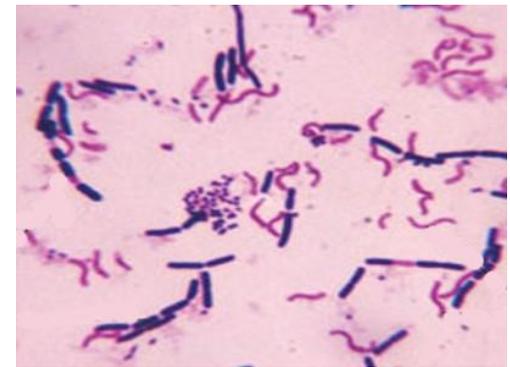
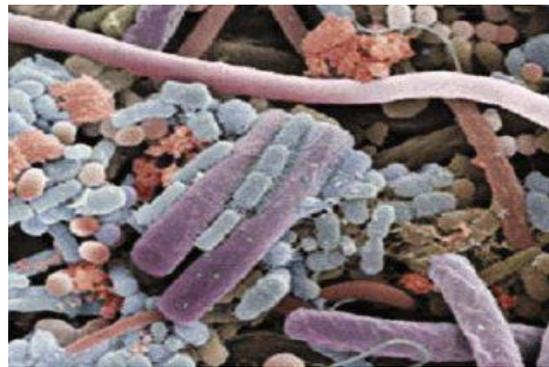


- 10.1 Estrategias para la caracterización e identificación bacterianas.
- 10.2 Taxonomía polifásica: análisis de ácidos nucleicos y proteínas, marcadores quimotaxonómicos y fenotípicos.
- 10.3 Árboles filogenéticos derivados de las secuencias de ARN. Método distancia matriz.
- 10.4 Clasificación de bacterias según “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology” y “Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology”.
- 10.5 Importancia de las bacterias en la industria, la salud y la ecología.

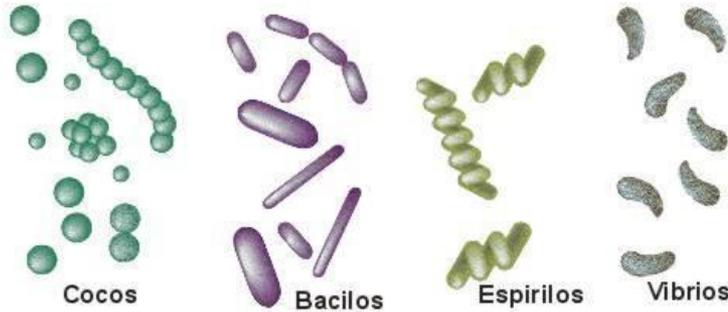
10. BACTERIAS. (PROCARIOTES EN GENERAL)

10.1) CARACTERÍSTICAS DE LAS BACTERIAS. CULTIVO, CARACTERIZACIÓN Y TÉCNICAS DE IDENTIFICACIÓN BACTERIANAS.

Microorganismos procariotes, con membrana citoplásmica bilaminar, pared celular la mayoría, gran diversidad metabólica, se encuentran dispersos ampliamente en todo el planeta, la mayoría son de vida libre, aunque algunos causan enfermedades a otros organismos. Tienen diversidad nutricional y metabólica: Fotoautótrofos, quimioautótrofos, fotoheterótrofos, quimioheterótrofos. Respiración aerobia y anaerobia.

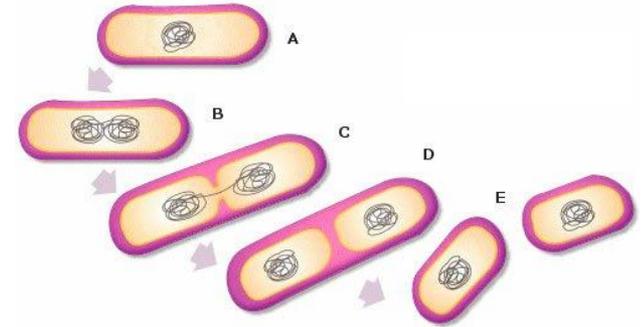


El otro dominio de procariotes son las Archaeas, que presentan membrana monolaminar o bilaminar, con enlaces éter, no causan problemas y son extremófilos.



Su tamaño es menor que la mayoría de eucariotes, está comprendido entre $0.2 \mu\text{m}$ hasta $12 \mu\text{m}$. Las formas celulares pueden ser esféricas, alargadas, en espiral, etc.

Presentan reproducción asexual por fisión binaria o bipartición, que según el plano de reproducción dará origen a la forma de agruparse.



También se les denomina eubacteria o bacterias verdaderas.

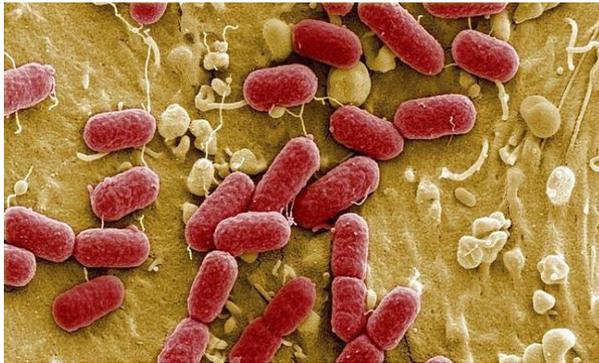
Las Archaeas pueden denominarse Arqueobacterias, sin embargo por su estructura y evolución no tienen relación tan estrecha con las bacterias.

Las bacterias presentan tiempos de duplicación cortos, en general en minutos duplican su población, aunque hay casos que pueden tardar horas en duplicarse.

Escherichia coli

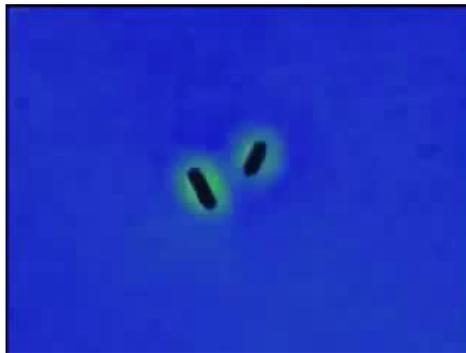
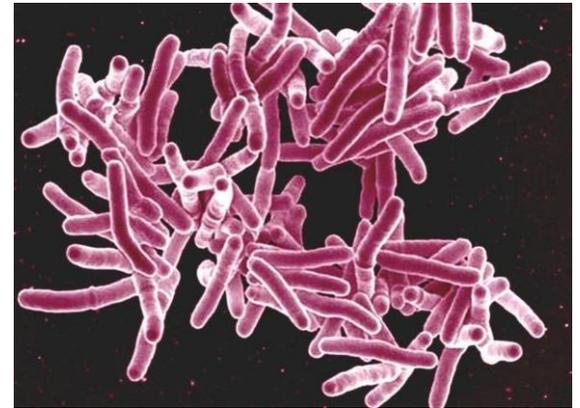
40 minutos en intestino

20 minutos en laboratorio



Mycobacterium tuberculosis

12 horas



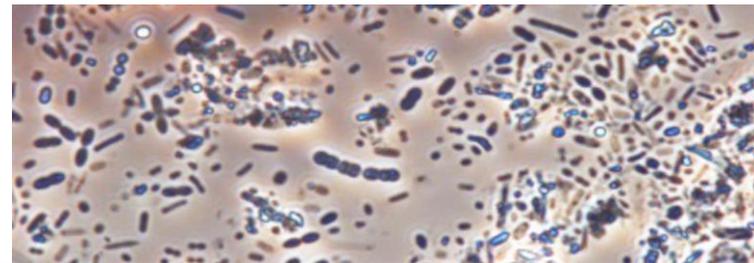
CONDICIONES ESTÁNDAR DE INCUBACIÓN EN LABORATORIO

Temperatura: 20°C - 37°C - 40°C Tiempo: 18 a 24 horas.

Estas condiciones pueden variar según los tipos de microorganismos. Hay bacterias que crecen a temperaturas superiores (50°C) aunque la mayoría queda en los intervalos indicados.



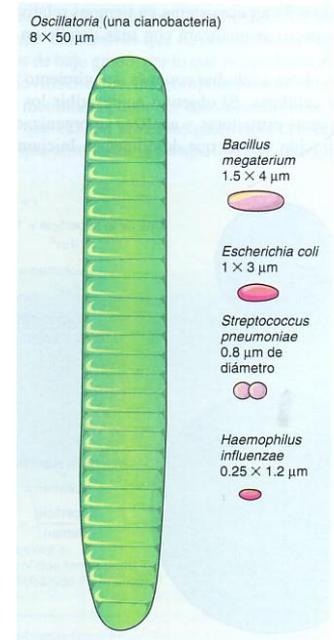
También depende el hábitat en el que viven, hay organismos de vida libre (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens*), hay asociados con otros organismos (*Escherichia coli* parte de la microbiota normal de intestino, *Staphylococcus albus*, microbiota normal de piel) o patógenos (*Salmonella Typhi*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Streptococcus pneumoniae*)



