

MICROBIOLOGIA

LA CIENCIA DEL SIGLO XX

INTRODUCCIÓN

I; PRINCIPALES MICROORGANISMOS

1 Priones y viroides.

2 Virus.

3 Procariontes

II; HISTORIA DE LA MICROBIOLOGÍA

1 Acercamiento a los MO.

2 Teoría de la generación espontánea (TGE).

3 Conocimiento de los MO en el siglo XVIII.

4 Nacimiento de la microbiología en el siglo XIX.

5 Desarrollo de la técnica microbiológica.

6 Microbiología del suelo.

7 Quimioterapia antimicrobiana.

III; OBSERVACIÓN DE MICROORGANISMOS

A/ Sistemas de lentes

1 Sistemas de lentes.

2 Tipos de microscopía.

B/ Preparaciones y muestras

1 Tipos de observaciones.

2 Toma de muestras.

3 Técnica de la gota pendiente.

4 Preparación de muestras teñidas.

5 Tinción simple.

6 Tinción diferencial.

7 Tinción Gram.

8 Tinción en caliente.

9 Tinción ácido alcohol resistente (AAR), o de Ziehl – Niessen.

C/ Diferencias observables entre microorganismos

1 Tamaño de los microorganismos.

2 Principales formas de bacterias.

3 División y disposición en colonias de los cocos.

4 Las bacterias gigantes.

IV; AISLAMIENTO Y CULTIVO DE MICROORGANISMOS

A/ Medios de cultivo

1 Generalidades.

2 Requisitos nutritivos del medio de cultivo.

3 Otros compuestos del medio de cultivo.

4 Tipos de medios de cultivo.

B/ Técnicas de aislamiento

1 El cultivo puro.

2 Obtención de cultivos puros.

3 Obtención de colonias por agotamiento de asa en placa.

4 Obtención de unidades formadoras de colonias (UFC) por divisiones sucesivas.

5 Obtención de colonias por filtración e incubación de muestras.

6 Microorganismos que no crecen en medios de cultivo.

C/ Conservación de cultivos

1 Incubación de cultivos.

2 Métodos de conservación de cultivos.

3 Colecciones de cultivos.

Parte I; LOS MICROORGANISMOS PROCARIONTES

INTRODUCCIÓN

A/ Evolución de la célula.

B/ La célula bacteriana.

1 Generalidades.

2 Analisis de la composición de Escherichia coli.

3 Elementos constantes en Bacteria.

4 Elementos frecuentes en Bacteria.

5 Elementos siempre ausentes en Bacteria.

I; ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DE LA CÉLULA BACTERIANA.

A/ La Cubierta de la Célula Bacteriana; Membrana Plasmática.

1 La Membrana Plasmática de Procariontes.

2 Membrana plasmática de Bacteria.

3 Permeabilidad.

4 Obtención y Acumulación de Energía.

5 Percepción del medio.

6 Exportación de proteínas sintetizadas por ribosomas.

7 Separación de los cromosomas durante división celular.

B/ La Cubierta de la Célula Bacteriana; Pared Celular.

1 La pared celular en procariontes.

2 La pared celular Gram $-$.

3 La pared celular Gram $+$.

4 Los Peptidoglucanos.

5 La membrana externa y el Periplasma de Gram $-$.

6 Biosíntesis del Peptidoglucano.

7 Las Bacterias Acido-Alcohol Resistentes (AAR), o micobacterias.

8 Casos especiales.

C/ El interior de la Célula Bacteriana; La Información Genética.

1 El Nucleoide.

2 Replicación del DNA.

3 Organización de los Genes y Transcripción en procariontes.

4 Regulación de la Transcripción.

D/ El interior de la Célula Bacteriana; El Citoplasma.

1 MreB; Citoesqueleto Bacteriano.

2 Ribosomas 70S y Traducción del mRNA a Proteínas.

3 Inclusiones del Citoplasma.

E/ Estructuras y Apéndices externos de la Célula Bacteriana.

1 El Glicocalix.

2 Fimbria y Pili.

3 Apéndices implicados en la movilidad bacteriana; Los Flagelos Bacterianos.

4 Endoflagelos.

F/ Movilidad Bacteriana.

1 Tipos de Movilidad.

2 Movilidad Flagelar.

3 Quimiotaxis; Percepción Sensorial relacionada con Movimiento Flagelar.

4 Movilidad Deslizante.

G/ Ciclos Celulares de las Bacterias.

