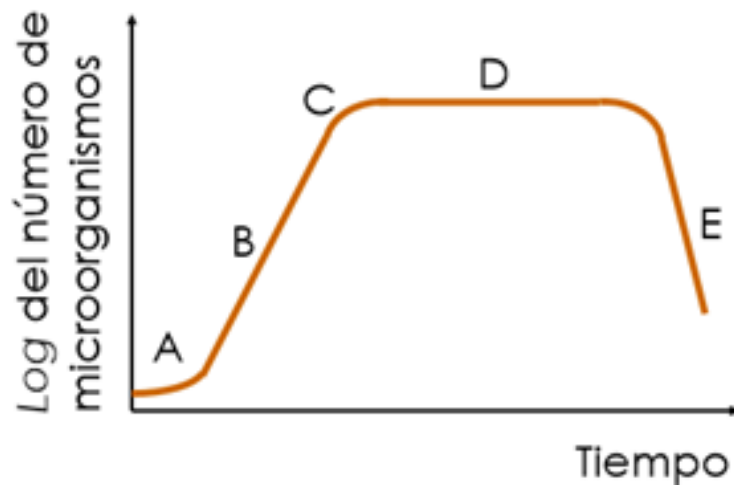
## 1.13 Curva de crecimiento

El crecimiento bacteriano se establece a través del incremento en el número de células de una población y por el consiguiente aumento de la biomasa microbiana.

La velocidad de crecimiento es el cambio en el número de células o masa celular por unidad de tiempo, el tiempo requerido para que, a partir de una célula se formen dos células, se denomina tiempo de generación, el tiempo de generación varía ampliamente entre los microorganismos. Muchas bacterias tienen tiempos de generación de 1-3 horas, pero las de crecimiento rápido pueden hacerlo en 10 minutos, mientras que otras pueden tardar días.

Las bacterias tienen crecimiento exponencial debido a que el número de células se duplica cada cierto período de tiempo. Si el crecimiento exponencial se grafica en ejes de escala aritmética, se obtiene una curva en la cual se va incrementando progresivamente la pendiente, lo que dificulta el análisis sobre la velocidad de crecimiento. Generalmente, se grafica el crecimiento bacteriano en escala logarítmica (base 10), que permite visualizar directamente el tiempo de generación.

Una característica del crecimiento exponencial es que la velocidad de incremento en el número de células es lenta inicialmente, para después incrementarse constantemente en una auténtica explosión del número de células



Fases en la curva de crecimiento, Carter G. R., Chengappa M.M. 1991

A (Fase Lago).

Periodo de latencia o adaptación: no hay aumento significativo de la densidad celular, el crecimiento es asincrónico.

B (Fase Log).

Periodo de crecimiento exponencial, el crecimiento es sincrónico y se alcanza la máxima velocidad de crecimiento.

C (Fase pre-estacionaria).

Periodo de retardo desaparece el crecimiento exponencial, los microorganismos entran en estrés.

D (Fase estacionaria). Periodo estacionario: no hay cambios significativos de la densidad celular con respecto al tiempo, existe un equilibrio entre los microorganismos vivos y muertos.

E (Fase de muerte). Fase en la que el equilibrio desaparece y predominan los microorganismos muertos, no hay nutrientes para el recambio y las condiciones del medio de cultivo son adversas para el crecimiento.

Tiempos de duplicación: ejemplos

Bacteria	Medio	Tiempo duplicación (min)
<i>Escherichia coli</i>	Glucosa-sales	17
<i>Bacillus megaterium</i>	Sacarosa-sales	25
<i>Streptococcus lactis</i>	Leche	26
<i>Staphylococcus aureus</i>	Medio de infusión de corazón	27-30
<i>Streptococcus lactis</i>	Medio con lactosa	48
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Leche	66-87
<i>Rhizobium japonicum</i>	Manitol-sales-extracto de levadura	344-461
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Medio definido	762-932
<i>Treponema pallidum</i>	Testículos de conejo	1980

Unidad 2 Esterilización y desinfección, agentes quimioterapéuticos y antibióticos y genética bacteriana

2.1 Métodos de control físico de microorganismos

Debido a su pequeño tamaño y a su estilo de vida individual, las células procariotas sufren los cambios ambientales de un modo mucho más directo e inmediato que las células de los organismos pluricelulares. A lo largo de miles de millones de años, los procariotas han venido estando sometidas a diversas presiones ambientales, y han respondido evolutivamente creando numerosos mecanismos de adaptación.

Actualmente, las únicas formas de vida existentes en determinados ambientes extremos son exclusivamente procariotas. Desafiando a nuestras ideas preconcebidas de lo que es la vida “normal”, encontramos extraordinarios seres vivos unicelulares viviendo “cómodamente” a pH muy ácidos o muy alcalinos, medrando en salmueras y salinas, o reproduciéndose a temperaturas de más de 100°C y a grandes presiones.

Sin embargo, el trabajo experimental con microorganismos ha de tener en cuenta los factores ambientales, es decir, una serie de agentes físicos y químicos que

1. Modifican la velocidad de crecimiento, provocando cambios que, a determinados valores de dichos factores pueden llegar a ocasionar la muerte de microorganismos;
2. Condicionan la distribución de los microorganismos en sus ecosistemas y hábitats naturales;
3. Permiten a los humanos controlar el crecimiento microbiano, por medio de la fijación de parámetros para:
  - A) Muta génesis,
  - B) Esterilización y desinfección
  - C) Quimioterapia.

No todos los microorganismos toleran del mismo modo un determinado factor ambiental. Así, unas determinadas condiciones pueden ser nocivas para una especie bacteriana, y en cambio ser neutras o beneficiosas para otra.

Conviene distinguir entre los efectos que un determinado agente puede tener sobre la viabilidad y los efectos que pueden simplemente afectar al crecimiento, a la capacidad de diferenciación (si la hubiera) o de reproducción.

Los principales tipos de factores a considerar se pueden desglosar de la siguiente manera

Agentes físicos	Agentes químicos
Temperatura	Desinfectantes y antisépticos
Desecación	Quimioterápicos de síntesis
Radiaciones	Antibióticos
Ondas sonoras	
Presión hidrostática	
PH	
Presión osmótica	

### 2.1.1 calor húmedo: ebullición, autoclave, pasteurización, tindalización

La inactivación por calor húmedo requiere menores temperaturas que la que se realiza en ausencia de agua.

Ejemplos de condiciones de inactivación total por calor húmedo:

Autoclave (introducido por Chamberlain en 1884):

Es un aparato que permite calentar muestras por calor húmedo a temperaturas superiores a las de ebullición del agua (sin que ésta hierva), debido a que el tratamiento se efectúa en un compartimento estanco saturado con vapor de agua y a presiones superiores a la atmosférica.

Los parámetros de esterilización suelen ser: temperatura 121°C y 10-15 min. Como se puede deducir, estos parámetros vienen fijados por la resistencia de las esporas de especies saprofitas, que son las formas de vida que más aguantan el calor sin perder viabilidad.

(Hay que tener en cuenta que, en la práctica, a veces hay que emplear condiciones diferentes; por ejemplo: si queremos esterilizar grandes volúmenes de líquido, habrá que prolongar el tratamiento, 30 o 40 min, ya que el centro del recipiente donde va el líquido tarda más en alcanzar la temperatura de esterilización. Los medios de cultivo que incluyen glucosa deben esterilizarse a 115°C, ya que a temperaturas superiores la glucosa "carameliza"; por lo tanto, en estas ocasiones, el tiempo también es mayor: 30 min).

La acción rápida del calor húmedo depende en buena parte del alto valor de calor latente del agua (540 cal g<sup>-1</sup>); ello hace que los objetos más fríos (como las muestras a esterilizar) se calienten rápidamente por condensación de agua en su superficie.



Tindalización (nombre en honor de John Tyndall):

Es un método de esterilización fraccionada para materiales que se inactivan o estropean a más de 100°C. Consiste en someter el material a varios ciclos (normalmente 3 ó 4) de dos fases sucesivas cada uno:

- En la primera fase el material se calienta a una temperatura entre 50 y 100°C, durante 1 ó 2 horas;
- En la segunda fase el material se incuba en una estufa, a 30-37°C durante 24 horas.

Durante las fases de tipo a

Mueren todas las células vegetativas de la muestra, pero permanecen viables las esporas, que quedan activadas para germinar.

Durante las fases de tipo b

Se produce la germinación de las esporas activadas en la respectiva fase anterior.

En la siguiente fase de tipo a morirán las células vegetativas procedentes de la germinación en la fase anterior; y así sucesivamente, hasta que al cabo de unos cuantos ciclos no queda ningún microorganismo en la muestra.

Como se puede ver, este método es bastante engorroso y consumidor de tiempo, por lo que en los últimos años ha sido reemplazado por otro método de esterilización, aunque ya no dependiente del calor: se trata de la esterilización por filtración. Consiste de hacer pasar una solución a través de una membrana o filtro de un tipo de material (normalmente nitrato de celulosa) que presenta poros de un tamaño inferior al de cualquier célula bacteriana (diámetro de poro = 0,22 µm).

Aplicaciones principales del calor húmedo:

1. En la práctica cotidiana del laboratorio de microbiología, en la esterilización de medios de cultivo y soluciones.
2. En la esterilización de material quirúrgico.
3. En la esterilización o inactivación parcial, en las industrias alimentarias (conservas, leche y derivados).

A) En la industria láctea se emplean como métodos de esterilización la llamada uperización. La uperización o tratamiento UHT consiste en un tratamiento de calor húmedo donde se emplean temperaturas muy altas durante unos pocos segundos (p. Ej.: 135-150°C durante 1-2 seg).

B) Pero no siempre es imprescindible esterilizar la leche, sino que puede bastar eliminar los posibles microorganismos patógenos que pueden contaminarla, y que son más sensibles al calor que los saprófitos inofensivos, con esta inactivación parcial de la población microbiana de la leche logramos que ésta se conserve durante unos días, sin alterar apenas sus cualidades organolépticas y nutricionales. He aquí los procedimientos más habituales para conseguir esto:

I. La pasteurización (en honor a Pasteur, que la introdujo en los años 1860) consiste en tratar la leche a 63°C durante 30 min, tras los cuales se enfría y envasa rápidamente.

La pasteurización instantánea (también conocida por sus siglas en inglés HTST, de high temperature-short time) se logra calentando a 72°C durante sólo 15 segundos, tras de lo cual la muestra se enfría rápidamente.

Esta técnica es la más usada actualmente, ya que:

- Mata más rápidamente
- Mata mejor organismos más resistentes
- Altera menos el sabor
- Actúa en flujos continuos (y permite procesar grandes volúmenes de leche)

Tras la pasteurización, el número de bacterias viables desciende un 97-99%, los potenciales patógenos que pueda llevar la leche (*Brucella*, *Salmonella*, *bacilo tuberculoso*, *Streptococcus*, etc) son eliminados fácilmente. La pasteurización también se emplea para la preparación de vacunas a base de microorganismos inactivados por el calor

### 2.1.2 Calor seco: incineración, pasteurización flama directa

La esterilización por calor seco necesita recurrir a mayores temperaturas que la efectuada por el calor húmedo, ya que al no existir agua, la rotura de puentes de hidrógeno y la desnaturalización de proteínas, así como la fusión de membranas, se efectúan a mayores energías. Otros efectos del calor seco son los daños por oxidación y el provocar un aumento de la concentración de electrolitos.

Aplicaciones del calor seco:

1. El llamado horno de Pasteur, mediante calentamiento a 160-170°C durante 2-3 horas permite esterilizar materiales inertes de laboratorio resistentes al calor: material de vidrio y metálico, aceites y jaleas, etc.
2. Flameado a la llama (hasta el rojo) de asas metálicas de siembra, con las que se inoculan las bacterias.
3. Incineración de materiales de desecho.

### 2.1.3 Radiaciones rayos UV

Se puede definir la radiación como la propagación de energía por el espacio. Los principales tipos de radiaciones que pueden tener efectos sobre los seres vivos son:

Radiación electromagnética
Radiación infrarroja
Radiación visible
Ultravioleta (UV)
Rayos X
Rayos g
Rayos cósmicos

Los efectos derivados de la absorción de radiación dependen de:

- La energía de la radiación absorbida;
- La naturaleza del material.
- Fluorescencia: emisión de energía a una longitud de onda mayor que la del fotón incidente;
- Fotosensibilización: la energía se transfiere a otra molécula;
- Reacciones fotoquímicas: se origina un cambio químico;
- Emisión de calor: la energía simplemente se disipa en colisiones entre moléculas.

La luz visible y UV pueden dar origen a reacciones fotoquímicas, aparte de calor, pero la radiación infrarroja sólo conduce a disipación de calor, si bien ciertas bacterias fotosintéticas anoxigénicas pueden aprovechar el infrarrojo para la fotosíntesis.

La radiación UV tiene un efecto letal y mutagénico, que depende de su longitud de onda, ello se debe a la absorción selectiva de longitudes de onda por parte de ciertas moléculas biológicas:

- Las proteínas tienen dos picos (es decir, máximos) de absorción: uno a 280 nm, debido a los aminoácidos aromáticos (Trp, Tyr, Phe), y otro a 230 nm, debido a los enlaces peptídicos.
- El ADN y el ARN absorben a 260 nm, debido al enlace doble entre las posiciones 4 y 5 de las bases púricas y pirimidínicas.

Los rayos UV no tienen actividad ionizante, pero provocan cambios químicos en las moléculas absorbentes, de modo que aparecen moléculas alteradas denominadas genéricamente fotoproductos. Los fotoproductos originan la inactivación de macromoléculas

## 2.2 Métodos de control químico de microorganismos

Existen ciertas sustancias químicas que influyen negativamente sobre las bacterias, pudiendo ejercer dos tipos de efectos diferentes:

- Bacteriostáticos: cuando impiden el crecimiento bacteriano;
- Bactericidas: cuando destruyen (matan) las bacterias.