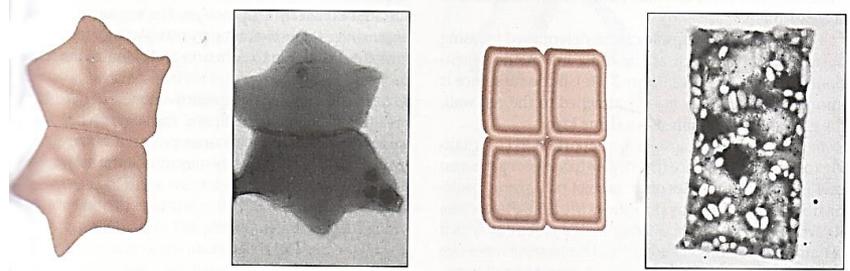
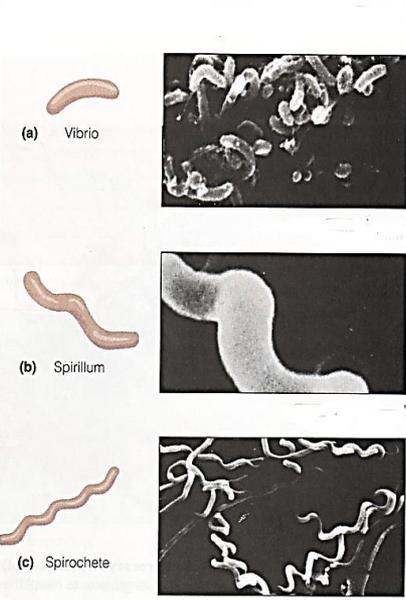
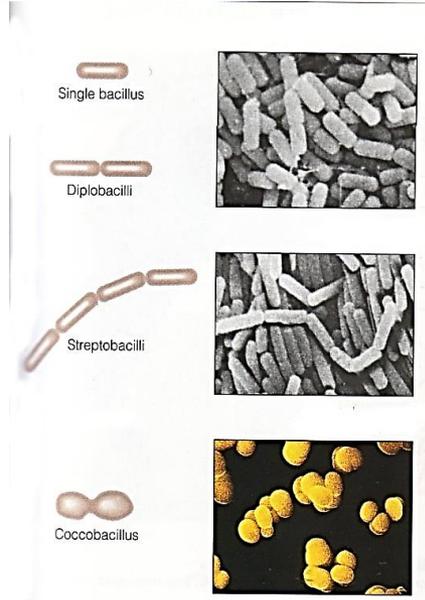
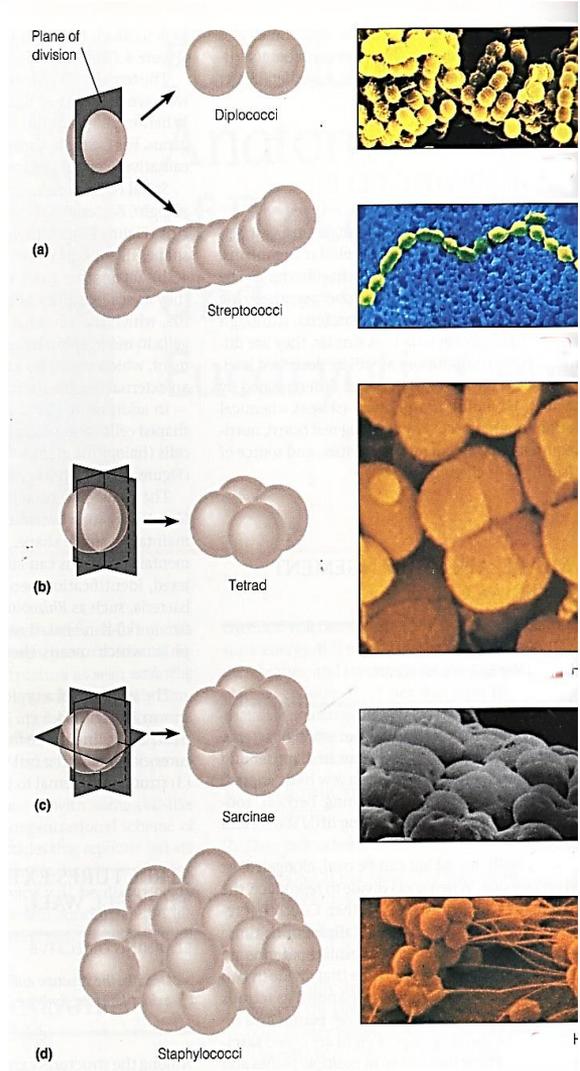
Forma:

- ❖ Esférica (coco) 0.2-1.0 μm de diámetro
- ❖ Bastoncillo (bacilo) 0.5-1.5 μm de ancho por 2 a 10 μm de largo
- ❖ Borde del bacilo: redondo, plano, puntiagudo
- ❖ Tamaño del bacilo: corto o largo
- ❖ Ovalada (cocobacilo) 0.5 μm de ancho por 0.7 μm de largo
- ❖ Ondulada corta (espirilo) 1.0 μm de ancho por 8.0 μm d largo
- ❖ Muy ondulada (espiroqueta) 0.2 μm de ancho por 6 μm de largo
- ❖ Formas celulares poco comunes: estrella o cuadrado

Agrupación: Dada por el plano o eje de reproducción, en los cocos puede ser en un plano o variar. En los bacilos siempre se presentan bandas de reproducción a lo largo de la célula.



Dos células (cocos o bacilos)	Diplo (diplococos o diplobacilos)
Células en cadena (cocos o bacilos)	Estrepto (estreptococcos o estreptobacilos)
Cocos en racimo	Estafilo (Staphylococcus)
Cuatro células	Tetradas
Ocho células en cubo)	Sarcina



Los medios de cultivo para bacteria pueden variar de acuerdo a sus necesidades nutricionales y metabólicas.

Para bacterias quimioheterótrofas hay medios de cultivo como el Agar Nutritivo que contiene peptonas y sales minerales, ahí crecen la mayoría de las bacterias no exigentes.

Un medio enriquecido es el Agar Cerebro Corazón, que además de tener algunas sales minerales es un medio enriquecido con infusiones de tejido cerebral y cardiaco de res, lo que da un gran aporte de nutrientes.

Sin embargo, hay microorganismos que no pueden cultivarse “*in vitro*”, a pesar de las investigaciones realizadas, por ejemplo *Mycobacterium leprae*, que para poder estudiarlo fuera del huésped humano solo es posible hacerlo crecer en el cojinete plantar del armadillo.



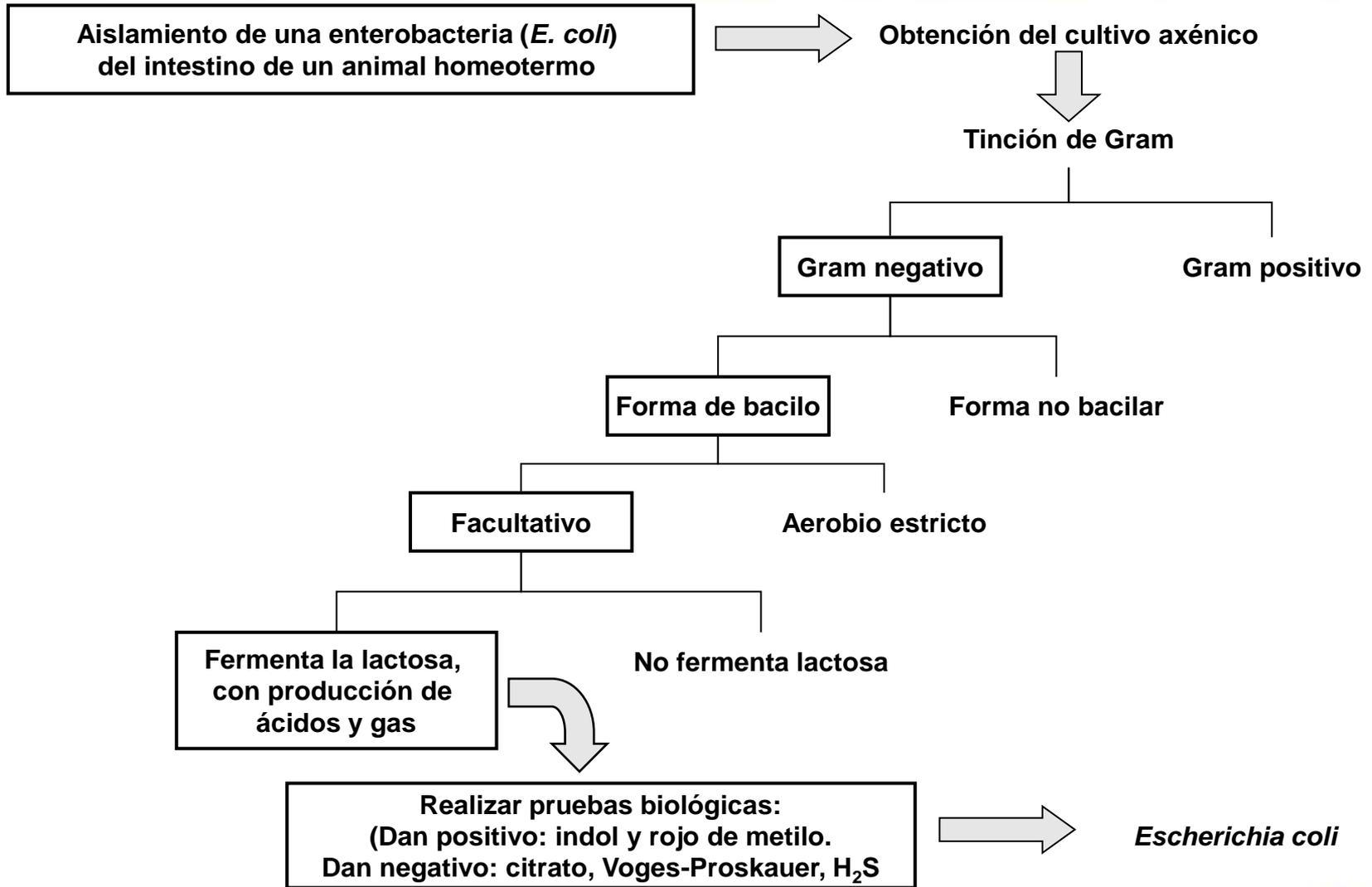
Si se quieren cultivar bacterias fotoautótrofas se pueden utilizar medios con sales minerales, y poniéndolas a la luz podrán realizar la fotosíntesis.

Para bacteria litótrofas, los medios de cultivo son de sustancias inorgánicas, en donde la que vaya a ser utilizada como fuente de energía debe proveerse en grandes cantidades para el metabolismo del microorganismo.

Además del medio de cultivo se debe incubar con la temperatura idónea de cada microorganismo, el pH adecuado y se debe dejar un tiempo respetable para lograr un crecimiento óptimo.



IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA (Morfología y bioquímicas)

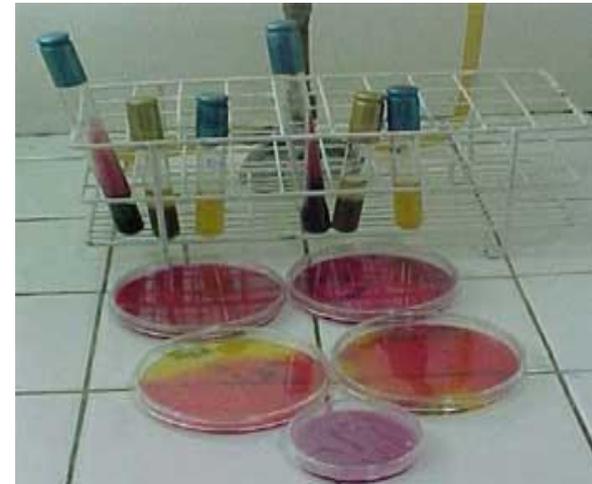


IDENTIFICACIÓN FENOTÍPICA (Morfología y bioquímicas)

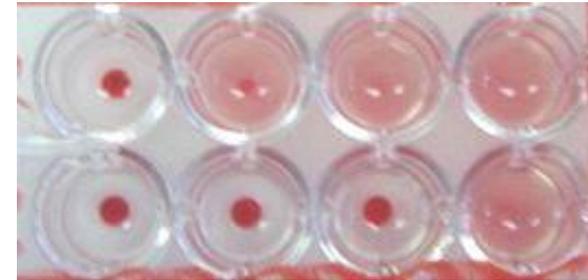
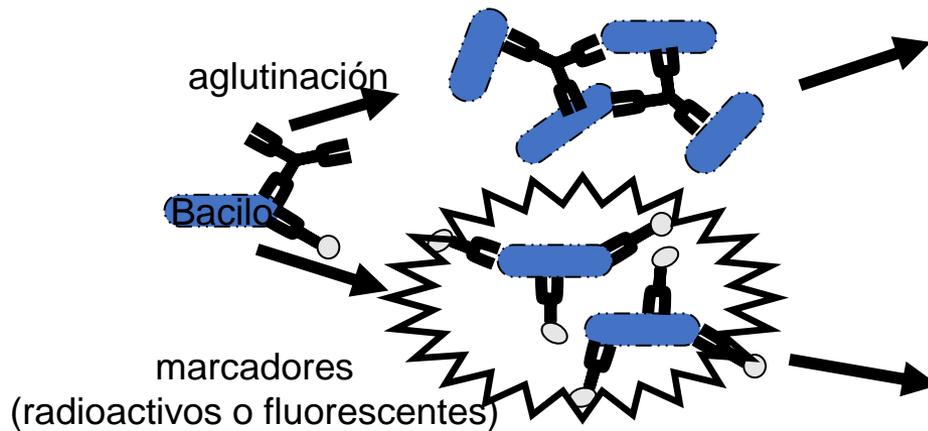
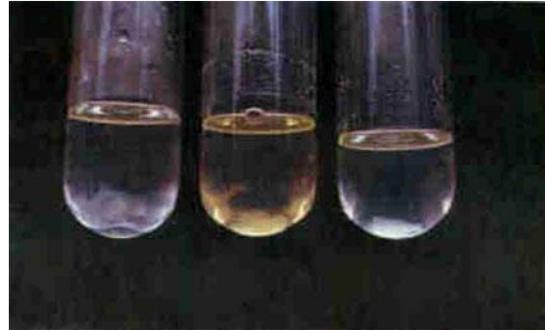
Prueba Bioquímica	Muestra	MO1	MO2	M03
Gram	+	+	+	-
Indol	+	-	+	+
H ₂ S	-	-	-	-
Nitratos	+	+	-	+
Glucosa	+	+	+	+
Lactosa	+	+	-	+
Rojo de metilo	-	-	+	-
Voges Proskauer	+	+	+	+
Citrato	-	-	-	-
Urea	+	-	-	+
O/F	Aerobio estricto	Aerobio estricto	Anaerobio	Aerobio estricto
Movilidad	+	+	+	+

Las bacterias se clasifican y organizan taxonómicamente en grupos afines. Para identificar a las bacterias se realizan pruebas para caracterizarlas y definir la especie. Podemos encontrar una gran diversidad de especies que presentan la misma forma, como las enterobacterias (bacilo corto, Gram negativas, sin agrupación específica) como *Escherichia coli*, *Salmonella Typhi*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, y muchas otras.

MORFOLOGÍA Y BIOQUÍMICAS: Para poder decir que microorganismo es, se recurre a una serie de pruebas basadas en metabolismo, lo que permiten hacer una identificación, estas son las pruebas bioquímicas.



INMUNOLOGÍA: Por reacciones antígeno anticuerpo, sobre proteínas específicas de las bacterias se puede establecer la especie y la variedad de éstas.



10.2) CRITERIOS UTILIZADOS PARA LA CLASIFICACIÓN DE BACTERIAS:

TAXONOMÍA NUMÉRICA Y CLÁSICA, QUIMIOTAXONOMÍA, COMPOSICIÓN DE BASES; GUANINA Y CITOSINA, HIBRIDACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS.

Tres dominios: Archaea, Bacteria, Eukaria

Filogenia: relación histórica y evolutiva de los microorganismos. Se puede establecer por el ARN ribosómico u otros organelos.

Taxonomía: identificación o clasificación de los organismos, agrupándolos de acuerdo a características comunes.

Taxonomía convencional: Fenotípica

Taxonomía molecular: porcentaje de GC

Taxonomía molecular: hibridación ADN:ADN

El material genético se usa actualmente para establecer la cercanía y relaciones entre grupos microbiano. En los diagramas las bifurcaciones indican antecesores comunes, y el tamaño de la líneas indica que tan lejos o cerca se encuentran en el tiempo.

El uso de ARN ribosomal esta muy difundido porque se mantiene muy estable y permite compararlo entre diferentes especies o en especies afines para determinar su cercanía.



PROCEDIMIENTO PARA LA IDENTIFICACIÓN POR TAXONOMÍA MOLECULAR (PORCENTAJE DE G-C)

Organismo

Extracción de ADN

Hidrólisis del ADN

Cuantificación de nucleótidos (cromatografía)

Establecer la relación G+C

$$\frac{G + C}{A + T + G + C} 100$$

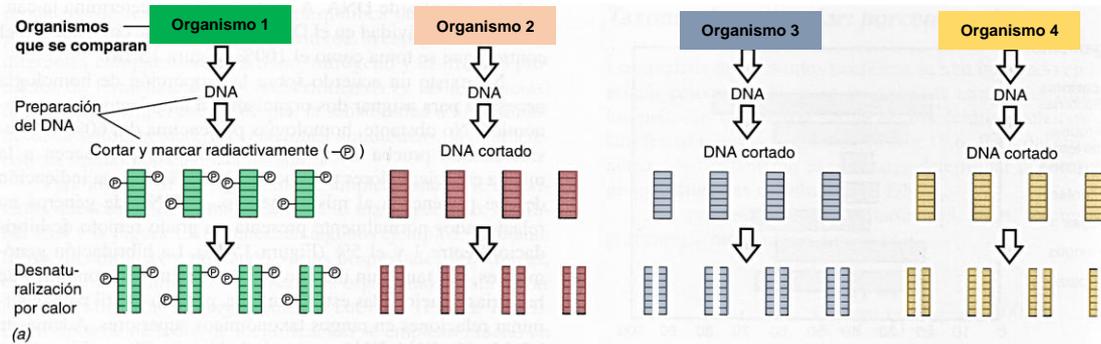
Comparar con otros microorganismos

IDENTIFICACIÓN Y TAXONOMÍA MOLECULAR:

Hibridación ADN:ADN

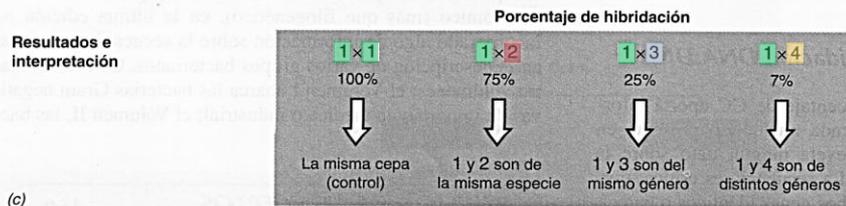
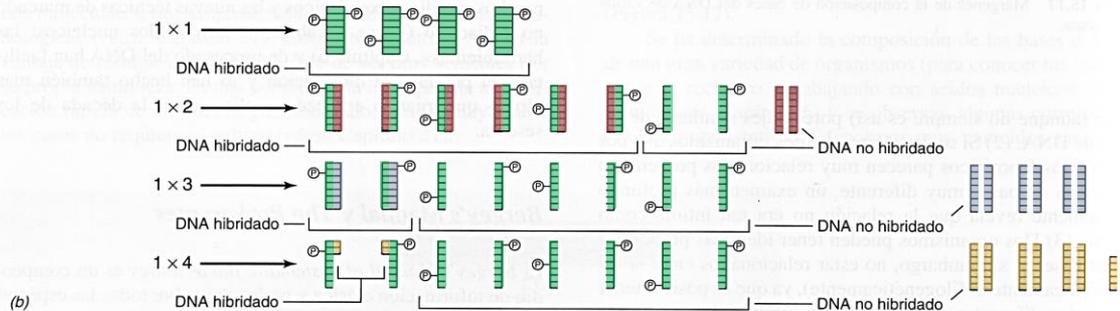
Organismo 1 (Referencia)	Organismo 2	Organismo 3	Organismo 4
Extracción de ADN Preparación			
Marcado y cortado del ADN	Cortado del ADN		
Desnaturalización del ADN por calor Hibridación del ADN de referencia con los microorganismo en estudio Resultados e interpretación			
100% Misma cepa	75% o más Misma especie	25% Son del mismo género	7% o menos Distintos géneros