Conceptos básicos:

Agentes esterilizantes

Son aquellos que producen la inactivación total de todas las formas de vida microbiana (o sea, su “muerte” o pérdida irreversible de su viabilidad). (También existen agentes físicos esterilizantes, como ya vimos en los dos capítulos anteriores).

### Agentes desinfectantes (o germicidas)

Son agentes (sobre todo químicos) antimicrobianos capaces de matar los microorganismos patógenos (infecciosos) de un material. Pueden (y en muchos casos suelen) presentar efectos tóxicos sobre tejidos vivos, por lo que se suelen emplear sólo sobre materiales inertes.

### Agentes antisépticos

Son sustancias químicas antimicrobianas que se oponen a la sepsis o putrefacción de materiales vivos. Se trata de desinfectantes con baja actividad tóxica hacia los tejidos vivos donde se aplican.

### Quimioterápicos

Son compuestos químicos con actividad microbicida o microbiostática, con una toxicidad suficientemente baja como para permitir su administración a un organismo superior, en cuyos fluidos corporales y tejidos permanece estable un cierto tiempo a concentraciones tales que los hace eficaces como antimicrobianos dentro del organismo.

## 2.2.1 Desinfectantes y antisépticos

Los materiales termosensibles que no se pueden esterilizar por calor se pueden esterilizar en frío mediante ciertos agentes:

- En los hospitales, para esterilizar termómetros, catéteres, instrumentos, etc., se suele recurrir a un tipo de autoclave que usa el gas óxido de etileno o formaldehído gaseoso (ambos son agentes alquilantes)
- Pequeños objetos se pueden esterilizar en peróxido de hidrógeno (agente oxidante).
- Las cámaras de cría de animales libres de gérmenes se esterilizan con ácido peracético, un fuerte agente oxidante.

Los halógenos son agentes oxidantes muy potentes, y que tienen usos muy importantes:

- El yodo es un magnífico antiséptico de la piel (el mejor que se conoce)
- El cloro se presenta como cloro gaseoso ( $\text{Cl}_2$ ), hipocloritos y cloraminas. El efecto desinfectante se debe a la liberación de cloro libre ( $\text{Cl}_2$ ); a su vez, el  $\text{Cl}_2$  reacciona con el agua para dar ácido hipocloroso (cloh), que a pH ácido o neutro es un oxidante fuerte.
- Cloro gaseoso: a 1-3 ppm se usa en la cloración de aguas para bebida y de aguas de piscinas. Su actividad se ve muy influida (mermada) por la presencia de materia orgánica; por ello, se suele determinar la demanda de cloro del agua a tratar. Descontada dicha demanda, el cloro gaseoso mata rápidamente (15-30 segundos) a sólo 1 ppm.
- Soluciones de hipocloritos: hipocloritos de sodio, de calcio o de litio. A 200 ppm de cloro se usan ampliamente, ya como líquidos, o en polvo, en industrias alimentarias y lácteas (para desinfectar el equipamiento y maquinaria que ha de entrar en contacto con los alimentos a procesar), en restaurantes, hoteles, hospitales, etc.
- Ciertos ácidos orgánicos se usan como conservantes de alimentos, tal es el caso del ácido benzoico y del ácido sórbico. Por otro lado, los alimentos fermentados producen sus propios conservantes, como el ácido acético, láctico y propiónico.

## 2.3 Acción por analogía sulfamidas y sustancias a fines

Los quimioterápicos son sustancias con actividad antimicrobiana (microbicida o microbiostática) con toxicidad suficientemente baja como para poder ser administrados a un organismo por la vía adecuada, hasta alcanzar y mantener concentraciones eficaces en los tejidos

### Sulfamidas

Los primeros quimioterápicos de síntesis fueron las sulfamidas, su descubrimiento y la comprobación de su acción quimioterapia, marcaron el comienzo de la Quimioterapia con criterios racionales. Despertaron gran interés cuando se mostró que su mecanismo de acción depende del hecho de que funcionan como análogos de metabolitos, actuando como inhibidores competitivos respecto de cierta enzima. La primera sulfamida fue la sulfanilamida (para-aminobenceno sulfonamida).

Las sulfamidas tienen un efecto bacteriostático, su acción antibacteriana se debe al hecho de que funcionan como análogos estructurales del ácido para-aminobenzoico (PABA), inhibiendo competitivamente por el acceso a la enzima dihidropteroil-sintetasa en la ruta de síntesis del ácido tetrahidrofólico (THF).

### Otros análogos de factores de crecimiento

Las sulfonas son derivados de la dapsona (=4,4'-diamino-difenilsulfona). Aunque no se usa contra infecciones normales, ha encontrado una importante aplicación en el tratamiento de la lepra (producida por *Mycobacterium leprae*); de hecho es el quimioterápico de elección para esta enfermedad. Probablemente su mecanismo de acción esté basado en actuar como competidor del PABA.



La isoniazida es la hidrazida del ácido isonicotínico (también conocida por sus iniciales inglesas, INH), como se puede ver, es un análogo estructural de dos vitaminas: la nicotinamida y el piridoxal, tiene efecto bactericida incluso a bajas concentraciones (1mg/ml) e incluso intracelularmente, lo que permite su empleo contra las especies patógenas de Mycobacterium, y en general contra bacterias ácido-alcohol resistentes (Nocardia, Corynebacterium). Es el tratamiento más usado contra el bacilo de la tuberculosis (Mycobacterium tuberculosis).

Ejerce varios efectos:

- Interferencia por mecanismo aún desconocido- con la biosíntesis de la pared celular de las bacterias AAR, que conduce a desorganizar los ácidos micólicos
- Actuación como antimetabolito de nicotinamida y piridoxal

### 2.3.1 Inhibidores de las síntesis de pared celular: penicilina, cefalosporina y otros

Los antibióticos son sustancias normalmente de bajo peso molecular producidas por seres vivos (antibióticos naturales) o modificadas artificialmente a partir de ellas (antibióticos semisintéticos), que a pequeñas concentraciones tienen efectos antimicrobianos (microbicidas o microbiostáticos), tras ser administrados por vía adecuada a un organismo receptor.

La mayor parte de los antibióticos proceden del metabolismo secundario de microorganismos procariotas (actinomicetos, Bacillus, etc.) O eucariotas (hongos de los géneros Penicillium, Cephalosporium, etc.).

## Penicilinas

Fueron los primeros antibióticos naturales en descubrirse, pero en general, todos los  $\beta$ -lactámicos tienen el mismo mecanismo de acción. Actualmente las penicilinas suponen un 17% del mercado total de antibióticos

La penicilina natural, purificada por primera vez en los años 40, es la penicilina-G (o benzilpenicilina), en la que el radical acilo es el grupo bencilo (=fenilacético).

Esta penicilina presenta una serie de limitaciones e inconvenientes:

- Tiene un espectro estrecho: actúa frente a estreptococos y otros cocos Gram-positivos, pero no frente a la mayoría de bacterias Gram-negativas, porque estas últimas son impermeables debido a su membrana externa.
- Es sensible a ácidos, por lo que no puede ser administrada vía oral (se inactiva a su paso por el estómago).
- Es susceptible a enzimas inactivadoras (penicilinas) producidas por muchas bacterias.

Para solventar estos problemas se fueron “creando” variantes de esta penicilina que mejoraban algunas de sus cualidades, la mayor parte de estas variantes son penicilinas semisintéticas, que se obtienen de la natural introduciendo artificialmente nuevos grupos radicales (-R) con carboxilo en el ácido 6-aminopenicilánico.

I. Resistentes a penicilinas (p. Ej., metilicina, oxacilina). Se usan sobre todo frente a cocos Gram-positivos (*Staphylococcus aureus*, *S. Epidermidis*). Además, son resistentes en medio ácido, lo que permite su administración vía oral.

2. De espectro ampliado. Permiten un uso efectivo frente a muchas bacterias Gram-negativas (*Haemophilus influenzae*, *E. Coli*, *Proteus*, *Salmonella*, *Shigella*, etc), dentro de este grupo, destacamos las “aminopenicilinas”, como la ampicilina, o la amoxicilina: el grupo -NH<sub>2</sub> del radical acilo permite que estas penicilinas puedan atravesar la membrana externa de las bacterias Gram-negativas. Resisten los ácidos, pero desgraciadamente sólo tienen la mitad de actividad contra Gram-positivas, y algunas son inactivadas por β-lactamasas.

3. Penicilinas anti-*Pseudomonas*. La carbenicilina se usa frente a *Pseudomonas*, un patógeno oportunista muy peligroso cuando coloniza grandes quemaduras, heridas quirúrgicas, etc.

Mecanismo de acción de las penicilinas y otros antibióticos β-lactámicos:

Todas las penicilinas (incluidas las semisintéticas), son bactericidas sobre bacterias en crecimiento, y poseen el mismo mecanismo: Inhiben el sistema enzimático implicado en la reacción de transpeptidación del peptidoglucano naciente, o sea que impiden los entrecruzamientos entre cadenas de PG. Ello origina:

Acumulación de precursores del PG, sin ensamblar; Activación de una serie de autolisinas (amidases, glucosidasas), que hidrolizan el PG maduro de la bacteria; si la bacteria se encuentra en un medio hipotónico, termina lisándose.

Por lo tanto, la acción bactericida y lítica de las penicilinas depende de que la bacteria se encuentre creciendo en un medio hipotónico (en un medio hipertónico se originan protoplastos y esferoplastos).

Cuando la bacteria no está creciendo, no está haciendo renovación (“turnover”) de su pared celular, lo que implica que la penicilina no tiene “diana” sobre la que actuar; por lo tanto, en estas condiciones la bacteria puede sobrevivir

## Cefalosporinas y cefamicinas

El núcleo de estos b-lactámicos es el ácido 7-aminocefalosporánico, el anillo B es el anillo dihidrotiazina (esqueleto de 6 átomos) en lugar del anillo tiazolidina (esqueleto de 5 átomos).

Las cefalosporinas están producidas por hongos del género *Cephalosporium*, mientras que las cefamicinas lo son por ciertas especies de actinomicetos del género *Streptomyces*, estos antibióticos son muy usados actualmente en clínica, suponiendo casi el 40% del total.

La cefalosporina natural tiene poca actividad, pero sustituyendo artificialmente R1 y R2 se obtienen derivados semisintéticos muy activos, como es habitual con muchos antibióticos de uso clínico, a lo largo de los años la industria farmacéutica ha ido creando sucesivas “generaciones” de estos compuestos, con aplicaciones y ventajas diferentes, las cefalosporinas y cefamicinas de tercera generación han sustituido en muchos casos a las penicilinas, debido a su mayor espectro de acción y a que resisten mejor las b-lactamasas

### 2.3.2 Inhibidores de la proteína: aminoglucosidos, macrolidos, lincomicina, tetraciclinas y cloranfenicol

Antibióticos que interfieren en la biosíntesis de proteínas

Los antibióticos que interfieren en la síntesis de proteínas son muy variados y abundantes, y la mayoría de ellos funcionan interfiriendo con el ribosoma, sobre todo los que se unen a proteínas ribosómicas o a alguno de los ARN ribosómicos.

Obviamente, los más útiles son aquellos que tienen efectos selectivos frente a los ribosomas 70S procarióticos, pero no sobre los 80S eucarióticos.

Dentro de ellos, y siguiendo el orden natural del funcionamiento de la elongación de la cadena polipeptídica, podemos agruparlos según la fase concreta de la elongación sobre la que actúan:

- Inhibición del reconocimiento de un aminoacil-arnt (aa-arnt) hacia el sitio A del ribosoma
- Introducción de errores en la lectura de los arnm
- Inhibición de la reacción de formación del enlace peptídico
- Inhibición de la translocación del peptidil-arnt (pp-arnt) desde el sitio A al sitio P
- Bloqueo de los factores de elongación

Inductores de errores en la lectura del arnm: aminoglucósidos

Los aminoglucósidos constituyen un grupo amplio y variado de antibióticos de amplio espectro, producidos por diversas especies de *Streptomyces*, todos tienen en común varios rasgos químicos: son muy polares, policatiónicos; presentan un anillo de aminociclitol (un ciclohexitol o inositol con grupo amino); uno o más azúcares, incluyendo al menos un

aminoazúcar (aparte del aminociclitol); así, por ejemplo, la estreptomina contiene como aminociclitol la llamada estreptidina, mientras que otros aminoglucósidos presentan la 2-desoxiestreptamina).

Ejemplos de uso clínico	Bacteria productora
Estreptomina	<i>Streptomyces griseus</i>
Kanamicina	<i>S. Kanamyceticus</i>
Amikacinas	Derivados semisintéticos de la kanamicina)
Neomicina	<i>S. Fradiae</i>
Gentamicina	<i>Micromonospora purpurea</i>

#### Inhibidores de la translocación: macrólidos

Los macrólidos son antibióticos con grandes anillos lactona unidos a uno o unos pocos azúcares, suponen un 11% del total de producción de antibióticos.

El macrólido prototipo es la eritromicina, pero actualmente se usan mucho en clínica dos derivados semisintéticos de ella: la roxitromicina y la claritromicina, la produce un actinomiceto llamado *Saccharopolyspora erithraea*, y es un agente bacteriostático que se administra en infecciones de vías respiratorias ocasionadas por *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila* (legionelosis), *Corynebacterium diphtheriae* (difteria) y *Bordetella pertussis* (tosferina).

Mecanismo de acción: se une a la proteína L15, que forma parte del centro peptidil-transferasa de la subunidad grande del ribosoma 70S.