IDENTIFICACIÓN Y TAXONOMÍA MOLECULAR: Hibridación ADN:ADN



Experimento de hibridación

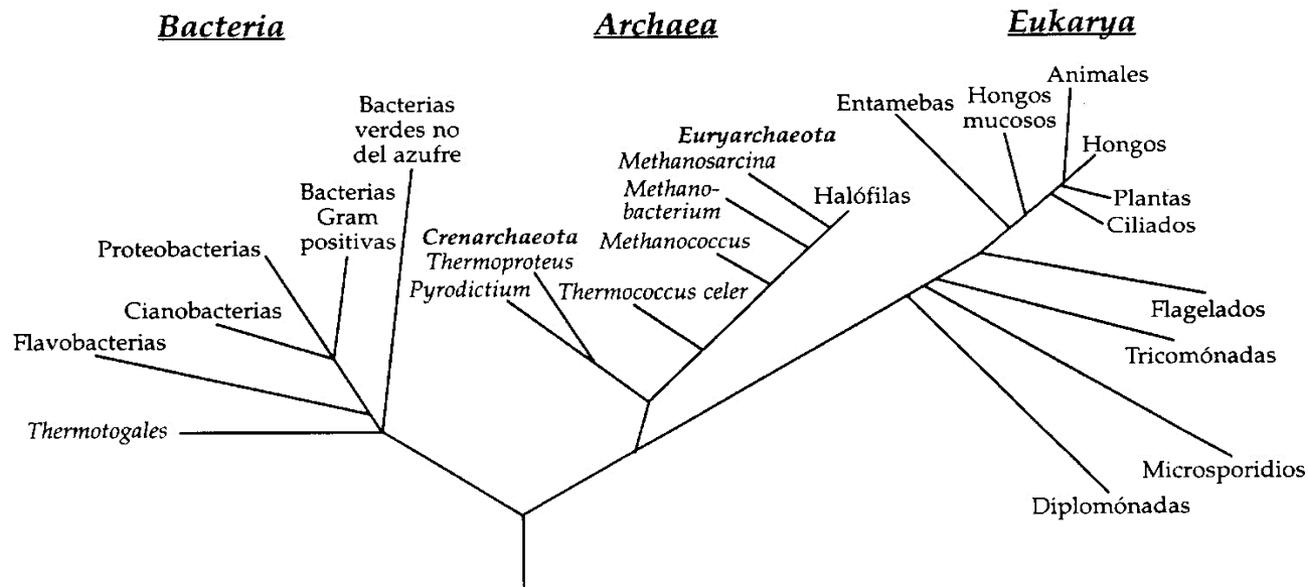
Mezclar DNA de los dos organismos—añadir un exceso de DNA no marcado:



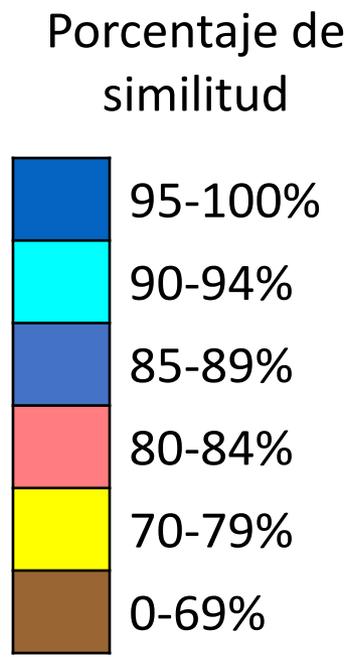
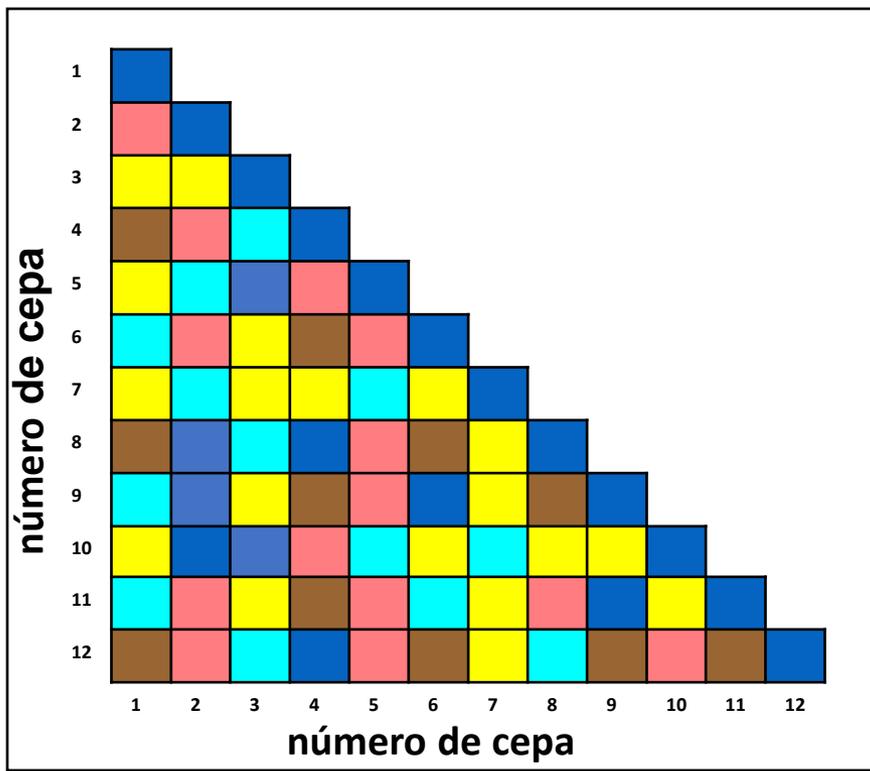
10.3) COMPARACIÓN DE LOS FENOTIPOS BACTERIANOS MEDIANTE EL ANÁLISIS DE ADN.

INFORMACIÓN TAXONÓMICA DERIVADA DE LA ESTRUCTURA DEL ADN. ESTUDIO DEL ARN RIBOSOMAL. ÁRBOLES FILOGENÉTICOS DERIVADOS DE LAS SECUENCIAS DE ARN. MÉTODO DISTANCIA MATRIZ.

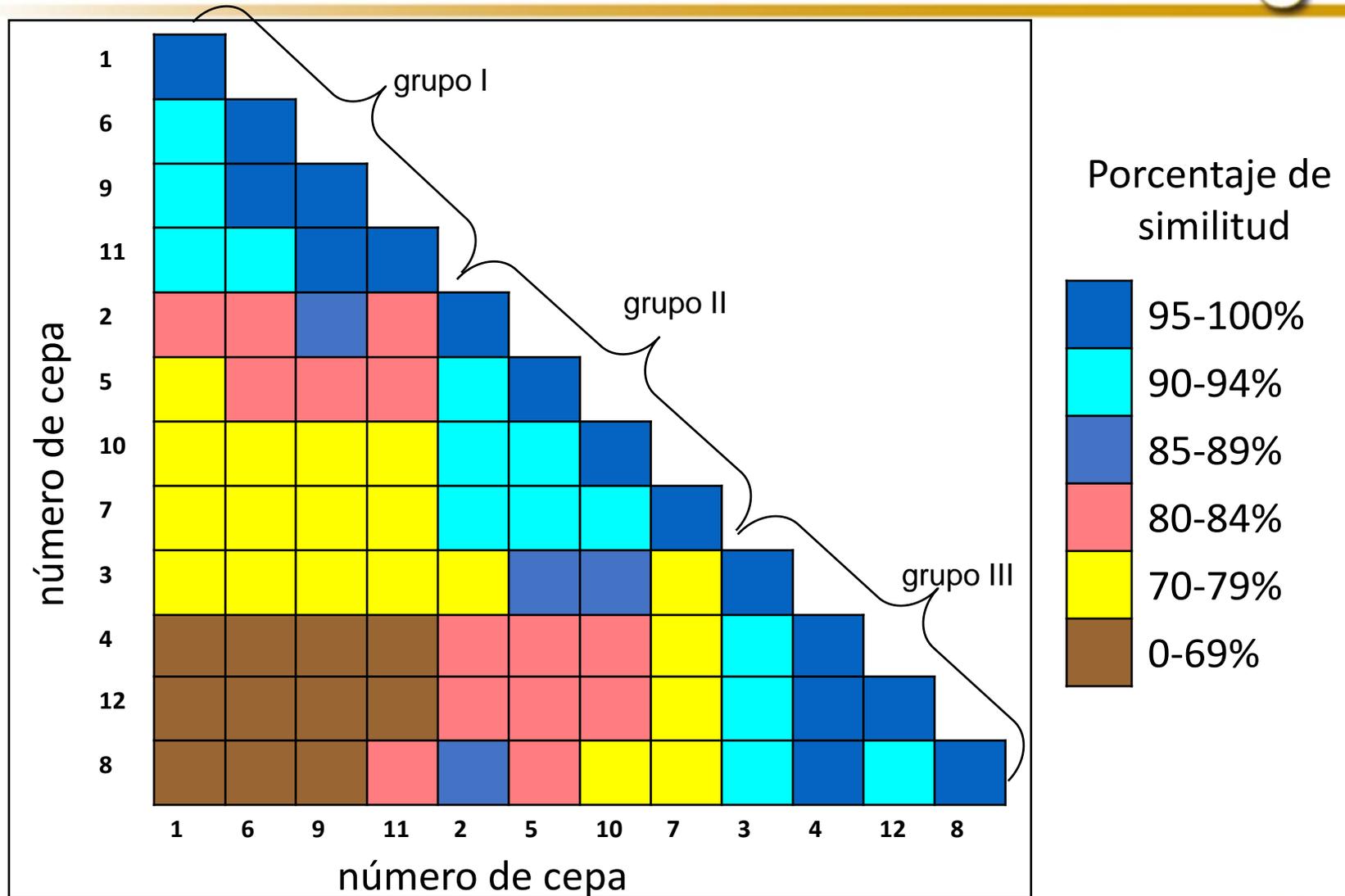
Filogenia de los seres vivos—Visión global



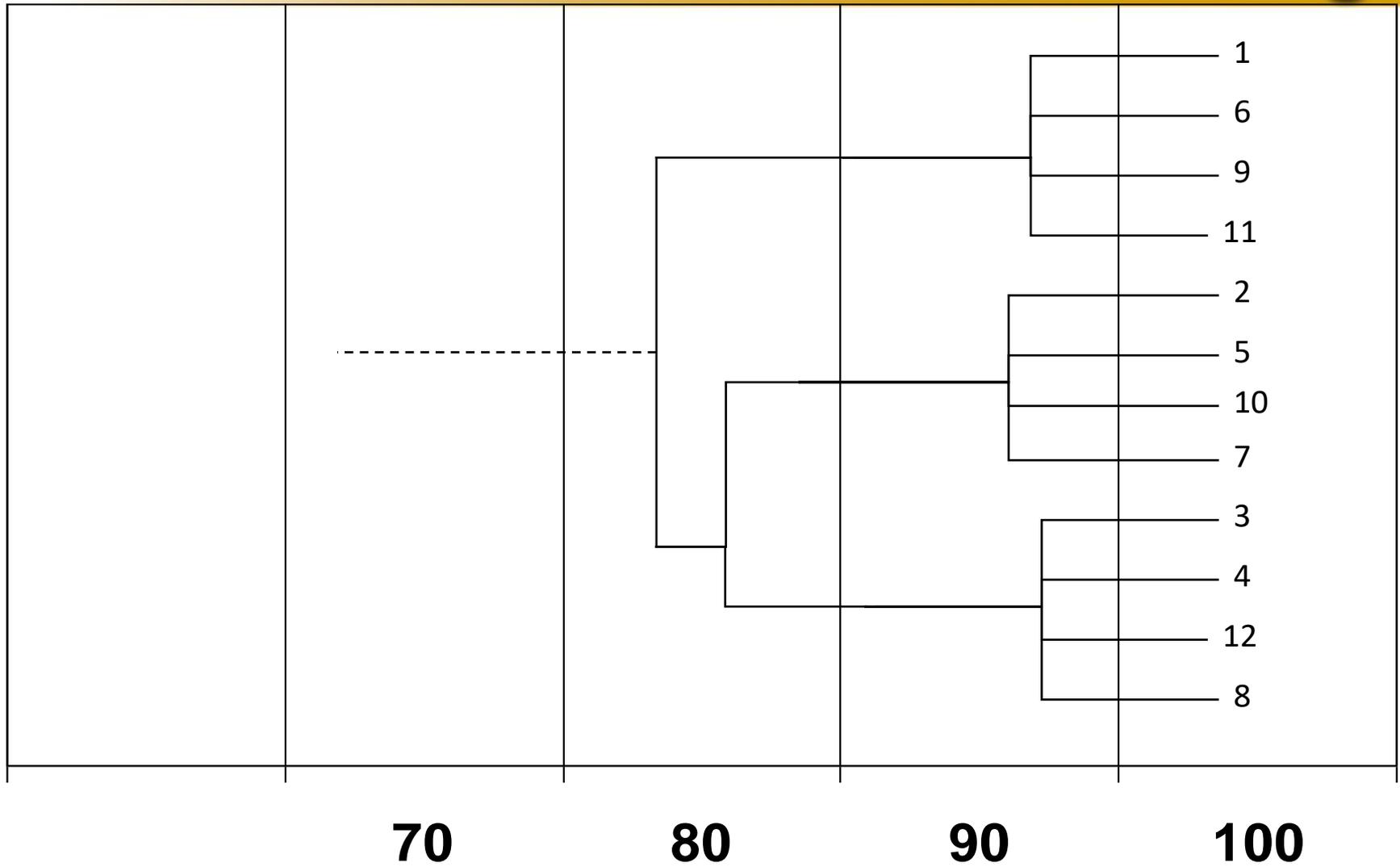
Una matriz o arreglo similar se puede elaborar en computadora, mostrando las relaciones entre diferentes microorganismos. Después de realizar varias pruebas o determinaciones (aproximadamente 100) cada microorganismo estudiado recibe un valor numérico. La cercanía de estos valores entre dos microorganismos establece mayor similitud y cercanía entre ellos.



AGRUPACIÓN DE LAS CEPAS SEGÚN LOS VALORES DETERMINADOS



DENDROGRAMA



SUMARIO DEL CRITERIO TAXONÓMICO USADO PARA CLASIFICACIÓN E IDENTIFICACIÓN BACTERIANA

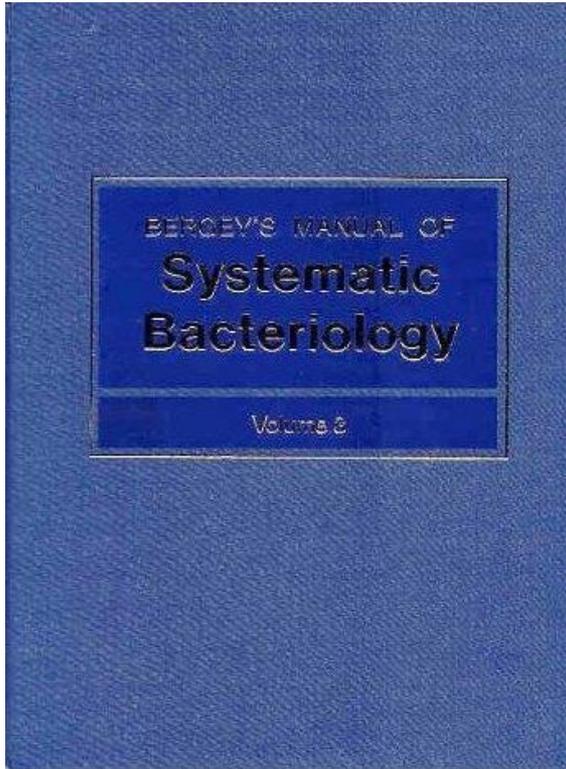
criterio	Para clasificación	Para identificación
Características morfológicas	No (Si para cianobacterias)	Si
Tinción diferencial	Sí (por tipo de pared celular)	Si
Pruebas bioquímicas	No	Si
Serología	Si	Si
Tipificación por fago	No	Si
Secuencia de aminoácidos	Si	No
Análisis de proteínas	Si	No
Composición de ADN	Si	No
hibridación de ADN	Si	Si (sonda de ADN)
Citometría de flujo	No	Si
Taxonomía numérica	Si	No

10.4) CLASIFICACIÓN DE BACTERIAS.

De acuerdo con dos obras: el "BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY" y el "BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY"

El *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* es una referencia de reconocida autoridad en taxonomía bacteriana. El Manual se divide en cuatro volúmenes. Cada volumen contiene varias secciones y, cada sección trata de varios géneros relacionados.

Aunque su edición lleva varios años de su aparición, regularmente se publican anexos para actualizar la obra.



Volumen I 1984. Bacterias Gram negativas de importancia médica y comercial:

Espiroquetas, bacterias espirales y curvadas, bacilos Gram negativos aeróbicos y aeróbicos facultativos, anaerobios estrictos Gram negativos, cocos Gram negativos aerobios y anaerobios, bacterias sulfato- y, sulfuro-reductoras. rickettsias clamidias, micoplasmas.

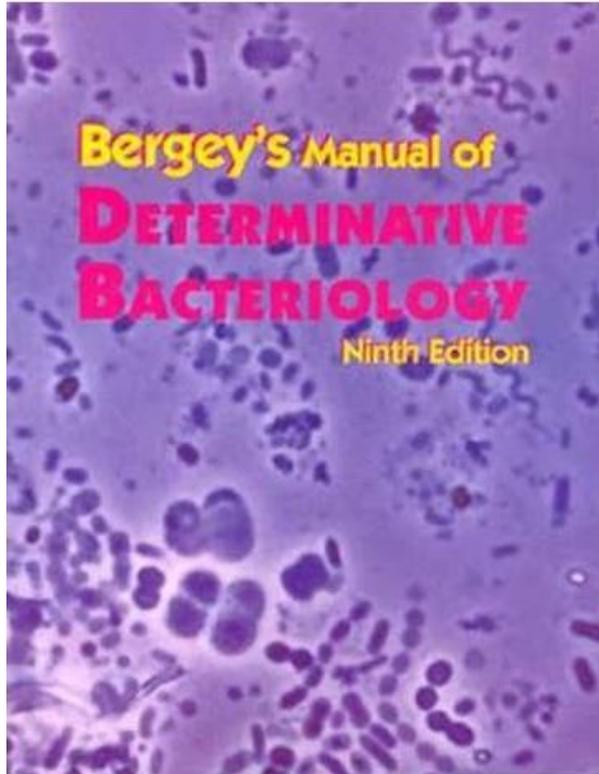
Volumen II 1986. Bacterias Gram positivas de importancia médica y comercial:

Cocos Gram positivos, bacilos Gram positivos formadores de esporas, micobacterias, actinomicetos no filamentosos.