Bloquea el paso de translocación interfiriendo específicamente con la liberación del arnt desacilado, es decir, impide que el arnt “descargado” (una vez que ha cumplido su misión al

transferirse el péptido naciente al aa-arnt del sitio A) salga del sitio P; por lo tanto, el pp-arnt cargado y situado en el sitio A no puede translocarse al sitio P, y se produce la parada de la síntesis de proteínas

Inhibidores de la fase inicial de la elongación: tetraciclinas

Las tetraciclinas son antibióticos de muy amplio espectro (frente a Gram-positivas, Gram-negativas, Rickettsias y Clamidas, e incluso Micoplasmas), producidos por distintas especies de *Streptomyces*.

Se basan en el cuádruple anillo del naftaceno, actúan como bacteriostáticos, siempre y cuando las bacterias estén en crecimiento activo, como se puede ver por su espectro, son útiles incluso contra bacterias que viven como parásitos intracelulares (como las Rickettsias), debido a que su carácter hidrofóbico facilita su difusión a través de membranas.

Mecanismo de acción: provocan que la unión del aa-arnt al sitio A del ribosoma sea inestable y esté distorsionada, con lo cual se evita la elongación de la cadena.

#### 2.3.4 Inhibidores de los ácidos nucleicos: quinolonas y nitrofuranos

Las quinolonas son quimioterápicos de síntesis que bloquean la ADN-girasa bacteriana, uniéndose a la subunidad de tipo A. Recordemos que las bacterias poseen una clase especial de topoisomerasas de tipo II, llamadas girasas, que introducen superenrollamiento negativo en la doble hélice del ADN. La ADN-girasa está constituida por dos subunidades de tipo A y dos de tipo B (A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>); las de tipo A producen los cortes y empalmes sucesivos en la doble cadena, mientras que las subunidades B son atpasas que proporcionan la energía para la reacción.

El bloqueo de las quinolonas sobre la girasa supone que ésta queda “congelada” en la fase en que el ADN está unido al enzima, ello provoca la acumulación de roturas de doble cadena, lo que conduce a la muerte de la bacteria.

El ácido nalidíxico (=4-oxo, 8-azaquinolina) se sintetizó en 1962, siendo el prototipo de quinolona de primera generación, encontró su aplicación en el tratamiento de infecciones por Gram-negativas del tracto urinario, donde se concentra.

Recientemente se han sintetizado las llamadas fluoroquinolonas, como por ejemplo el ciprofloxacín, presentan 600 veces más actividad que el nalidíxico, y actualmente se recetan frecuentemente como quimioterápicos de amplio espectro

### 2.3.5 Sinergismo, adición y antagonismo.

Tipos de fármacos con relación al receptor que corresponde:

- Agonista
- Antagonista
- Agonista parcial
- Agonista-antagonista
- Agonista inverso

Agonista: tiene Afinidad y Actividad Intrínseca

Antagonista: tiene Afinidad, pero no Actividad Intrínseca

Agonista parcial: tiene Afinidad y cierta Actividad Intrínseca

Agonista-antagonista: efecto de un Agonista parcial ante un Agonista

Agonista inverso: tiene Afinidad y Actividad Intrínseca, pero inversa



## 2.4 Resistencia bacteriana a las drogas

Existen muchos mecanismos diferentes, mediante los cuales los microorganismos podrían exhibir resistencia a los medicamentos.

1. Los microorganismos producen enzimas que destruyen el medicamento activo.

Eje: los estafilococos resistentes a la penicilina G producen una beta lactamasa que destruye el medicamento (hidrolizándolo)

2. Los microorganismos cambian su permeabilidad al medicamento

Eje: las tetraciclinas se acumulan en bacterias susceptibles, pero no en las bacterias resistentes

3. Los microorganismos desarrollan un blanco estructural alterado para el medicamento

Eje: la resistencia cromosómica a los aminoglicosidos está asociada con la pérdida o alteración de alguna proteína específica sobre la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, el cual sirve como sitio eslabonante en organismos susceptibles

4. Los microorganismos desarrollan una vía metabólica alterada que funciona como atajo de la reacción la cual es inhibida por el medicamento .

Eje: algunas bacterias resistentes a las sulfonamidas no requieren PABA extracelular, sino que, a semejanza de las células de los mamíferos, puede utilizar el ácido fólico preformado

5. Los microorganismos desarrollan una enzima alterada que todavía puede ejecutar su función metabólica, pero que es afectada mucho menos por el medicamento.

Eje: en algunas bacterias susceptibles a las sulfonamidas, la tetrahidropteroicosintetasa tiene una mucha mayor afinidad para las sulfonamidas que para el PABA.

## 2.5 Mutación y selección

Origen de la resistencia a los medicamentos

1. Genético
2. Adquirido

Origen no genético:

Habitualmente se requiere para la mayoría de las acciones de los medicamentos antibacterianos, la replicación activa de las bacterias.

Consecuentemente, los microorganismos que están inactivos en su metabolismo pueden ser fenotípicamente resistentes al medicamento.

Origen genético

La mayor parte de los microorganismos resistentes a medicamentos surgen a consecuencia de cambios genéticos y de procesos subsiguientes de selección por los medicamentos antibacterianos

Resistencia cromosómica.

Esta se desarrolla como resultante de la mutación espontánea en los locus que controla la susceptibilidad a un antimicrobiano determinado.

Resistencia extra cromosómica:

Las bacterias también contienen elementos genéticos extra cromosómicos llamados plásmidos.

## 2.6 Conjugación y transformación

## 2.7 Litogénesis

### Lisogenia en los virus

Fenómeno por el cual una partícula vírica infectante (profago) no cumple el ciclo lítico de los viriones si no que se integra al material nuclear de la bacteria parásita y se divide en ella.

Consiste en la simple diferencia del ciclo cíclico de la multiplicación lítico y lisogénico de un virus que está basada en que los líticos solo infectan a la célula huésped, la destruyen (lisis) por el contrario los lisogénicos en lugar de formar nuevos virus estos se adhieren colocando su materia genética en ADN celular.

En el ciclo lisogénico no se producen fagos si no que el huésped sobrevive y después de un tiempo este puede pasar de lisogénico a lítico.

Hay dos tipos de ciclos

- Fago alfa:

Una molécula de ADN se inyecta en la bacteria del huésped, después de un tiempo de transcripción que fue necesario para sintetizar una enzima de integración se detiene a la transcripción, por un represor, la molécula fágica se inserta dentro del DNA de la célula bacteriana y la bacteria continúa creciendo y multiplicándose y los genes fágicos se reproducen como parte del cromosoma bacteriano.

- Fago  $\phi$ 1

Es el prototipo que difiere del anterior en que no hay sistema de integración y el DNA fágico se convierte en plásmido en lugar de llegar al cromosoma bacteriano

## 2.8 Reacción polimerasa en cadena

La PCR es una técnica de amplificación que permite detectar y replicar en forma selectiva una porción determinada del genoma. La técnica usa polimerasas de ADN especiales que pueden manipularse mediante cambios alternos en las condiciones de prueba (temperatura) para que se inicie la replicación en dirección 3' o 5'.

La especificidad la establecen los cebadores que reconocen sitios específicos en la cadena de ADN, de tal forma que el segmento intermedio entre los cebadores puede replicarse mediante ciclos repetidos de las condiciones de prueba. Cada fragmento recién sintetizado sirve como molde para su propia replicación, por lo tanto, la cantidad de ADN se duplica en cada ciclo

## 2.9 Análisis de fragmentos de restricción

El primer paso en el desarrollo de metodologías basadas en técnicas de biología molecular se sustentó en la detección de los ácidos nucleicos del microorganismo mediante una sonda. La sonda genética es una molécula de ácido nucleico que, una vez en estado monocatenario y marcada, se puede usar para detectar una secuencia complementaria de ADN hibridándola con ella.

Las sondas de oligonucleótidos se obtienen a partir de ADN natural, mediante clonación de fragmentos de ADN en vectores plásmidos apropiados y aislando posteriormente el ADN clonado. Sin embargo, si se conoce la secuencia del gen que interesa, es posible sintetizar la sonda específica que corresponde. Las sondas se pueden marcar con isótopos radiactivos o con sustancias que produzcan reacciones de color en condiciones adecuadas.(5-7) La construcción de sondas de virulencia como las toxinas, permite detectar los organismos que portan esos genes en las muestras clínicas, sin necesidad de cultivarlos. Un ejemplo de ello, es la sonda para las enterotoxinas de *Escherichia coli* o para la toxina de *Vibrio cholerae*, las cuales se pueden aplicar directamente en muestras de material fecal.

## Unidad 3

### Relación hospedero bacteria, bacterias de interés veterinario e introducción a la micología

#### 3.1 Patogenicidad y virulencia

**Patogenicidad:** Es la capacidad de una agente de producir lesiones específicas en un hospedero susceptible; no implica gravedad o severidad sólo la habilidad de producirla, cabe resaltar que la lesión en sí depende también, en lo particular, del estado fisiológico del huésped.

**Virulencia:**

Es el grado de severidad de una reacción patológica que una agente es capaz de producir independientemente del tipo de lesión de que se trate.

**Mecanismo patogénico**

En la relación interespecífica Huésped susceptible - Agente parasítico / simbiote / comensal, estos se exponen a un conjunto de factores (intrínsecos / extrínsecos) para que se desarrolle un proceso dinámico de relaciones microbianas de intercambio y/o transfaunación, para la colonización de bacterias, hongos, protozoarios ciliados (simbiontes) y nematodos (comensal) que darán origen al establecimiento de la Microbiota Residente Normal / Microbiota Transitoria sobre superficies corporales del huésped en donde se establecen procesos reactivos metabólicamente complejos de intercambio y aprovechamiento que contribuyen a mantener un estado normal de SALUD.

Por otra parte, cuando el huésped se expone a un agente parasítico, se realiza un mecanismo primordial del proceso infeccioso, que es la adherencia, colonización, multiplicación e invasión de bacterias, hongos, parásitos, protozoarios o moléculas activas biológicamente

transmisibles, y esto conduce a una alteración de los diferentes mecanismos específicos e inespecíficos de defensa que conllevan a una secuenciación de procesos capaces de inducir daño celular / tisular o mal funcionamiento de órganos o sistemas, mediante diferentes mecanismos patogénicos que provocan un estado de ENFERMEDAD. En donde, el huésped desarrolla un proceso de recuperación o muerte.

### 3.1.1 Parasitismo: intracelular y extracelular

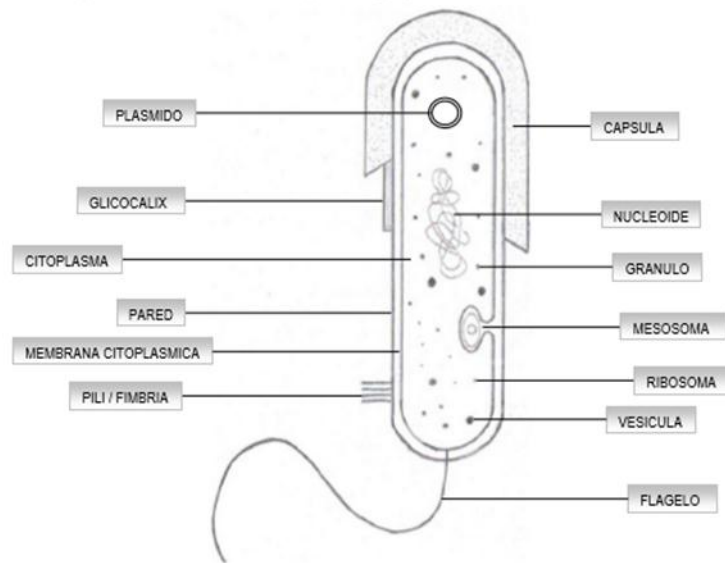
### 3.1.2 Características patógenas de las bacterias

Las estructuras bacterianas son factores patogénicos que favorecen los procesos de infección en la célula huésped del individuo animal / humano.

Factores inherentes a la célula bacteriana

La célula bacteriana está estructurada de la siguiente manera:

- Membrana celular
- Pared celular
- Citoplasma
- Ribosomas
- Gránulo
- Vesículas
- Región nuclear o nucleóide
- Plásmido
- Flagelo
- Fimbrias
- Pili
- Cápsula / Envoltura
- Mucoide (Slime layer)



Envoltura bacteriana; Carter y Chengappa, 1991

Factores de virulencia relacionado a estructuras bacterianas

### Flagelos

La presencia de flagelos en bacterias, es un factor de virulencia relacionado a la capacidad de movilización e invasividad durante el proceso de infección.

### Cápsula

La presencia de cápsula en algunas bacterias patógenas aumenta su capacidad infecciosa (virulencia) previniendo la fagocitosis y ayudando a la adherencia bacteriana a los tejidos.

La pérdida completa de la cápsula redonda en la pérdida de la invasividad o de la capacidad infecciosa. En algunos casos la cápsula bacteriana funciona como adhesina y proporcionan así las interacciones de adherencia específica entre la célula bacteriana y los tejidos del huésped,

o entre la bacteria y otras células bacterianas, además, bacterias encapsuladas están protegidas frente a la fagocitosis, puesto que los antígenos capsulares hidrofílicos repelen la superficie hidrofóbica de las células fagocíticas.

Por otra parte, la cápsula hace más virulentos a la bacteria, al esconder los antígenos bacterianos e impedir la fagocitosis por polimorfonucleares (pueden enmascarar componentes superficiales como el Lipopolisacárido bacteriano, capaces de activar la vía alterna del complemento, es decir pueden interactuar con anticuerpos opsonicos y evitar la eliminación fagocítica de los microorganismos).

La cápsula también ofrece resistencia a la acción bactericida del complemento y de los anticuerpos séricos, el material capsular habitualmente es antigénico y la detección serológica de las formas capsulares es la base de la prueba de Quellung, que puede ser utilizada para identificar o establecer subtipos de varias de las más importantes bacterias patógenas.

Bacterias con cápsula antifagocítica: *Staphylococcus aureus* (polisacárido), *Streptococcus pneumoniae* (polisacárido soluble específica o sustancia soluble específica SSE), *Streptococcus pyogenes* (ácido. Hialurónico), *Streptococcus agalactiae* (polisacárido capsular ácido siálico, galactosa, glucosa, glucosamina), *Bacillus anthracis* (ácido glutámico), *Bacillus subtilis*, *Neisseria gonorrhoeae* (cápsula de composición desconocida), *Neisseria meningitidis* (polisacáridos), *Haemophilus influenzae* (polirribitol fosfato o PRP), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella sp.*, *Yersinia pestis*, *Campylobacter fetus*, *Pseudomonas aeruginosa* (polisacárido), *Bacteroides fragilis* (polisacárido), *Francisella tularensis* (cápsula lipídica fina), *Rhodococcus equi* (polisacárido), *Calymmatobacterium (Donovania) granulomatis*, *Clostridium perfringens*.

*Streptococcus mutans*, agente etiológico de la caries dental. Su cápsula de dextrano y Lévano representa el medio por el que la bacteria se una y adhiera al esmalte dental.



Mismo efecto observado por la cápsula mucinosa de *Pseudomonas aeruginosa* que permite la adherencia al epitelio traqueal, el material capsular de cepas de *Escherichia coli*, contribuye a la formación de microcolonias que se unen a las células epiteliales

### Glicocalix

Cuando los polímeros forman una maraña de fibras fuera de la célula se denomina glicocálix y tiene un papel muy importante en la adherencia de la bacteria a otras superficies celulares.

Los polímeros pueden presentarse en masas no organizadas, como una estructura difusa de superficie que aparentemente están separados de las células, pero pueden atraparlas; por lo general son más finos que la cápsula y se le llama “envoltura mucoide”, “Limo” o “cápsula o capa mucinosa” (Slime layer).

*Staphylococcus aureus*, su acción patógena oportunista puede desarrollarse a través de distintos factores de virulencia, entre los que se destaca la formación de polisacáridos extracelulares (Slime - Biofilm). El primer paso para que se establezca una infección es la adhesión del microorganismo a las células del huésped, proceso facilitado por la formación del biofilm.

### Pared bacteriana

La estructura básica de la pared celular de una bacteria Gram positiva es una capa gruesa de 15 a 80 nm (15 a 20 capas de peptidoglicano) compuesto de cadenas de subunidades alternas de N-acetilglucosamina y ácido de Nacetilmurámico que se repiten continuamente.

Además, en la pared celular tenemos otro constituyente denominado Ácido Teicoico (griego, teicos = pared), que son polímeros hidrosolubles que contienen residuos de ribitol o glicerol, unidos a enlaces fosfodiéster (glicerofosfato, fosfato de ribitol). Los ácidos teicoicos llevan determinantes antigénicos importantes llamados antígenos Forssman y antígenos de

superficie. Intercalados dentro de la pared celular o dispuesta como capas superficiales, se encuentran diversas proteínas, polisacáridos y ácidos teicoicos, muchos de estos componentes de superficie son sustancias inmunológicas específicas como el polisacárido C y las proteínas M (antifagocítica del *Streptococcus pneumoniae*), A (*Staphylococcus aureus*), R y T.

## Endospora

La formación de una espora es un medio por el cual algunos microorganismos son capaces de sobrevivir bajo condiciones ambientales extremadamente adversas, por cual la endospora bacteriana es única en su capacidad para resistir el calor, desecación, radiación, ácidos y desinfectantes químicos.

Una sustancia química, característica de las esporas pero no de las células vegetativas, es el Ácido Dipicolínico (DPA) (derivado del ácido diaminopimélico, componente del peptidoglicano). Esta sustancia se ha encontrado en todas las esporas y es probable que se encuentre localizada fundamentalmente en el núcleo. Las esporas, también poseen una gran cantidad de iones de calcio, la mayoría de los cuales se asocian con el núcleo probablemente en combinación con el DPA. Hay buenas razones para creer que esta asociación del calcio con el DPA cumple una misión importante para conferir la excepcional resistencia al calor de las esporas bacterianas, por otra parte se piensa también que esta notable resistencia puede estar supeditada a la deshidratación del protoplasto de la espora; la resistencia a la radiación puede relacionarse al elevado número de enlaces disulfuro en la cubierta proteínica y la resistencia a la desecación se debe a la proteína semejante a la queratina de su cubierta.

## Plásmidos

Plásmidos de 50 megadalton en *Salmonella dublin* median adherencia, invasividad y resistencia a suero.

Los plásmidos pueden codificar proteínas de membrana externa y son producidos por cepas de *S. Sonnei*, *S. Flexneri* y *Escherichia coli*, actuando como receptores en la célula huésped induciendo la internalización de la bacteria.

Esto permite que la bacteria se multiplique en un ambiente limitado en la concentración de hierro libre (tejidos y fluidos del huésped) y exista una sobre captación de hierro por la bacteria. Los plásmidos y genes del cromosoma bacteriano (*Escherichia coli*) producen Hemolisinas en serogrupos porcinos que causan diarreas y enfermedad del edema (

### 3.1.3 Mecanismos de defensa del hospedero

Factores de virulencia relacionado al proceso de infección

En la relación interespecífica huésped – agente parasítico, es necesario que exista un desequilibrio de los elementos de la triada epidemiológica: Huésped, agente parasítico y ambiente, para que se desarrolle un estado de enfermedad.

Este proceso es dinámico y se nombra Proceso Salud – Enfermedad, en las enfermedades transmisibles se conoce como Proceso Infeccioso, en el cual la ruptura del equilibrio se manifiesta por un estado llamado INFECCIÓN. Para lo cual:

1)- Inicialmente el agente infeccioso debe ser transportado e inoculado al hospedero y debe sobrevivir el pase de un hospedero a otro, o a partir de un reservorio.

2)- El agente debe atacar a... Penetrar o adherirse, colonizar, difundirse y multiplicarse o completar su ciclo vital sobre o dentro del hospedero o sus células e invadir a este.

3)- Evadir los mecanismos inespecíficos de defensa (barreras mecánicas, químicas y microbiológicas) y los mecanismos específicos de defensa (inmunidad celular y humoral). Resistir por un periodo de tiempo estos mecanismos y provocar daño tisular o mal funcionamiento de órganos.

4)- Que el agente infeccioso posea los atributos patogénicos mecánicos (Citolisis e histólisis), estructurales químicos (endotoxinas y exotoxinas) para lesionar al hospedero.

Para dar origen a un proceso infeccioso, los agentes utilizan diferentes mecanismos patogénicos:

- Adherencia.
- Colonización.
- Invasión.

### 3.1.4 Clasificación de: enzootias, epizootias, panzootias y zoonosis

Factores de transmisión de la enfermedad

- Periodo en el que el animal es infectante.
- PI.
- Estabilidad del agente
- Densidad de animales en la población
- Prácticas de manejo
- Mecanismos de lucha frente a vectores y fómites.

Receptividad

Capacidad para albergar a un patógeno y permitir su desarrollo

Sensibilidad

Capacidad para desarrollar signos de un patógeno

Clasificación de acuerdo a la línea de transmisión:

1. Zoonosis hombre al animal
2. Anzoonosis hombre animal y viceversa

De acuerdo al ciclo evolutivo:

- Zoonosis directa
- Ciclozoonosis
- Metazoonosis
- Saprozoonosis

Zoonosis directa:

De un vertebrado a otro, por contacto directo, fómites.

Ciclozoonosis:

Requieren de más de un hospedador vertebrado (intervienen al menos dos vertebrados)

Metazoonosis:

Implica una especie de invertebrado (multiplicación) antes de pasar a un vertebrado.

Saprozoonosis:

Está presente un medio inanimado en el ciclo propagativo de la enfermedad.

Variaciones en el espacio de la frecuencia de las enfermedades

- **Enzootia:**

La enfermedad se presenta de manera normal y constante en una población de un determinado lugar (continente, país, región, localidad, rancho, etc.)

- **Epizootia:**

La frecuencia de la enfermedad presenta incrementos repentinos, generalmente impredecibles que superan de manera significativa la frecuencia habitual (endemicidad) de la enfermedad.

- Pandemia o panzootia:

Es una epidemia- epizootia con una difusión tan amplia que afecta varios países o incluso continentes.

### 3.6 Taxonomía y nomenclatura

La taxonomía es la ciencia de la clasificación y está constituida por dos subdisciplinas: la identificación y la nomenclatura.

Siguiendo el sistema binomial de nomenclatura, a todos los organismos (incluidas las bacterias) se les asigna un nombre de género y otro de especie. Los nombres de especies y géneros son derivados griegos o latinos de alguna propiedad descriptiva apropiada a la especie en cuestión, y se escriben en cursiva.

Una particularidad en taxonomía microbiana es el concepto de cepa que, en general, no se utiliza en organismos superiores, debido a que los microorganismos se dividen por fusión binaria, una cepa es una población genéticamente idéntica obtenida a partir de una sola célula.

Cuando se aísla un nuevo organismo debe publicarse la descripción y el nombre propuesto en la publicación oficial de registro para la taxonomía y clasificación de los microorganismos: *International Journal of Systematic Bacteriology* (IJSB), y depositarse en una colección de cultivos aprobada por la World Intellectual Property Organization (WIPO). Los microorganismos depositados se conservan congelados o liofilizados y constituyen la “cepa tipo” de la nueva especie. El IJSB publica periódicamente la lista de nuevos nombres aprobados en el “Manual Bergey’s”, uno de los principales tratados de taxonomía de los procariontes que está permanentemente actualizado (on line).

Este manual es un componente de información clásica y molecular sobre todas las especies reconocidas de procariontes y contiene claves dicotómicas que son útiles para la identificación.

## Taxonomía bacteriana convencional

La taxonomía bacteriana convencional consiste en clasificar las bacterias mediante:

- a) Características morfológicas (carácter Gram, esporas, flagelos, etc.)
- b) Tipo de metabolismo (QOH, QLA, FLA, etc.)
- c) Características bioquímicas (sustratos y productos metabólicos)
- d) Tolerancia a condiciones ambientales (diferentes gases, temperatura, ph, etc.)
- e) Sensibilidad a los antibióticos
- f) Patogeneidad
- g) Relaciones simbióticas
- h) Características inmunológicas
- i) Hábitat de origen

Para identificar un organismo se sigue una secuencia desde las características más generales a las más específicas mediante claves dicotómicas hasta llegar a definir la especie, esta metodología de identificación se emplea de rutina en microbiología clínica, pero a causa de la gran variabilidad y adaptación de los microorganismos en ambientes naturales resulta incompleta cuando se trabaja en condiciones de campo.

Ejemplo de una clave dicotómica utilizada en taxonomía bacteriana convencional

Eubacterias:	Unicelulares, pared rígida, no fotótrofas
Cocos (Gram+):	Lactobaciláceas (bacterias del ácido láctico).
Streptococcus, Leuconostoc, Micrococcus.	Micrococáceas



### 3.7 Bacterias de interés veterinario

Genero Nocardia

Especie: N. Asteroides, N. Farsinica

Enfermedad: Nocardiosis

Animales susceptibles: bovino, equino, perro, gato y el humano

Lesiones:

La N. Asteroides produce una nocardiosis visceral debido a la formación de lesiones granulomatosas en los pulmones, ganglios, glándulas mamarias, cerebro y piel. También producen supuraciones crónicas ocasionando mastitis e infecciones mamarias sépticas.

La N. Farcínica: es el causante del Lamparón bovino

Muestras:

Pus, fragmentos de órganos con las lesiones granulomatosas, leche de las infecciones mamarias.

Examen directo

Observación microscópica:

Con la tinción de Gram ( + ) se ven filamentos ramificados en forma de maza o clava que se fragmentan en formas cocoides y bacilares

Observación macroscópica:

Previa incubación en Agar ICC a 27grados y en Agar Saboraud a 25 grados sin antibióticos en aerobiosis las colonias se observan pigmentadas, amarillas y naranja, también secas o rugosas. No hemolíticas.

Pruebas Bioquímicas.

N. Asteroides: carbohidratos ( - ), N. Farcínica: acidifica la ramnosa, gelatina ( - ) crece a 45 grados , indol ( - ), hidrólisis de la ti rosina

Pruebas Biológicas

- La inoculación endovenosa al conejo causa la muerte
- Por vía intraperitoneal causa la muerte en dos semanas al curiel
- Examen indirecto
- Para su diagnóstico se aplica la prueba alérgica cutánea

Genero Actinomyces

Especie: A. Bovis

Lesiones: Forma abscesos encapsulados por lo general en los huesos.

Animales susceptibles:

- Equino: afecta el maxilar inferior y aumento de los maseteros ("quijada hinchada") y glositis en la lengua ("lengua de madera"), junto al género Brucella ocasiona una bursitis ("mal de la Cruz").
- Cerdo: mastitis
- Caninos: afecta la piel y tejido subcutáneo y produce una actinomicosis pulmonar.

Muestras:

Leche de ubres con mastitis, pus y fragmentos de las áreas de los abscesos.

Examen directo:

Observación microscópica: Previa centrifugación del pus y su sedimentación, se observan rosetas típicas en forma de clavos y sus filamentos ramificados son Gram (+).

Observación macroscópica: Previa trituración de los gránulos se siembran en Agar CC con sangre 5%, se incuba en anaerobiosis y microaerofilia con 10% CO<sub>2</sub> durante 4 días observándose las colonias blanco amarillas; al microscopio coinciden sus formas típicas de filamentos finos

Pruebas Bioquímica

- Acidifica la glucosa y lactosa
- Hidroliza el almidón

## Genero Mycobacterium

Son microorganismos muy distribuidos en la naturaleza, unos son saprófitos y otros patógenos al hombre y animales, se encuentran en el suelo, excretas y en los tejidos de los animales. Es una bacteria ácido alcohol resistente

Causa una enfermedad conocida como tuberculosis, es de tipo crónico con formación de granulomas, puede ser una tuberculosis pulmonar. T. Ganglionar, t. Renal, t. Mamaria, t. Genital, t. Intrauterina, t. Cutánea y mastitis.