Volumen III 1989. Bacterias Gram negativas restantes y Archaea:

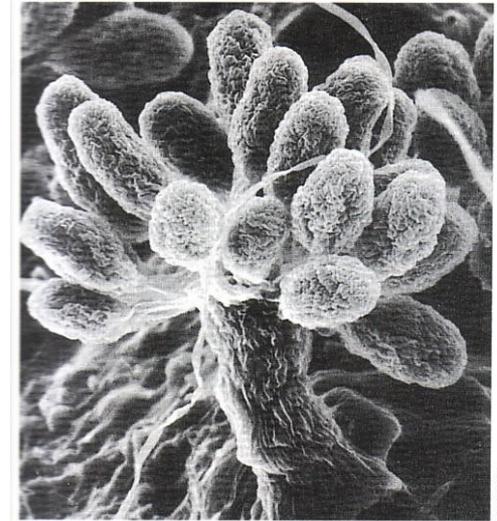
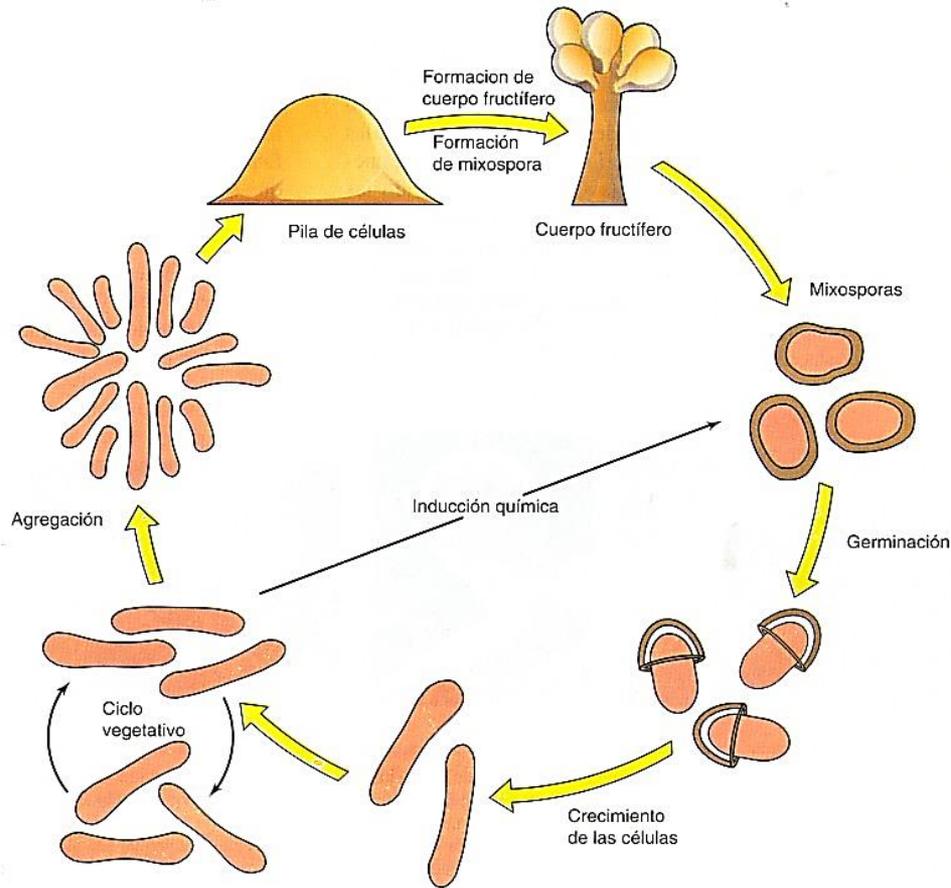
Bacterias fototróficas, deslizantes, envainadas, gemantes y con apéndices, cianobacterias, bacterias quimiolitótrofas, metágenos, halófilos extremos, hipertermófilos, *Thermoplasma* y otras Archaea.

Volumen IV 1989. Actinomicetos filamentosos y bacterias relacionadas.

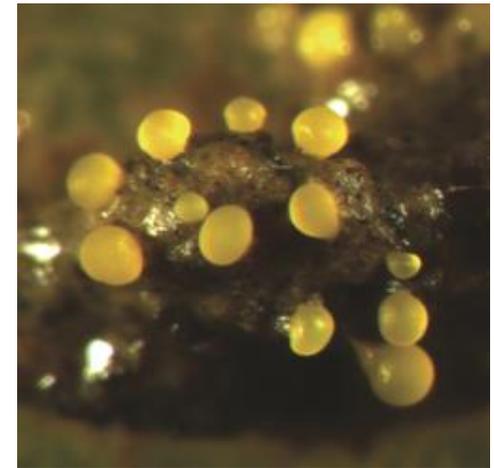


Existe una versión de un sólo volumen titulada *Manual of Determinative Bacteriology* (1994) y un tratado en cuatro volúmenes denominado *The Prokaryotes* (1992)

En estas obras aparecen las características más importantes de las especies conocidas con referencias metabólicas para su identificación.

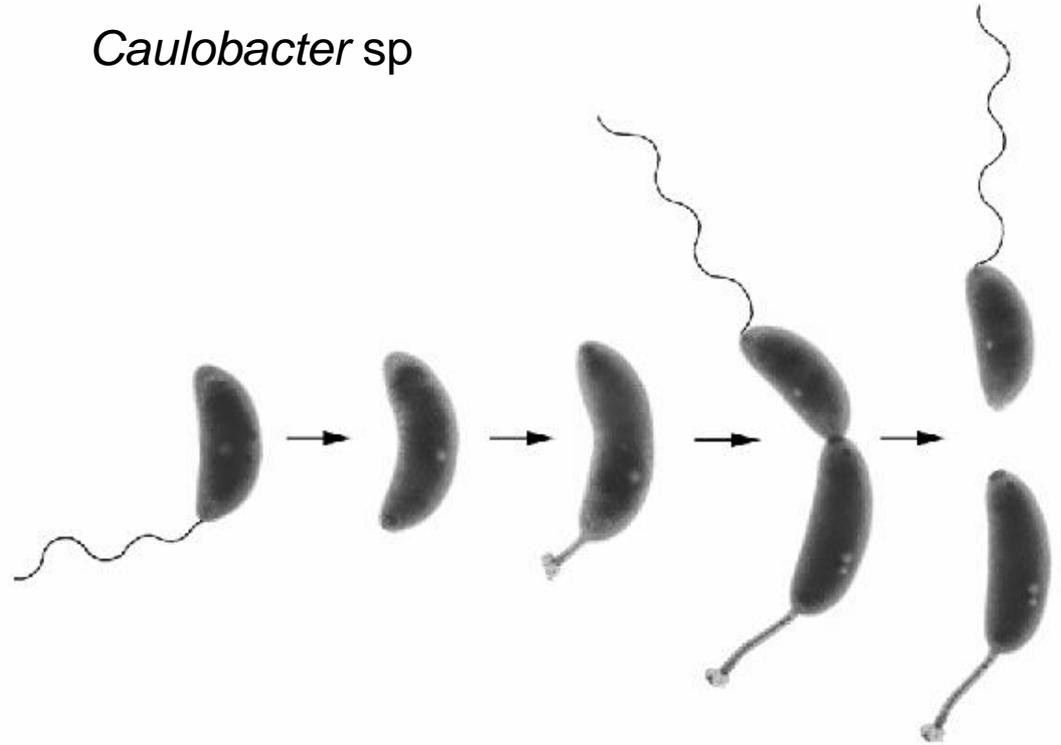


David White



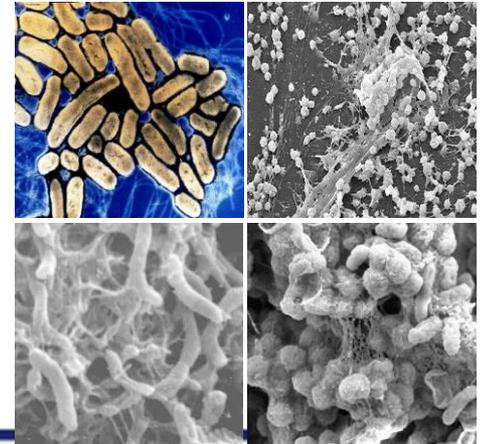
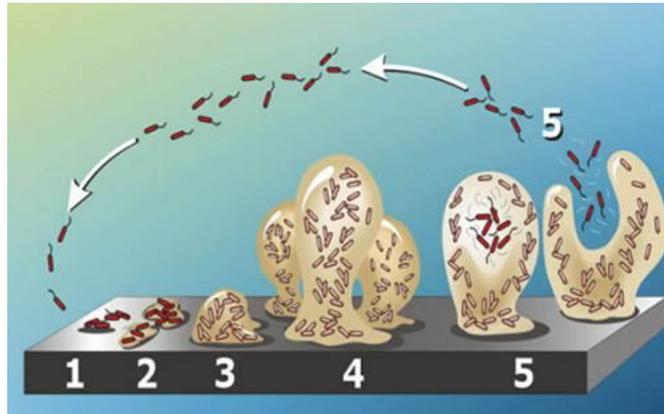
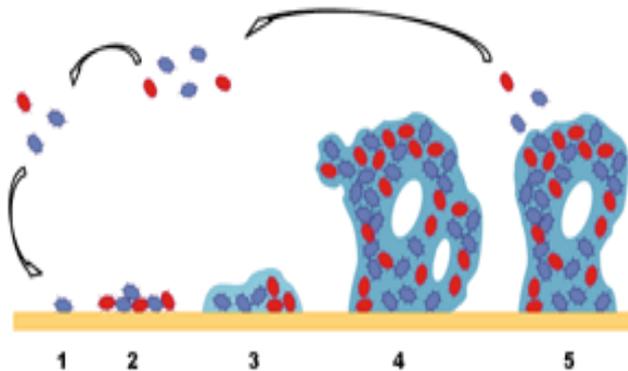
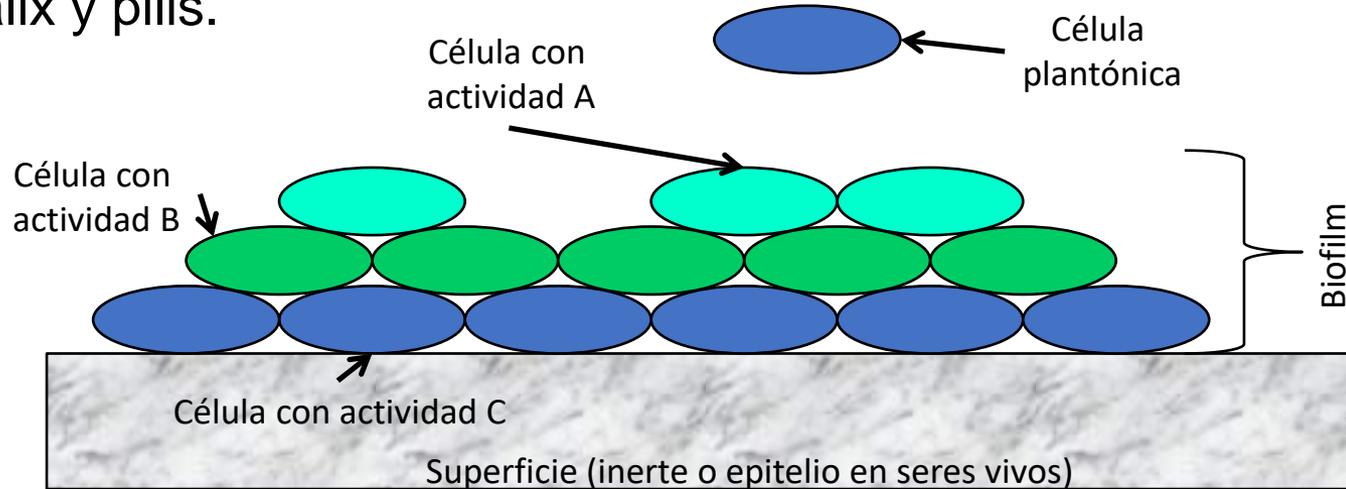


Caulobacter sp

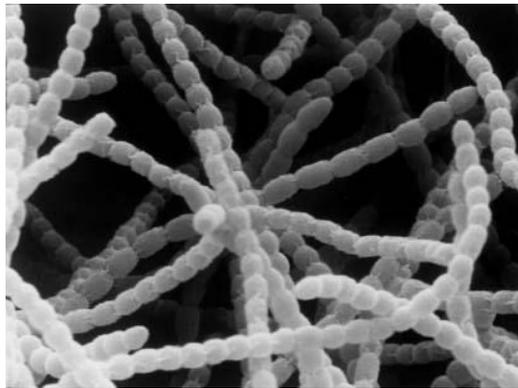
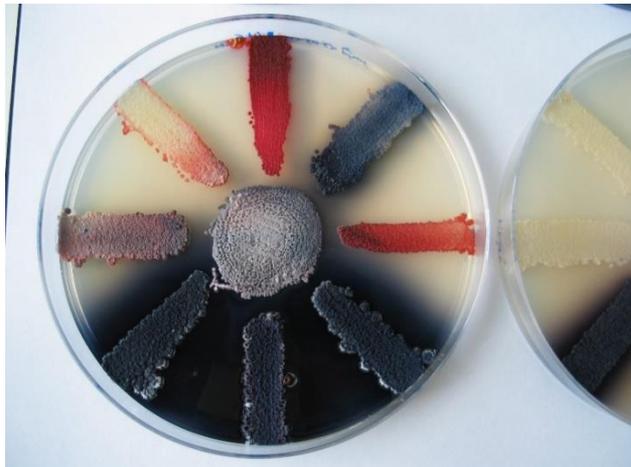
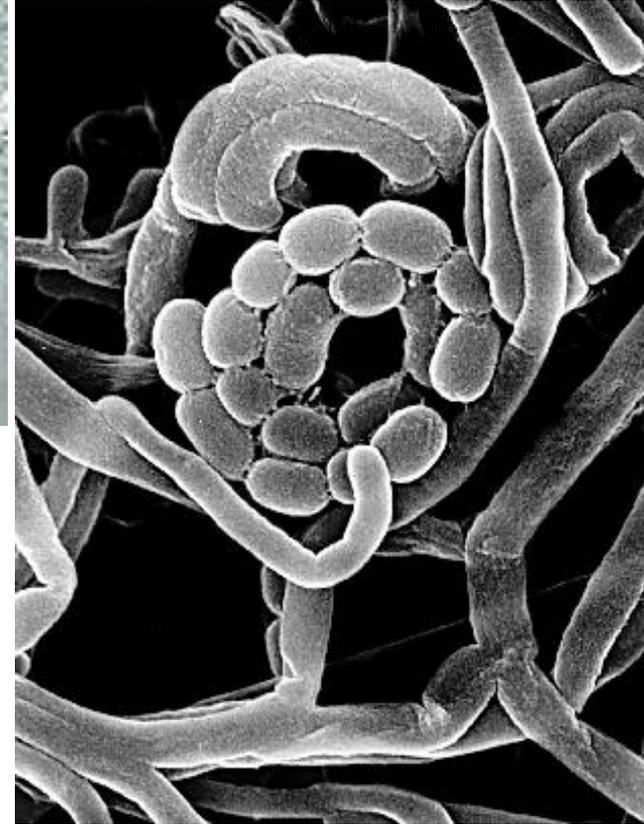


BIOFILMS O BIOPELÍCULAS:

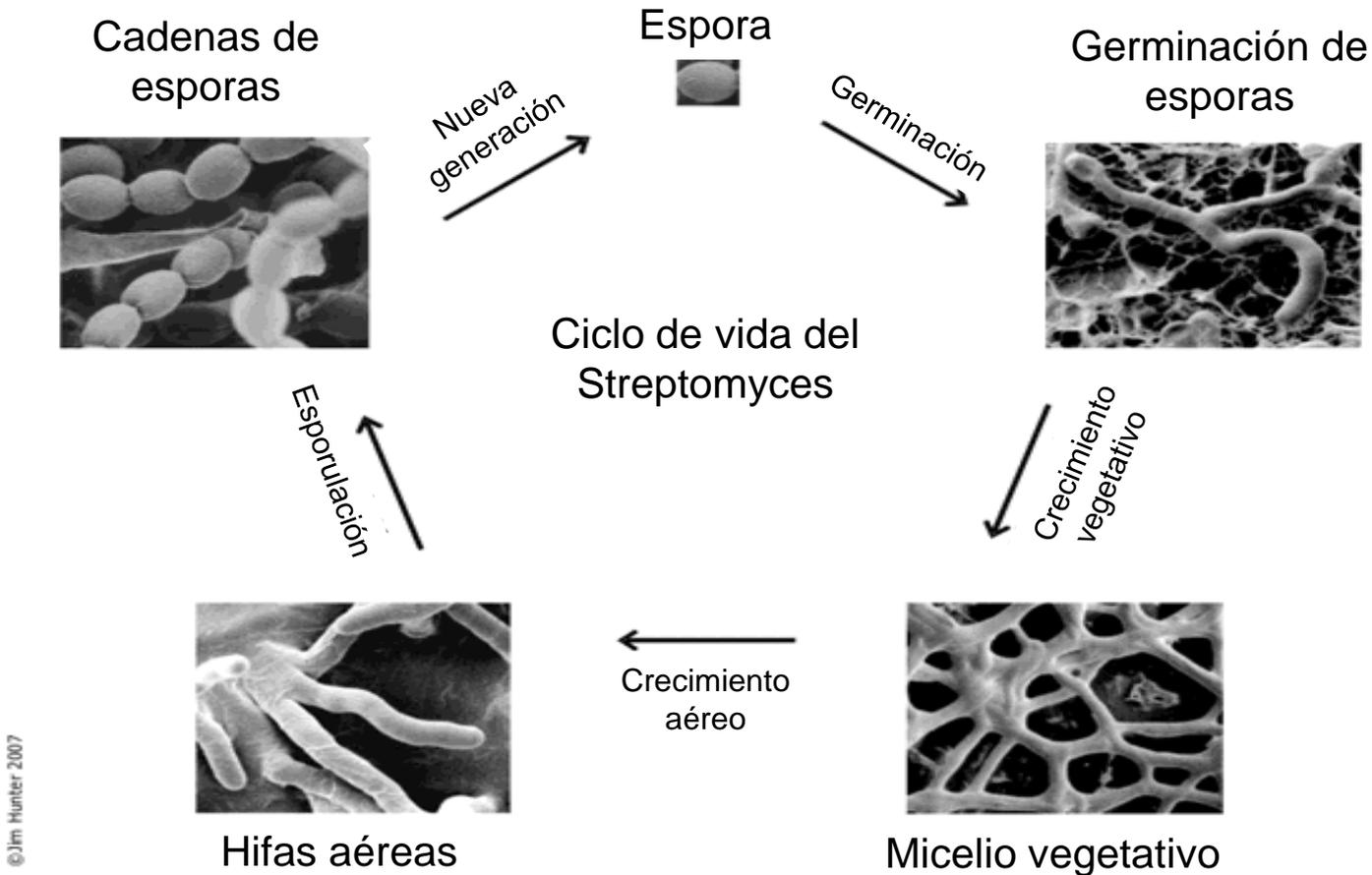
Tipo de colonia bacteriana que donde las células presentan diversas actividades, como si hubiera especialización celular, se agrupan con glucocálix y pilis.