Se transmite por las vías de aire-polvo y aire-gota, también por el agua, los alimentos, por la cópula y a través de la piel en caso de heridas y castraciones

## Especies susceptibles

Humano y animales M. Tuberculosis - bovino y al hombre M. Bovis

aves M. Avium

## Diagnóstico: Consta de 5 métodos

- a) Clínico: se realiza por medio de la observación de los síntomas y signos de la enfermedad.
- b) Alérgico: Consiste en una prueba alérgica cutánea llamada también simultánea) donde se utilizados tipos de tuberculinas
- c) Matadero: se comprueban las lesiones macroscópicas llamadas tuberculosas.
- d) Anatomopatológica: se observan las lesiones granulomatosas.
- e) Microbiológico: consiste en el aislamiento e identificación del agente etiológico.

Muestras:

Nódulos caseosos de las lesiones tuberculosas, esputo, leche, orina y ganglios linfáticos.

Examen directo:

Observación microscópica: el material se extiende sobre el portaobjeto y se tiñe por la técnica de Kinyoun y se observan bacilos agrupados en forma de Y, X, V ó en empalizada.

Observación macroscópica: Para eliminar la contaminación de las muestras se le aplica NaOH al 3%, se agita y se deja sedimentar; después se neutraliza con ácido clorhídrico 3N y centrifuga, por último se añade a la muestra violeta genciana y verde malaquita y se siembra en tubos con Medio Petraghani unos sin y otros con glicerina (mantiene la humedad del medio). Se incuba a 37 grados en aerobiosis, siendo el crecimiento lento de hasta 6-8 semanas.

Pruebas bioquímicas

Se emplea más que las pruebas de patogenicidad por ser más rápida y a la vez diferencial de una especie a otra dentro del género.

Examen indirecto

Se emplea un derivado proteico purificado de M. Tuberculosis y M. Bovis conteniendo 25,000 UI = 0.02 mg (PPD), se emplea también la KOT siendo un extracto de producto bacteriano.

Se aplica en el pliegue ano caudal por vía intradérmica y después en la región cervical para la confirmación, la lectura es a las 72 horas observándose una inflamación localizada.

En la prueba alérgica cutánea a la tuberculosis aviar, la tuberculina se aplica en la barbilla, con una inflamación a las 48 horas denominada eritema.

En las aves se aplica una reacción de aglutinación rápida con sangre total y en el humano y el bovino se utiliza una prueba de precipitación en agar-gel donde se observan anillos.

### Pruebas biológicas

Después de sembradas las muestras, al sedimento en el tubo se le añade 2 ml de SSF para obtener una suspensión, de cada muestra se inocula 1 ml por vía intramuscular en la región inguinal en dos cobayos, pasado 20 días se depila un cobayo en la región costal próximo a la línea dorsal y a las 24 horas se le inyecta 125 UI de tuberculina mamífera por vía intradérmica en la zona depilada, esto se repite en el otro cobayo a los 42 días de inoculado.

### Evaluación de la Prueba Biológicas:

- Con lesiones granulomatosas y el eritema sea mayor 5 y menos de 5 se considera Positivo.
- Sin lesiones granulomatosas y el eritema mida mayor a 5 y menor de 5 se considera negativo.

### Interpretación general:

- Es positivo cuando mide el eritema más de 5 mm, la investigación anatomía patológica (micro y macro es positiva) y la Tinción ácido alcohol resistente es positiva.
- Pruebas Biológicas diferencial
- Se inoculan 2 cuyos, 2 conejos y 2 pollos.
- Genero *Mycobacterium paratuberculosis*
- Enfermedad: Disentería bacilar bovina

### Lesiones:

Se presentan de tipo crónico con la mucosa intestinal engrosada y edematosa.

Especies susceptibles: bovino, ovejas y cabras

Muestras: secciones del intestino y raspados de la mucosa intestinal

Examen directo

Observación microscópica: Un fragmento de mucosa rectal se le aplica la tinción de Kinyoun siendo (+), se observan bacilos cortos y gruesos agrupados en los nichos.

Observación macroscópica: Las muestras de tejido se trituran, se digiere con tripsina, centrifuga y sedimenta en una suspensión de cloruro de benzalconio durante un día, después de sembrado e incubado, las colonias se muestran finas, húmedas y lisas.

Examen indirecto

- Una prueba endovenosa de la tuberculina aviar provoca una diarrea entre las 4-8 horas siendo una reacción positiva.
- La prueba cutánea intradérmica en cantidad de 10 ml en la región del cuello, da positivo si a las 48 horas provoca un aumento del pliegue cutáneo.

Pruebas biológicas:

Una suspensión del cultivo en aceite se inyecta a cobayos, ratones, conejos, para comprobación de las lesiones y posterior aislamiento del agente.

Mycobacterias atípicas

- Se han aislados Mycobacterias, que no ha sido identificadas como patógenas en animales y en el hombre, estando los hospederos aparentemente sanos.
- Se clasifican según el color y la velocidad de crecimiento en:
- Grupo I. Fotocromógena ( de crecimiento lento y colonias amarillas)

- Grupo II. Escotocromógenas ( de crecimiento lento y colonias amarillas en la oscuridad)
- Grupo III. No fotocromógenas ( de crecimiento lento y colonias incoloras)
- Grupo IV de crecimiento rápido (colonias incoloras)
- Los grupos I y III reaccionan positivos a la prueba de la tuberculina y producen enfermedades granulomatosas.

#### Espiroquetas patógenas y Bacterias curvadas

Son bacterias de formas estrechas en espiral y se desplazan con movimientos flexuosos. Se multiplican por división transversal.

Los movimientos son en espiral y se observan en microscopio de campo oscuro por tinción de Giemsa



Genero Treponema.

Especie: T. Palidum

Es el causante de la sífilis humana y se trasmite por el coito, pasando por infección intrauterina . Es sensible a la penicilina.

Especie: T. Hyodisenteriae

Enfermedad: Disentería porcina

Síntomas: presenta una depresión del sistema nervioso central, los flancos se ven hundidos, hay diarrea sanguinolenta mucus y exudado fibrinoso.

Patogenia: Su implantación conlleva una rápida multiplicación en la superficie de la mucosa del colon invadiendo las criptas mucosas del intestino produciendo una colitis fibrinonecrótica. Su actividad patógena va asociada con especies del género Vibrio.

Muestras: exudados del recto, del examen post mortem se envía raspado de la mucosa del intestino grueso

Examen directo

Observación microscópica: la bacteria mide 5 micras de largo por 0.5 micras de ancho, con movimientos en espiral, pero no tiene flagelos.

Pruebas Bioquímicas: La bacteria es anaerobio, catalasa (-), oxidasa (-)

Género *Borrelia*

Las bacterias se transmiten de un ave a otra por las picaduras de ectoparásitos como las garrapatas, piojos y mosquitos, de ser eliminados estos vectores las aves se recuperan en un breve plazo.

Especie: *B. Anserina*

Enfermedad: Espiroquetosis aviar

Síntomas: causa una septicemia aguda con mortalidad de 3-4 días.

Las aves presentan fiebre, diarrea, anemia, e infarto esplénico, la anemia en las aves se debe a los compuestos tóxicos de las bacterias destruidas.

Muestras: sangre, del examen post mortem se envía bazo e hígado.

Examen directo.

Observación microscópica: Con la tinción de Giemsa de los frotis y extensiones de sangre se observa espiroquetas largas con espiras amplias, poco profundas e irregulares y con filamentos terminales. Las espiroquetas pueden comprobarse su movilidad en un microscopio de campo oscuro. Se tiñen de Gram (-) y no son ácido alcohol resistente

Observación macroscópica: Se requiere cultivar en condiciones de anaerobiosis, en el medio de Naguchi (líquido ascínico del riñón) a temperatura de 37 grados. También se cultivan las muestras de sangre en el saco vitelino de embrión de pollo y de pavo.

Pruebas Bioquímicas: Son anaerobias y catalasa (-)

Genero Campylobacter

El agente etiológico es causante de aborto y disminución de la fertilidad, el germen se elimina antes y después del aborto contaminando los pastos y alimentos e incluso lo trasmite a otros animales.

El cerdo y la oveja son reservorios que contagian a vacas y ovejas en gestación. El macho lo trasmite en el coito y en el lavado prepucial.

Especie: C. Foetus

Enfermedad: Aborto micótico

Animales susceptibles: bovino, ovino, cerdo, cabras, toro y el humano.

Muestras: semen, lavado prepucial, contenido gástrico fetal, mucus cervical, estomago, hígado, pulmones, feto y riñón.

Examen directo:

Observación microscópica: En campo oscuro se observa la movilidad de la bacteria (monotrica), su forma se asemeja a una coma con su filamento en S. Es Gram (-).

Observación macroscópica: Previo al cultivo se pasa la muestra por un filtro miliporo de 0.65 micras para eliminar contaminantes, se centrifuga y sedimenta.

Los cultivos en Agar sangre y Agar Mc Conkey son a 37 grados y en Agar Saboraud a 25 grados en condiciones de microaerofilia con 10% de CO<sub>2</sub>, es conveniente añadir verde brillante, actidione y bacitracina para evitar el efecto de los contaminantes.

## Genero Leptospira

Se observó por primera vez en el hombre presentando ictericia, fiebre, hemorragias petequiales y se le conoce como "enfermedad de Weil"

Existen dos especies del género Leptospira, La L. Interrogans (patógena) y la L. Bifl exa (no patógena). Dentro de la especie existen los serovares de acuerdo a su afinidad serológica y se agrupan en serogrupos para su mejor identificación siendo los más comunes : icterohaemorrhagiae, canícola, pomona, ballum, australis, tarassovi, seiroe, etc.

Las bacterias pueden penetrar por heridas en los líquidos contaminados con la orina de animales enfermos, al llegar a sangre se manifiesta la primera fase denominada leptospiremia siendo febril y septicémica y después de 7-10 días pasa a los riñones originando una nefritis crónica y se elimina por la orina siendo esta fase denominada leptospiruria.

Pueden ser vías de entrada también la mucosa de la nariz y la boca, conjuntiva y superficies erosionadas de la piel.

Especie: L. Interrogans

Enfermedad: Leptospirosis

### Especies susceptibles

- Bovino: presenta fiebre, falta de apetito, fl acidez mamaria, descenso de la producción de leche, aborto, hemoglobinuria, anemia hemolítica y muerte. Los fetos se abortan a los 2-3 meses de gestación.
- Cerdo: ocasiona aborto y muerte neonatal, fiebre, rigidez articular e inapetencia.
- Equino: fiebre, ictericia, aborto entre (7-10 meses), oftalmía periódica

- Canino: depresión, vómitos, esclerótica, conjuntivitis hiperemia, hematuria, uremia, ictericia, y diarrea sanguinolenta.

## Muestras

- Se envían para diagnóstico bacteriológico o serológico según la fase clínica de la enfermedad ya sea leptospiremia o leptospiruria.
- Para diagnóstico bacteriológico de los animales vivos se obtienen muestras de sangre con anti coagulante y orina remitida al laboratorio ante de las 6 horas y conservada entre 4-8 grados.
- En animales muertos se envían muestras de riñón con su capsula, fragmento de 5-10 gramos de hígado y la vejiga completa y cerrada
- El feto se envía completo o fragmentos de hígado y contenido estomacal.
- Para el diagnóstico serológico, se envía sangre de:
  - Bovino, equino y ovino mediante punción de la vena yugular.
  - Porcino se toma de la vena marginal de la oreja y ó de los vasos periféricos de la cola.
  - Canino de la vena safena o radial.
  - Equino del humor ocular acuoso y humor del cristalino de donde la probabilidad del aislamiento es de 99%.

## Diagnostico bacteriológico

### Examen directo

Observación microscópica: las muestras de orina y agua con pipeta Pasteur se sitúan gotas sobre el portaobjeto en muestras de fragmentos de órganos, se añaden unas gotas de SSR (solución salina reguladora) al portaobjeto y se frota la muestra.

En muestras de sangre con anticoagulante, centrifugar, decantar el plasma y repetir la centrifugación, del sedimento se observa en el portaobjeto con cubre objeto.

Todas las muestras se observan con el microscopio de campo oscuro donde se observan formas helicoidales con espirales, los extremos presentan formas de gancho, son estrechas y con motilidad. Utilizando la tinción de Giemsa en el microscopio de campo claro se observan fi nos fi lamentos en rojo con formas curvadas. Puede teñirse también con NO3 Ag.

Espiral flexible, sin flagelos (espiroquetas)

Observación macroscópica: Para el aislamiento se emplea el medio de Kortoff y para conservar los cultivos puros se emplea el medio de Fletcher., todos los medios contienen suero de conejo al 10% e incubando a temperatura de 28-30 grados.

Pruebas Biológicas

De los fragmentos de órganos triturados en S.S.R., y sedimentados se toma del sobrenadante para realizar la inoculación, en el caso de la sangre con anti coagulante se utiliza directamente.

Son utilizados conejos jóvenes, curieles y hámsteres inoculando 2 animales por cada muestra por vía intraperitoneal, diariamente se realiza termometría, Para el cultivo se extrae la sangre por punción cardiaca y se sitúan 2-3 gotas en el medio de cultivo, a esta muestra de sangre se le realiza la observación macro y micro.

A los 4-5 días post inoculación se sacrifican uno de los animales para tomar muestras de riñón, hígado, orina y proceder a la siembra y aislamiento en el medio de Korthoff y obtener la observación macroscópica de las "manchas de muare"; en caso que resulte negativo el resultado, se procede igual con el otro animal a los 14-16 días de haber inoculado.

En el momento del sacrificio se obtiene la muestra de sangre para el diagnóstico serológico

## Diagnóstico serológico

### Examen indirecto

Consiste en comprobar la presencia de anticuerpos en la sangre del animal infectado o vacunado, se fundamenta en tomar sangre y del suero presentarlo a un antígeno (conocido) de serogrupo afín y comprobar la formación de inmunocomplejo, lo que permite la identificación del agente patógeno.

### Muestras:

La sangre debe ser fresca tomada antes de las 24 horas, conservada entre los 4-8 grados, no hemolisina y sin anti coagulante en tubos con tapón de goma e identificados.

Se extrae de 5-10 ml de sangre si es un suero, podrá estar fresco o congelado, manteniéndolo en tubos viales.

### Procedimiento en el laboratorio para obtener:

- Las cepas de leptospiras que serán empleadas como antígenos
- Los sueros hiperinmunes para la reacción cruzada.
- Triplicación de las cepas de leptospiras
- Se fundamenta en identificar las cualidades antigénicas, empleando la reacción de microaglutinación al presentarlo a un panel de sueros hiperinmunes
- Obtención de los sueros hiperinmunes, se proced

### 3.8 Clasificación de los hongos

Los hongos constituyen un grupo muy numeroso de organismos (se han descrito aproximadamente 500.000, pero se estima que pueden existir entre 1 y 1,5 millones de especies) que presentan una amplia distribución en la naturaleza, contribuyendo a la descomposición de la materia orgánica y participando en los ciclos biológicos. Un pequeño número son patógenos de animales y plantas. Inicialmente, los hongos fueron clasificados dentro del Reino Plantae ya que fueron considerados organismos inmóviles presentando estructuras que se asientan firmemente en el sustrato sobre el que crecían. Sin embargo, cuando se ha aplicado la biología molecular en los estudios taxonómicos se ha observado que los hongos están más próximos al Reino Animalia que al Plantae.

Los hongos constituyen un conjunto de seres vivos que incluye desde organismos Unicelulares a organismos pluricelulares macroscópicos. Están formados por Células eucariotas con una pared rígida, y se caracterizan por ser inmóviles, Presentar nutrición heterótrofa por absorción y reproducción asexual y sexual.

Los hongos unicelulares son microscópicos, poseen forma redondeada y se denominan levaduras. La mayoría de los hongos, sin embargo, son pluricelulares, están formados por células cilíndricas alargadas, que se disponen linealmente para constituir largos filamentos, a los que se denomina hifas. Las hifas al crecer llegan a formar micelios visibles macroscópicamente como los mohos y las setas.

La mayoría de los hongos poseen un papel importante en la naturaleza, en la que se hallan ampliamente distribuidos, degradando y reclinando la materia orgánica muerta a merced de sus numerosas potencialidades metabólicas de tipo Quimioheterótrofo.



Algunos hongos microscópicos pueden causar diversas enfermedades, denominadas micosis; sin embargo, son escasas las especies adaptadas, estrictamente al hombre y la mayoría de las que producen enfermedad tienen su reservorio natural en el medio ambiente.

En general las células fúngicas se observan bien por microscopía convencional, aunque pueden requerir tinciones especiales para facilitar su visualización.

1. Crecen fácilmente en los medios de cultivo convencionales dando lugar a colonias
2. Visibles macroscópicamente, con morfología bien diferenciada según estén
3. Formadas por levaduras u hongos filamentosos.
4. La identificación de las levaduras se efectúa por el estudio de sus características
5. Metabólicas; pero la identificación de los hongos filamentosos se basa en sus

Características morfológicas.

#### I. Estructura celular

Las células fúngicas son eucariotas, poseen el núcleo y las estructuras propias de estas células, como son el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi, las mitocondrias y un citoesqueleto, así como ribosomas, en un citoplasma limitado por una membrana celular, que posee esteroides, recubierta por una pared rígida

Característica

Morfología

- Los hongos forman un grupo de organismos heterogéneos desde el punto de vista morfológico.
- Unos son unicelulares y están constituidos por células aisladas, ovals, de 3-10  $\mu\text{m}$  de diámetro denominadas levaduras. Otros son pluricelulares y están
- Constituidos por células alargadas, cilíndricas, de 3 a 12  $\mu\text{m}$  de diámetro,
- Dispuestas linealmente formando unas estructuras filamentosas denominadas
- Hifas, que pueden alcanzar varios centímetros de longitud. Las hifas crecen por

## Unidad 4

### Antimicóticos y micosis de interés veterinario

Las drogas antimicóticas pueden clasificarse según su mecanismo de acción. Pueden agruparse, también de acuerdo a su indicación en antimicóticos para tratar micosis sistémicas y/o superficiales

#### 4.1 Benzofuranos: griseofulvina

##### Griseofulvina

##### Farmacodinamia

La Griseofulvina rompe el uso mitótico al interactuar con los microtúbulos polimerizados. Tiene, por lo tanto una acción semejante y a la de los alcaloides de la Vinca, pero sus sitios de unión son diferentes.

El resultado de la interacción con los microtúbulos es la inhibición de la división mitótica de los hongos, produciendo células multinucleadas y así evitando su expansión. De eso de desprender que actúa solamente sobre aquellos hongos que se encuentran en estado reproductivo. Es un antibiótico fungistático e insoluble en agua

##### Farmacocinética

La absorción oral es del 50% en la mayoría de los pacientes, el porcentaje de absorción puede incrementarse si se administra junto con alimentos ricos en grasas. La vida media es de 9 a 22 horas y sufre biotransformación hepática, es posible detectar en orina el 50% de la dosis oral, en forma de metabolitos, hasta 5 días después de la administración de la droga. Los barbitúricos disminuyen la absorción de esta sustancia por el tubo digestivo.

La Griseofulvina se deposita en las células basales de la piel y se detecta en ella 4 a 8 horas después de su administración.

#### Efectos adversos

Los efectos adversos son numerosos pero su incidencia es baja. Puede observarse cefalea, depresión, confusión psíquica, alucinaciones, fatiga, hepatotoxicidad, porfiria, neuritis periférica, disgeucia, eritema, urticaria, fotosensibilidad, necrosis epidérmica tóxica, lupus eritematoso sistémico, reacciones del tipo Disulfirám, hematotoxicidad (leucopenia, neutropenia y basofilia puntiforme).

La Griseofulvina induce la actividad de enzimas microsómicas del hígado y con ello acelera el metabolismo de la Warfarina, Ciclosporina y también puede disminuir la eficacia de algunos anticonceptivos orales, tal vez por el mismo mecanismo. La FDA la ha clasificado dentro del Factor C (riesgo no definido en el hombre)

#### Espectro de acción

La Griseofulvina ataca a las Tiñas en general (Trichophyton, Epidermophyton, Microsporum). Actualmente se indica para el tratamiento de las tiñas de cabeza, por vía oral.

#### Contraindicaciones y precauciones

- Hipersensibilidad
- Porfiria
- Embarazo Precaución en alérgicos a Penicilina y en insuficiencia hepática

## 4.2 Polienos: anfotericina, nistatina

### Anfotericina B

La Anfotericina B se obtuvo al estudiar una cepa de *Streptomyces nodosus* que es actinomiceto aerobio, es un Macrólido heptaénico que contiene siete dobles ligaduras conjugadas en la posición trans y es 3-amino-6,6-dideoximanosa (micosamina) unida al anillo principal por un enlace glucosídico.

La anfotericina B es insoluble en agua pero se le ha preparado para venoclisis al unirla en complejos con el desoxicolato, una sal biliar, el complejo se distribuye en la forma de un polvo liofilizado (Fungizone) que contiene 50 mg. De anfotericina B, 41 mg. De desoxicolato y, como amortiguador, una cantidad pequeña de fosfato sódico.

Últimamente se utiliza también una vesícula unilaminar pequeña de Anfotericina B (Ambisome). En ella se combina 50 mg, de anfotericina B con 350 mg., de lípido en una proporción molar al 10%. Existen otras preparaciones liposomales que hacen, junto con el Ambisome, que las características del vehículo lipídico así como el tamaño, la forma, la composición y la carga influyan tanto en la distribución como en la toxicidad del preparado.

La Anfotericina B es transferida eficientemente desde el vehículo (vesículas o fosfolípidos) a las células fúngicas que parasitan el sistema reticuloendotelial (hígado, bazo, pulmón, etc.) Con menor transferencia al resto de la célula del organismo parasitado.

### Efectos adversos

Comprende fiebre, escalofríos, hiperpnea, anafilaxia, siendo el más frecuente de los efectos adversos la nefrotoxicidad.

## Interacciones medicamentosas

La asociación de Anfotericina con otros agentes nefrotóxicos como los Aminoglucósidos, Cisplatino, etc., potencian la nefrotoxicidad, igual que los pacientes tratados con Ciclosporina y Anfotericina B. Otros agentes que potencian esta acción cuando se administran en forma conjunta son las Tiazidas y los Diuréticos del asa. La hipokalemia inducida por la Anfotericina puede potenciar la toxicidad digitálica y aumentar la actividad de los agentes bloqueantes neuromusculares.

## Indicaciones

Las indicaciones principales son las micosis sistémicas como por ejemplo: aspergilosis invasora, blastomicosis, coccidioidomicosis, criptococosis, histoplasmosis, mucormicosis, esporotricosis extracutánea, en la cistitis por cándida, es eficaz el lavado vesical con Anfotericina B a dosis de 50 mg/ml de agua estéril. La recaída es frecuente si la sonda se deja en la vejiga o hay bastante orina residual después de la micción.

## Contraindicaciones y precauciones

Hipersensibilidad Precaución en insuficiencia renal.

## Nistatina

Es un antibiótico poliénico que solamente se utiliza como tratamiento local (cutáneo, vaginal u oral) para candidiasis, pues por su alta toxicidad no se utiliza por vía sistémica. No se absorbe por piel ni por tracto gastrointestinal. Los efectos adversos se presentan solo ocasionalmente y son leves: sabor amargo, náuseas, alergias.

En caso de candidiasis oral o esofágica se emplea una suspensión de 100.000 U/ml cuatro veces al día, utilizándose como colutorio y tragando la solución a posteriori. En piel se coloca dos veces al día.

### 4.3 Imidazoles: Ketoconazoles, Clotrimazol miconazol

#### Azoles antimicóticos

El grupo de los antimicóticos azólicos está compuesto por dos clases de drogas, los imidazoles y los triazoles. Aunque pertenecen a grupos químicos diferentes, estas drogas comparten el mecanismo de acción, razón por la que se las considera un único grupo farmacológico.

Los imidazoles fueron muy usados durante la década del '80 ya que permitieron el tratamiento de las micosis sistémicas por vía oral, con menor toxicidad que la Anfotericina B. El papel del Cetoconazol en la terapéutica ha disminuido considerablemente desde la introducción al mercado del Fluconazol, en 1990 y el Itraconazol en 1992. Los triazoles se han convertido desde entonces en una mejor opción para el tratamiento de las micosis sistémicas al presentar un mayor espectro antimicótico y menor toxicidad sobre el huésped al ser comparado con el Cetoconazol.

Imidazoles	Cetoconazol
	Clotrimazol
	Miconazol
	Econazol
	Oxiconazol
Triazoles	Fluconazol
	Itraconazol
	Terconazol

## Mecanismo de acción

Los azoles interfieren en la síntesis y permeabilidad de las membranas celulares fúngicas a través de la inhibición de la esterol-14 alfa- desmetilasa (asociada al sistema del citocromo P450), una de las enzimas que cataliza la conversión del lanosterol en ergosterol, lípido más abundante en las membranas de los hongos. De este modo permiten la acumulación de 14 alfa metil-esteroles que modifican la disposición interna de los componentes de la membrana, alterando así, las funciones de algunos sistemas enzimáticos de la misma (atpasa y enzimas del sistema de transporte de electrones), A las dosis usadas, los azoles son fungistáticos.

## Ketoconazol

Es la droga patrón de los azoles aunque en la actualidad ha sido desplazada por el Fluconazol y el Itraconazol. No hay preparados intravenosos y es tóxico en altas dosis. Al ser un fármaco fungistático, no es útil en inmunocomprometidos

## Farmacocinética

Sólo es soluble en agua a ph menor de tres, por lo que requiere acidez estomacal normal para una correcta absorción. Los pacientes con aclorhidria de cualquier causa (uso de bloqueantes H<sub>2</sub>, y Omeprazol, aclorhidria inducida quirúrgicamente y gastropatías relacionadas con la infección por HIV) no absorben adecuadamente la droga. La absorción, en estos pacientes, puede mejorarse si se administran previamente agentes acidificantes como el Ácido glutámico o un refresco de cola. La comida no interfiere con la absorción, y los antiácidos y Sucralfato deben tomarse dos horas después del Cetoconazol. El pico plasmático se alcanza dos horas después de la administración de 200 a 400 mg. De la droga. La biodisponibilidad de la misma varía entre 50 y 75%. Una vez absorbido, el 84% del Cetoconazol circula unido a la albúmina, el 15% se liga a los glóbulos rojos y sólo el 1% se encuentra libre. Penetra adecuadamente la epidermis, el líquido sinovial y pulmones, también se detecta en saliva, leche materna y flujo vaginal. A las dosis recomendadas, no es detectable en líquido cefalorraquídeo por lo que no está indicado en las meningitis micóticas. El

Cetoconazol es metabolizado en el hígado y excretado por bilis por lo que las dosis no deben corregirse en pacientes con insuficiencia renal. Tampoco es necesario corregir las dosis en caso de insuficiencia hepática leve a moderada pero si ésta es severa, debe suspenderse el tratamiento o reducir la dosis a la mitad. La vida media del Cetoconazol es dosis dependiente, llega a ocho horas cuando se administran 800 mg. La hemodiálisis y la diálisis peritoneal no remueven la droga de la sangre.