Bacterias con aspecto filamentoso, y formadoras de esporas. Ejemplo *Streptomyces*

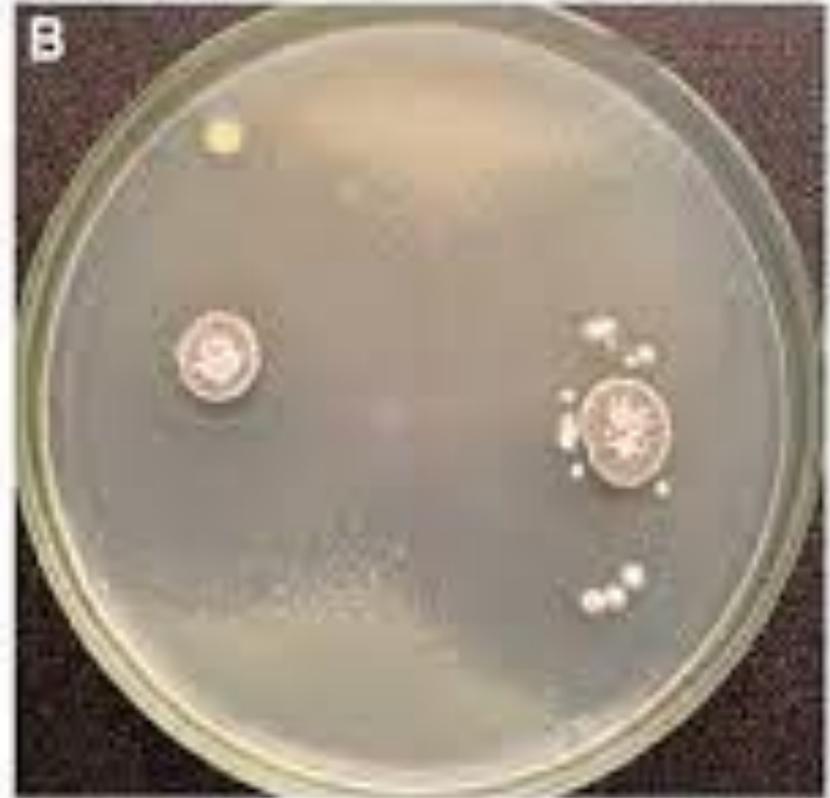


CICLO DE ESPORULACIÓN DE *Streptomyces*



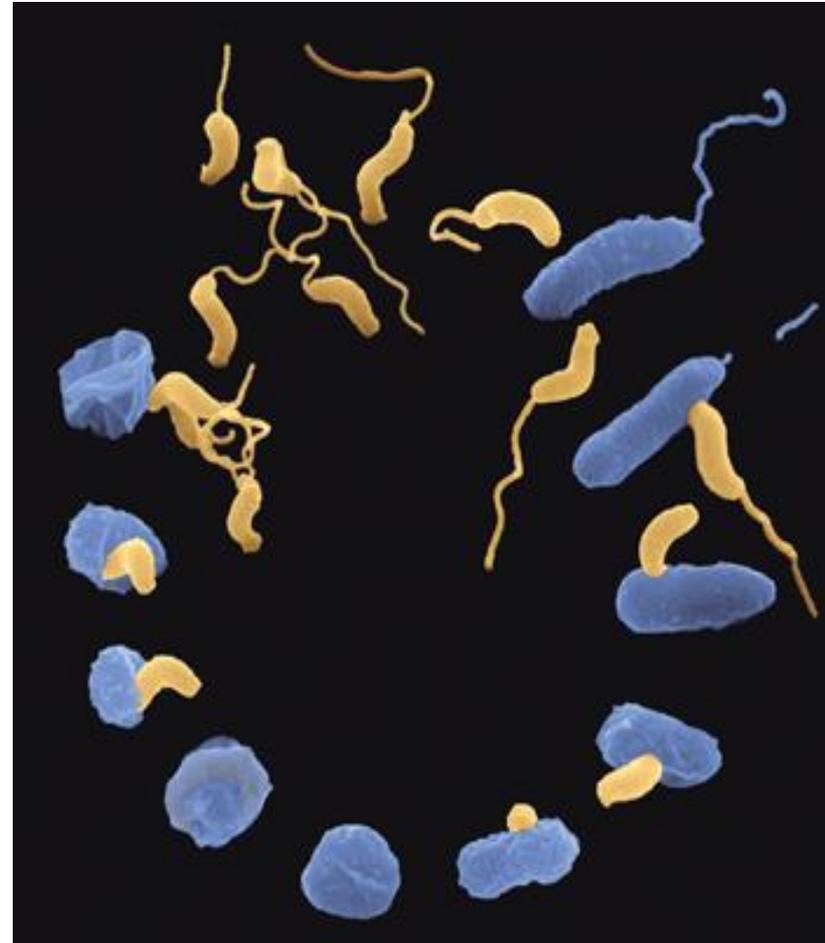
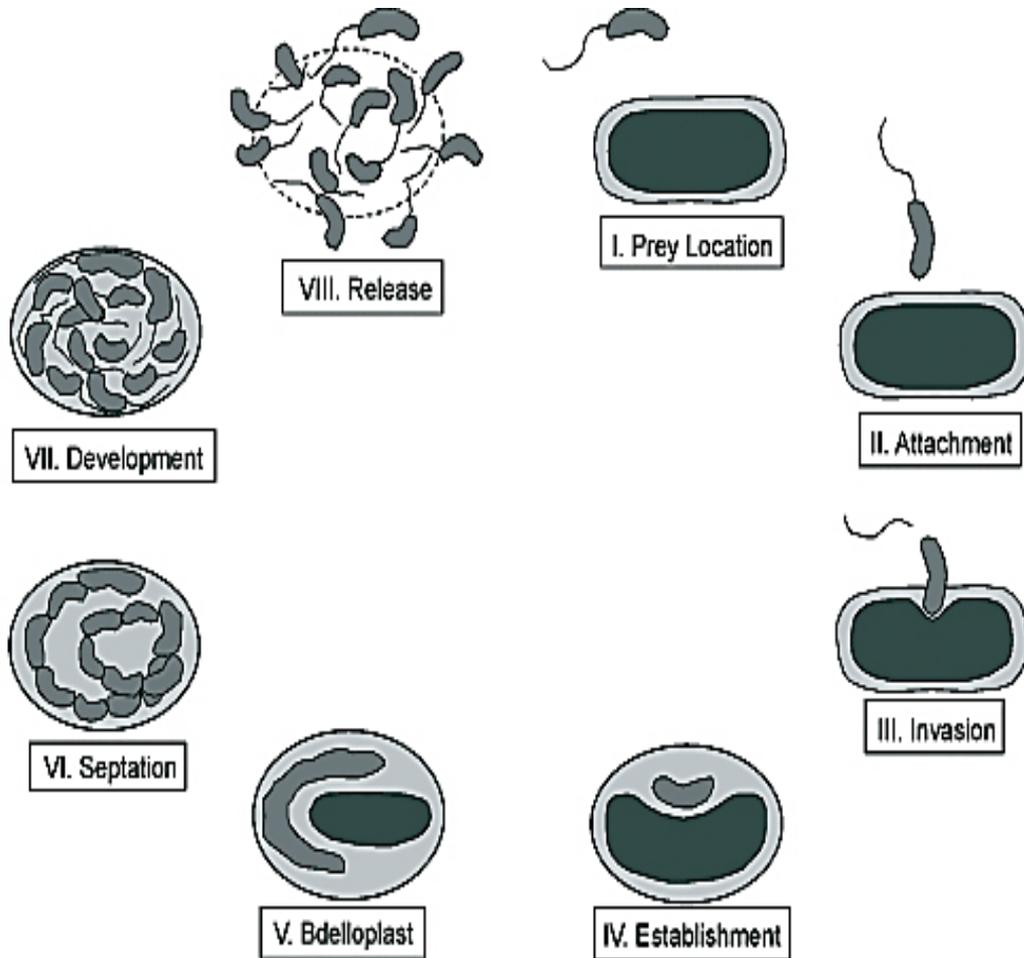
ECOLOGÍA MICROBIANA. ANTAGONISMO

Actinobacterias contra *Escherichia coli*



ECOLOGÍA MICROBIANA. PARASITISMO

Bdellovibrio atacando a *Escherichia coli*



06.5) IMPORTANCIA DE LAS BACTERIAS EN LA INDUSTRIA, LA SALUD Y LA ECOLOGÍA.

INDUSTRIAL:

Importancia Industrial como productoras de sustancias como antibióticos, otros medicamentos, ácidos orgánicos, enzimas. También en la producción de alimentos por procesos microbiológicos.

A nivel industrial también se verifica la presencia de los microorganismos como contaminantes de los procesos o productos terminados que afectan económicamente.



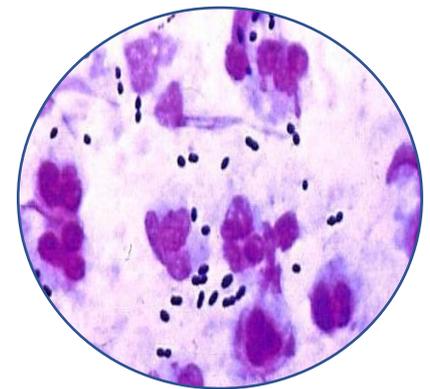
06.5) IMPORTANCIA DE LAS BACTERIAS EN LA INDUSTRIA, LA SALUD Y LA ECOLOGÍA.

SALUD:

A nivel salud por las epidemias que causan y su importancia en el diagnóstico clínico para el tratamiento de enfermedades.

Además del diagnóstico para el tratamiento de diversas enfermedades causadas por microorganismos, que regularmente aparecen en el ser humano.

En pocas ocasiones se enfrentan a nuevos microorganismos bacterianos.



06.5) IMPORTANCIA DE LAS BACTERIAS EN LA INDUSTRIA, LA SALUD Y LA ECOLOGÍA.

ECOLOGÍA:

Ecológicamente la presencia de ciertos microorganismos en cantidad y tipo puede determinar que un suelo o agua sea ecológicamente útil o esté contaminado.

También se puede hacer “Biorremediación”, que consiste en el uso de bacterias degradadoras de sustancias contaminantes , logrando eliminarlas e integrar los elementos a los ciclos geobiológicos.