#### Interacciones farmacológicas

El Cetoconazol disminuye los niveles plasmáticos de isoniazida y aumenta los de drogas como Ciclosporina, Teofilina, anticoagulantes orales, algunas benzodiazepinas, Terfenadina, Astemizol, Cisapride, al inhibir en forma completa el metabolismo de éstas. La asociación del Cetoconazol con Terfenadina o Astemizol puede producir arritmias cardíacas potencialmente mortales. La inducción de la actividad de las enzimas hepáticas por parte de la Rifampicina y la Difenilhidantoína acelera la eliminación del Cetoconazol y sus concentraciones pueden disminuir más del 50%. Las interacciones en la absorción ya fueron descritas.

#### Usos clínicos:

Es eficaz tanto para micosis superficiales como profundas. Puede ser útil para tratar blastomicosis, candidiasis, coccidioidomicosis, paracoccidiomicosis, histoplasmosis y leishmaniasis. Si bien es efectivo en estas infecciones, actualmente se considera al Cetoconazol como una droga de segunda línea, luego del Fluconazol o el Itraconazol.

#### Contraindicaciones y precauciones

- Hipersensibilidad
- Aclorhidria
- Uso simultaneo de Cisapride, Astemizol o Terfenadina.
- Precaución en insuficiencia hepática y con el uso de otros hepatotóxicos.



## Fluconazol

El Fluconazol pertenece al grupo de los triazoles y presenta ventajas sobre la droga patrón del grupo, el Cetoconazol, tales como su efecto nulo sobre la esteroideogénesis del huésped y la posibilidad de usarlo en personas inmunocomprometidas.

### Interacciones con otros fármacos

El Fluconazol, como el Cetoconazol al citocromo P450. Por esta propiedad disminuye el metabolismo de ciertas drogas, aumentando las concentraciones plasmáticas y potenciando el efecto de Teofilina, hipoglucemiantes orales, anticoagulantes orales, Ciclosporina, Fenitoina, Zidovudina y otras.

### Usos clínicos:

Está indicado para el tratamiento de candidiasis localizadas (orofaríngea, vaginal, esofágica etc.)Y sistémicas, criptococosis, coccidiomicosis, histoplasmosis, blastomicosis, paracoccidiomicosis y esporotricosis. Se emplea además para evitar las recidivas de la meningitis criptococcica en pacientes inmunodeprimidos. Se investigan nuevos usos de esta droga sobre otras micosis oportunistas.

### Contraindicaciones y precauciones

- Hipersensibilidad
- Uso simultaneo de Cisapride, Astemizol o Terfenadina.
- Precaución en insuficiencia hepática e insuficiencia renal.

## Itraconazol

Es un derivado triazólico, activo por vía oral, que como las demás drogas antimicóticas de este grupo, inhibe la síntesis de ergosterol.

## Efectos adversos

En las dosis habituales (200-400 mg.) El Itraconazol no presenta toxicidad severa. Los efectos adversos más frecuentemente encontrados son: vómitos, molestias gastrointestinales, diarreas, cefaleas, mareos, rash y prurito.

El Itraconazol es una droga embriotóxica y teratogénica en ratas, por lo que no se recomienda su uso durante el embarazo.(Factor C de la FDA). Está contraindicado el uso concomitante de la misma con Terfenadina, Astemizol y Cisapride ya que esta asociación puede causar arritmias graves al paciente. Comparte con el Cetoconazol las mismas interacciones medicamentosas. El Itraconazol se administra por vía oral en forma de cápsulas o suspensiones. Esta última forma es de mayor utilidad en pacientes inmunocomprometidos por ser más fácilmente absorbible.

## Usos Clínicos

- El Itraconazol es efectivo para tratar micosis superficiales como las dermatofitias, pitiriasis versicolor y candidiasis oral, vaginal y mucocutánea.
- Es útil también en las micosis profundas como Candidiasis, Blastomicosis, Esporotricosis, Cromomicosis, Coccidioidiomycosis y Paracoccidiomicosis.
- Es droga de primera elección para el tratamiento de la Aspergilosis.

## Contraindicaciones y precauciones

- Hipersensibilidad
- Uso simultaneo de Cisapride, Midazolam, Triazolam, Quinidina o estatinas.
- Clearance de creatinina menor de 30 ml/min.
- Disfunción del ventrículo izquierdo. Precaución en enfermedad cardiovascular, enfermedad pulmonar, insuficiencia hepática, insuficiencia renal.

## Miconazol

Es un derivado imidazólico que comparte las propiedades y las interacciones medicamentosas con su grupo farmacológico. Las indicaciones del Miconazol son las mismas que las del Cetoconazol pero en pacientes que no pueden recibir la droga por vía oral.

Sin embargo, en la actualidad su uso no está recomendado debido a la existencia de fármacos más seguros. Es útil en el tratamiento tópico de las candidiasis vaginales y otras micosis superficiales, siendo su principal indicación. Entre los efectos adversos de la aplicación vaginal se destacan ardor, prurito o irritación; menos frecuentemente cefalalgias, ronchas o erupciones cutáneas. Si bien se considera que su uso durante el embarazo es inocua no es conveniente aplicarlo en la vagina durante el primer trimestre.

## Clotrimazol

Es una droga antimicótica que pertenece al grupo de los imidazoles, puede usarse por vía oral, tópica (cremas y lociones) o vaginal (tabletas y supositorios) para el tratamiento de micosis superficiales como: dermatoficias y candidiasis vulvovaginales y orofaríngeas.

La absorción tópica a través de la piel intacta es casi nula (menos del 0,5%), la absorción vaginal es de aproximadamente un 3%, permaneciendo durante 3 días en concentraciones fungicidas. La absorción oral es casi nula. La droga absorbida es excretada por orina.

## 4.5 Definición de micosis

### Micosis

Un pequeño número de hongos son capaces de causar enfermedades en el hombre por una verdadera infección. Para la mayoría de ellas la invasión del tejido del hospedador es accidental, ya que su hábitat normal es el suelo. Las excepciones son los dermatofitos, que residen en la epidermis, pelo y uñas; éstos son transmisibles de persona a persona o de un animal a una persona

Las micosis se clasifican generalmente de acuerdo con la profundidad de su penetración, las vamos a considerar formando tres grupos:

- Las dermatomicosis
- Las micosis subcutáneas
- Las micosis profundas o sistémicas

De interés veterinario:

- Hongos filamentosos
- Dermatophytos
- Levaduriformes

## 4.6 Micosis superficiales

Las dermatomicosis. Las lesiones anulares escamosas de la piel causadas por los dermatofitos se denominan tiñas (del latín tinea, polilla o gusano), ya que originalmente se pensó que estaban causadas por gusanos o por piojos. Generalmente se clasifican de acuerdo con la parte afectada del cuerpo: tinea pedis, más conocida como «pie de atleta», tinea capitis, o tiña del cuero cabelludo, y tinea corporis, o tiña de las zonas lampiñas del cuerpo.

La mayoría de las tiñas están causadas por miembros de tres géneros de hongos: Trichophyton, Microsporum y Epidermophyton. Trichophyton puede crecer en el pelo, en la piel y en las uñas; Microsporum puede crecer solamente en el pelo y en la piel; Epidermophyton puede crecer en la piel y ocasionalmente en las uñas.

Esos organismos son transmitidos por contacto directo con pelos o escamas epidérmicas infectados, los animales forman un reservorio adicional; por ejemplo, el 30 % de los perros y gatos son portadores de M. Canis, un organismo que puede causar la tiña del cuero cabelludo en los seres humanos.

### Hongos Dermatofitos

Géneros Trichophyton, Epidermophyton, Microsporum

Los hongos dermatofitos tienen como características fundamentales, ser capaces de invadir la piel lisa, las uñas, el cabello y los pelos y tiene selectiva por la queratina y son capaces de perforar los pelos debido a su intensa capacidad queratinolítica.

Especies susceptibles: Todos Los animales son susceptible.

Enfermedad: Tiñas ó Dermatomicosis.

Lesiones:

Se presentan placas llenas de escamas y en la periferia vesículas y pústulas formando costras de diferentes tamaños y grosor. En el cuerpo del animal se observan zonas alopécicas (caída del pelo); las uñas aparecen descoloridas, friables y quebradizas.

Examen directo:

En la observación microscópica de las escamas epiteliales y uñas se observan filamentos con artrosporas.

En el pelo según el tamaño de la espora y como se ordenan se clasifican en: Ectothrix:

- 1.- pelo microscópico: en vaina o mosaico.
- 2.- pelo microide: cadena de artrosporas
- 3.- pelo megasporado: es una vaina periférica de esporas grandes.

Muestras: Se envían pelos, escamas, y costras de la piel, preferente del borde de la lesión

Examen directo

Observación microscópica. Con azul de algodón, lactofenol, naoh y KOH al 10-40% se observan hifas septadas y segmentadas en cadenas de artrosporas.

Para su cultivo se utilizan los siguientes medios de cultivo:

- Agar DTM (Dermatophytus Test Médium) con anti biótico.
- Agar Saboraud con anti biótico y actidione.
- Agar infusión cerebro corazón con sangre, cloranfenicol y actidione.

Género Trichophyton

Especies: Trichophytum verrucosum

Causa una dermatomicosis en el ganado vacuno, afecta ocasionalmente también al equino, perros y otros animales domésticos. Las esporas se encuentran ampliamente diseminadas en las naves y establos.

Enfermedad: Tiña favosa del ganado bovino

Animales susceptibles: En el bovino las lesiones están por todo el cuerpo, tanto en la cabeza, cuello, lados del tronco y la espalda, y en el ternero las lesiones están alrededor de los ojos, orejas y final de la cabeza.

Muestras: Se requiere realizar primero una limpieza y desinfección de la zona lesionada con alcohol al 70%, las muestras de pelo deben tomarse alrededor de la lesión alopecica, tomar también escamas y costras con un raspado de la piel.

Examen directo

Observación microscópica

Se emplea con el KOH del 10-40% o el lactofenol, en muestras de pelos se observan cadenas de artrosporas en disposición Ectothrix megasporado hacia la parte exterior y el micelio hacia adentro.. En caso de muestras de costras y escamas se encuentran hifas y algunas microconidias

Género Epidermophyton

Características microscópicas: macroconidios agrupados en racimos.

Características macroscópicas: Colonias aterciopeladas

Género Microsporum

Especie: *Microsporum canis*

Enfermedad: Tiña microscópica

Animales susceptibles: perros y gatos, otras especies domésticas

Lesiones: caída del pelo en áreas circulares

Muestras:

Se efectúa el mismo procedimiento del hongo anterior, con la mayor asepsia posible

Examen directo:

Observación microscópica: Añadiendo el lactofenol en portaobjeto, en las muestras se idéntica la presencia de hifas septadas con formaciones de cadenas rectangulares de artrosporas u oidios en un ordenamiento ectothrix microscópico con una vaina en forma de mosaico rodeando el pelo



## 4.7 Micosis profundas

### Las micosis sistémicas

Un pequeño número de especies fúngicas producen lesiones profundas en el órgano infectado o lesiones ampliamente diseminadas por el cuerpo. Incluyen cuatro habitantes del suelo:

- *Blastomyces dermatitidis*
- *Histoplasma capsulatum*
- *Coccidioides immitis*
- *Cryptococcus neoformans*.

Comprenden también habitantes normalmente inocuos del cuerpo, tales como *Candida albicans*, que se hacen invasores sólo cuando han sido alteradas las defensas antimicrobianas normales del individuo. Por ejemplo, *Candida* causa enfermedad cuando la flora normal ha sido suprimida mediante una terapia antibiótica, cuando se está suministrando un tratamiento inmunosupresor o cuando el individuo está fuertemente debilitado por otra enfermedad.

### Micosis por hongos filamentosos patógenos monomórficos

#### Género *Coccidioides*

Especie: *C. Inmis*

Enfermedad: Coccidiomicosis, granuloma coccidioico

Se adquiere por la inhalación del polvo en zonas donde la enfermedad es endémica y por roturas de vegetales afectando los pulmones y ganglios consistiendo en una coccidiomicosis primaria, si el hongo no es destruido inicia una coccidiomicosis progresiva invadiendo la dermis, vísceras y el sistema óseo, lo que ocasiona una elevada mortalidad.

Síntomas y signos clínicos:

Formación de nódulos o granulomas., apenas se manifiestan las lesiones macroscópicas, la cual se confunde con la tuberculosis en bovinos por la presencia de granulomas en los ganglios linfáticos, bronquiales y mediastínicos, estando los granulomas presente menos en los pulmones

Animales susceptibles: personas, caninos causándoles una osteomielitis crónica.

Muestras: esputo, líquido pleural, pus de los abscesos y exudados de lesiones cutáneas.

Candida albicans

Hongos remanentes o Levaduras monomórficas

Género Cándida

Especie: C. Albicans

La cándida es un microorganismo saprófito de la piel normal, mucosa de La boca, vagina y tracto gastrointestinal.

Existe un conjunto de causas que estimulan su desarrollo como son las de tipo endógeno como es el tratamiento con anti bióticos de amplio espectro ( la tetraciclina, eritromicina ) que destruyen la flora intestinal, favoreciendo el aumento de la Candida en el tracto gastrointestinal.

Hay otro conjunto de causas como el embarazo, los traumatismos locales, diabetes, hipotiroidismo, tratamiento con corticoesteroides, debilitamiento por enfermedades infecciosas y la mala nutrición.

Es una causa exógena el contacto sexual, además de factores predisponentes como la humedad, el calor, el roce y la deficiencia de vitamina A, enfermedad. Candidiasis ó moniliasis y infección aguda en la piel, mucosa, pico, uñas y órganos.

Animales susceptibles: aves, cerdos, bovino, ovejas, perros, gatos, equino y el humano.

#### Síntomas clínicos

- En terneros: causa diarrea con melena (sangre), anorexia, deshidratación, postración y muerte.
- En bovino: mastitis (debido a infusiones de anti bióticos), fiebre, disminuye la producción la producción láctea y aborto.
- En aves: úlceras en el buche (“muget”) con un exudado catarral a mucoide con pseudomembrana en la boca, senos infraorbitarios, esófago, proventrículo intestinal.
- En cerdos: causa vómitos, diarreas, desordenes metabólicos y úlceras estomacales.

La candidiasis se localiza en las siguientes regiones:

- Lesión cutánea en los pliegues de la piel ( intertrigo)
- Mucosas de la lengua (muget), de la vagina (vulvo-vaginitis) y el ano
- Broncopulmonar
- Pulmonar dan signos de neumonía y es grave
- Intestinal ocasionan úlceras
- Endocarditis

Muestras: raspados de las mucosas

Fragmentos de vísceras dependiendo de los síntomas y las lesiones. \* Heces fecales \*

Exudados y esputos

Examen directo

Observación microscópica: En los esputos y exudados se observan levaduras ovals y gemantes teñidas como Gram (+), también pueden presentarse alargadas ó pseudohifas lo que indica una colonización de la Cándida actuando como patógenas.

Observación macroscópica: En Agar Sangre se siembran muestras de heces fecales e incuban a 37 grados, se observan colonias butirosas, blancas y brillantes, en Agar Saboraud CC. Se observan colonias cremosas y con olor típico a levaduras.

Cryptococcus

La infección por Cryptococcus se produce por vía respiratoria. La manifestación clínica más común es una meningitis crónica que puede ir acompañada de lesiones en la piel y en los pulmones. Los casos sin tratar conducen a la muerte.

Las heces de las aves son la principal fuente de infección; la enfermedad no es transmisible de persona a persona.

## Genero *Cryptococcus*

Presenta forma típica de levadura con una capsula abundante que rodea la célula y la colonia. Se encuentran en el suelo y en el excremento de las palomas.

Especie: *C. Neoformans*

### Lesiones:

Formación de granulomas afectando los pulmones, huesos y piel también el sistema nervioso central y mastitis s en los bovinos.

### Patogenia

Se encuentra en el suelo y en el excremento de las palomas, puede penetrar por las vías respiratorias causando una infección primaria inadvertida pasando después al sistema nervioso central ocasionado una meningitis crónica, puede producir mastitis.

Muestras: Los granulomas, esputo, secreciones, leche y líquido céfalo raquídeo

### Examen directo

Observación microscópica: utilizando una mezcla de tinta china para teñir el campo óptico, se observa una célula esférica con una capsula gelatinosa de constitución polisacárida .

Observación macroscópica: Se incuba en Agar Saboraud sin actydione a 37 grados formando colonias mucoides brillantes de color crema.

### Pruebas Bioquímicas

Hidroliza la urea, lo cual le diferencia con el género *Cándida*.

### Pruebas Biológicas

Se inoculan ratones de 45 días de nacido por vía intraperitoneal, endovenosa, e intracerebral causando la muerte a las dos semanas con lesiones en pulmones y el cerebro.

### Diagnóstico indirecto

- Aplicación de la técnicas con fluoresceína • Aplicación de la técnica de látex-aglutinación

Hongos Dimorficos

Género Histoplasma

Especie: H. Capsulatum

Enfermedad: Htoplasmosis ó “Enfermedad de Darling”

Se encuentra en el guano del murciélago, el gallinero y el polvo

Lesiones

Por vía respiratoria se disemina produciendo, granulomas, linfadenopatía, esplenomegalia y hepatomegalia, anemia, leucopenia y úlcera naso-bucofaringeo e intestinales.

Animales susceptibles: perro, gato, equino y humanos

Especie: H. Farsimosum

Enfermedad: linfangitis epizoótica

Lesiones: en piel y vasos linfáticos

Muestras: de secreciones ulcerosas, nódulos linfáticos y ganglionares y pus

Examen directo

Observación microscópica: Se tiñen con Giemsa y se observan levaduras ovoides dentro de los monocitos y macrófagos:

Observación macroscópica: Empleando para su cultivo Agar Infusión Cerebro Corazón a 37 grados se observa colonias membranosas blancas o cremosa y al microscopio se observan levaduras con yemas.

## 4.8 Miosis oportunistas

Genero Mucor, Rhizopus y Absidia

Especie: Mucor pusillus, Rhizopus equinus, Absidia ramosa

Enfermedad: Mucormicosis

Son patógenos oportunistas en los organismos débiles afectados por enfermedades como diabetes, leucemia etc...ó por el consumo de esteroides, anti bióti cos.

Lesiones:

Formaciones granulomatosas o ulcerosas en nódulos linfáticos del canal alimenticio, en la mucosa gástrica e intestinal, también causan lesiones en los pulmones, hígado, riñón, cerebro, etc... causando aborto, artritis s y flebitis.

Animales susceptible: bovinos, porcinos, equinos y el humano

Muestras: líquido céfalo-raquídeo, mucosa gástrica y senos maxilares.

Examen directo

Observación microscópica: Las hifas del micelio no presentan tabiques ó septas y la reproducción asexual es por esporangios, estableciéndose una diferenciación morfológica entre los tres géneros.



## 4.9 Aborto micotico

Genero Aspergillus

Especie: A. Fumigantes

Los Aspergillus son hongos saprófitos comunes, le favorece su crecimiento en condiciones apropiadas de humedad y temperatura, se encuentran en heno, pienso, sustratos en descomposición y detritus de los animales.

Producen cantidades abundantes de esporas que forman con facilidad aerosoles en el medio; las cuales, al ser inhaladas, producen la enfermedad, la aspergilosis es una enfermedad infecciosa en la cual se afecta de manera primaria el aparato respiratorio y se manifiesta por la formación de nódulos caseosos amarillos que se instalan primariamente en el pulmón, con posterior diseminación a otros sistemas orgánicos

Enfermedad: Aspergilosis

Animales susceptibles: aves, bovino y equino

Aves: se presenta una aerosaculitis difusa, neumonitis y nodular. Se observan la presencia de nódulos caseosos amarillos ubicados en los pulmones pasando después a otros órganos diana. En aves de 2 semanas causan anorexia, diarrea, y aumento de la temperatura.

En bovinos: ocasiona el aborto micótico, las esporas penetran por vías respiratorias y se incorporan al sistema circulatorio llegando al útero ocasionando una metritis, después en la placenta produce una placentitis originando en el feto una hiperqueratosis, todo lo anterior da lugar al aborto micótico aspergilar.

En equino: ocasiona infecciones en piel y mucosas

En el humano: Produce infecciones en tejidos, pulmones, piel, senos nasales, oído externo, bronquios, huesos y meninges.

Muestras:

- En caso de animales adultos se envían fragmentos de pulmones del lugar donde se encuentra la lesión.
- En aves, se envían muertas y enfermas, además de muestras de pienso, de la cama, excretas etc....
- Cuando sucede un aborto micótico, se envían porciones de placenta, el feto, y si no es posible se envía contenido gástrico

Examen directo.

Observación microscópica, se examinan las muestras de tejido (pulmones, sacos aéreos, placenta o raspados de piel y mucosa en solución de naoh al 10%, se observan hifas fértiles con sus cabezas conidiales de donde salen los esterigmas que sostienen cadenas de conidios globosos, pueden aparecer varios esterigmas sostenidos por una o varias filídes sobre la cabeza conidial.

## 4.10 Micotoxinas y aflatoxinas

Las micotoxinas (del griego mykes, mukos),«hongo» y el latín toxicum («veneno»), las micotoxinas, son metabolitos fúngicos secundarios producidos por ciertas cepas de hongos

### Producción de micotoxinas

Los principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas son:

- Factores físicos (Humedad y agua disponible, temperatura, zonas de microflora, Integridad física de los granos),
- Factores químicos (ph, Composición del Sustrato, nutrientes minerales)

Los vacunos son más susceptibles, pudiendo intoxicarse naturalmente en forma aguda y crónica. Se ha observado:

- Anorexia
- Decaimiento
- Descenso en la producción de leche
- Deficiente desarrollo de terneros
- Insuficiente ganancia de peso en animales de engorda
- Probablemente aborto en la forma crónica
- Representa un riesgo para el ser humano

### Vía oral

En muchos casos no son tóxicos, pero en otros casos estos mismos microorganismos del rumen lo transforman en otros más peligrosos

Aflatoxina- vomitoxina	No fueron modificados en el flujo ruminal. Aflatoxicol derivado de hidrocildo cuya toxicidad es mmuy elevada
Ocratoxina a	Se biotrasformo a fenilalanina y ocratoxina alfa que no es toxica
Zearalenona	Alfa y bata zearalenol que presenta mayor actividad estrogenica
Tricotecenos DAS y T2	Se da desatilacion formandose monoacetoxiscirpenol y toxina HT2 que tamien son toxicas
Aflatoxina	Se trasforma en ml en el higado y excretada por la leche

### Micotoxinas a Nivel Celular y su función

1. Inhibición de la síntesis de proteína, ADN y ARN y formación de aducto de ADN.
2. Alteración de la estructura de la membrana. Las micotoxinas pueden estimular la peroxidación de los lípidos en los tejidos objetivo.
3. Inducción de la muerte celular programada. El mantenimiento de la homeostasis del tejido implica la eliminación de las células y dañadas.

Los tres puntos anteriores llevan a manifestarse en:

- Inmunosupresión
- Hepatotoxicidad
- Nefrotoxicidad
- Neurotoxicidad
- Genotoxicidad (aumento en la mortalidad, mala conversión alimenticia, malas tasas de crecimiento, rechazo del alimento, disminución de la fertilidad e incubabilidad).

Micotoxinas más importantes en el ganado bovino lechero:

- Aflatoxinas
- Zearalenona
- Toxina T-2
- Ocratoxina
- Vomitoxina o Deoxinivalenol

Vomitoxina o Deoxinivalenol pueden encontrarse como contaminantes naturales en los cereales (maíz y subproductos, cebada, sorgo, avena, trigo y subproductos, arroz, centeno y mijo), heno y ensilados.

El principal síndrome que provocan es el gastroentérico, las características toxicológicas generales de estas micotoxinas, a depender de la especie animal afectada, son:

1. Vómitos, diarrea, taquicardia
2. Hemorragias, edemas, necrosis de los tejidos cutáneos
3. Hemorragias de la mucosa epitelial del estómago e intestino
4. Destrucción de tejidos hematopoyéticos
5. Disminución de los glóbulos blancos y plaquetas circulantes
6. Meninges hemorrágicas (cerebro)
7. Alteración del sistema nervioso
8. Rechazo del alimento
9. Lesiones necróticas en diferentes partes de la boca.
10. Degeneración patológica de las células de la médula ósea, nódulos linfáticos, e intestino
11. Los sistemas y órganos afectados son, el sistema digestivo, nervioso, circulatorio y la piel.

## Micotoxicosis provocada por toxina t-2

Una ración final contaminada con 1200 ppb de toxina T-2 provocó muertes en vacas lecheras que estuvieron consumiendo el alimento contaminado durante, por lo menos, 5 meses, la fuente de contaminación consistía en un maíz enmohecido que estaba contaminado con 2000 ppb de T-2

## Micotoxinas de fusarium

La zearalenona (ZEN) se presenta en cereales y sus subproductos, semilla de sésamo, colza, heno y ensilados.

Síndrome estrogénico, afectando al sistema reproductor, ya que inhibe la maduración folicular y la ovulación por la reducción de la concentración de la FSH ya que permite el enlace con los receptores 17-Beta-estradiol, dando lugar a cuadros de hiperestrogenismo con tumefacción e hipertrofia de la vulva, útero, glándula mamaria y atrofia ovárica.

Pueden ocurrir prolapsos vaginales y rectales, los efectos nocivos de la intoxicación han sido clasificados en dos formas generales: Aflatoxicosis Aguda, que se produce cuando se consumen niveles moderados a altos de aflatoxinas.

Los efectos de esta intoxicación pueden incluir:

- Hemorragias.
- Daño agudo del hígado.
- Edema.
- Alteraciones en la digestión, absorción y/o metabolismo de alimentos y posiblemente la muerte.

### **Criterios de evaluación:**

<b>No</b>	<b>Concepto</b>	<b>Porcentaje</b>
1	Trabajos Escritos	10%
2	Actividades web escolar	20%
3	Actividades Áulicas	20%
4	Examen	50%
<b>Total de Criterios de evaluación</b>		<b>100%</b>

#### Bibliografía básica y complementaria:

- Carter, G.R. 1985: Bacteriología y Micología Veterinarias. Aspectos esenciales. Edit. Manual Moderno. México, D.F.
- Carter G. R., Chengappa M.M. 1991. Bacteriología y Micología Veterinaria, Manual Moderno, México D.F.
- Delgado GG y Delgado RG. 2000, Nomenclatura y clasificación de los Microorganismos.
- Freeman, B.A. 1983. Tratado de Microbiología de Burrows. 21a edición. Edit. Interamericana. México, D.F.
- Güiris Andrade Dario Marcelino 2013, Clasificación de las bacterias, Pared bacteriana Gram negativa y positiva. Microbiología, , UNACH
- Hernández Alina, Valdés, Vivanco María, Zuazo Jorge. 2001. Microbiología y Parasitología Médicas. Editorial Ciencias Médicas. La Habana, Cuba. Tomo I
- Koneman EW. Allen SD. Janda WM. Schreckenberger PC. Winn WC. 1999. Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas a Color. 5a edición. Editorial Médica Panamericana. México, D.F.
- Madigan M.T, Martinko J.M., Dunlap P.V. and Clark D.P. 2009, Brock Biología de los microorganismos, 12a edición,
- Pearson Education, Prescott L.M., Harley J.P. and Klein G.A. 2009, Microbiología, 3a edición, Madrid, México, McGraw-Hill-Interamericana