1 La División Celular en Bacteria.

2 Procesos de Diferenciación Celular; Las Endosporas.

3 Esporulación de las Endosporas.

4 Genes Spo; Los Genes de la Esporulación.

5 Germinación de las Endosporas.

6 Otros procesos de Diferenciación Celular; Caulobacter.

7 Otros procesos de Diferenciación Celular; Mixobacterias.

8 Otras Bacterias que desarrollan formas de resistencia.

II; EL CRECIMIENTO BACTERIANO.

A/ Introducción.

1 Introducción.

2 Generalidades sobre crecimiento bacteriano.

3 Las Técnicas de medida.

B/ Las Técnicas de Medida de Densidad de una Población Bacteriana.

1 Método directo por recuento directo al microscopio.

2 Método directo por diluciones seriadas.

3 Método directo por rastreo de poblaciones por incremento de la masa celular.

4 Método directo por el peso de la población.

5 Métodos indirectos.

C/ Estudio del Crecimiento de una Población.

1 La curva de crecimiento poblacional.

2 Expresión matemática del crecimiento poblacional.

3 Importancia y técnicas industriales del seguimiento de una población bacteriana.

D/ Efectos de los Factores Ambientales sobre el Crecimiento.

1 Interés Industrial.

2 La Temperatura.

3 El pH.

4 La Osmolaridad.

5 Tolerancia al Oxígeno.

E/ Control del Crecimiento Bacteriano.

1 Generalidades.

2 La Esterilización.

3 La Pasteurización.

4 La Filtración.

5 Desinfección y Antisepsia.

6 Agentes Antimicrobianos Quimioterapéuticos.

III; PARTICULARIDADES DEL METABOLISMO BACTERIANO.

A/ Introducción al Metabolismo en Procariontes.

1 El Metabolismo; Generalidades.

2 Tipos de Metabolismos generales.

3 Tipos de Rutas Metabólicas Bacterianas.

4 El Poder Reductor.

B/ Nutrientes y Vías de Asimilación.

1 Los Macronutrientes.

2 Los Micronutrientes.

3 Asimilación de Nutrientes.

4 Incorporación del Nitrógeno.

5 Incorporación del Azufre.

6 Incorporación del Fósforo.

C/ Energía, Precusores Metabólicos, Poder Reductor.

1 Energía.

2 Precusores Metabólicos.

3 Poder Reductor.

D/ Fuentes de Energía en Bacterias.

1 Metabolismo Quimioheterótrofo.

2 Cadenas de Transporte Electrónico de Bacterias.

3 Metabolismo Fotótrofo.

4 La Fotosíntesis.

5 La Autotrofía.

6 Metabolismo Quimiolitótrofo.

E/ Bacterias Quimiolitótrofas.

1 Generalidades.

2 Las Bacterias Nitrificantes (oxidantes del nitrógeno).

3 Las Bacterias Sulfooxidantes (oxidantes del azufre).

4 Las Bacterias Férricas o Ferrooxidantes (oxidantes del hierro).

5 Drenaje ácido de las minas.

6 Bacteria oxidantes de Hidrógeno (H₂).

IV; GENÉTICA BACTERIANA; ADAPTACIÓN Y MUTACIÓN.

A/ Mutaciones. (Láminas A)

1 Tipos de Mutaciones Génicas.

3 Agentes Mutágenos.

4 Mecanismos celulares de Reparación.

5 Mutaciones con Cambio en el Fenotipo y su detección en el laboratorio.

B/ Plásmidos y Transposones. (Láminas C)

1 Plásmidos.

2 Transposones y Transposición.

3 Generalidades sobre el Intercambio de Material Genético entre Bacterias.

C/ Transformación y Transducción. (Láminas D)

1 Transformación.

2 Transducción.

C/ Conjugación. (Láminas E)

1 Generalidades sobre la Conjugación en Gram negativas.

2 El proceso de Conjugación.

3 Cepas Hfr.

4 Otros plásmidos, comunicación entre Gram positivas y entre Bacterias y Vegetales.

C/ Introducción a la Ingeniería Genética. (Láminas B)

1 Generalidades sobre Ingeniería Genética; Enzimas de Restricción.

2 Vectores de Clonación; Plásmidos Artificiales.

3 Otros Vectores de Clonación.

4 Técnicas de Rastreo.

Parte II; VIROLOGÍA

I; INTRODUCCIÓN A LOS VIRUS.

A/ Características Generales (Láminas F).

1 Definición.

2 Estructura General; El Core o Genoma Vírico.

3 Estructura General; La Cápsida y La Envuelta.

4 El Cultivo de Virus.

B/ La Replicación de los Virus.

1 Ciclo de Replicación Vírica.

2 La Clasificación de Baltimore.

II; Tipos de Virus.

A/ Virus Bacteriófagos (Láminas G).

1 Clasificación General de Bacteriófagos.

2 Los Fagos de la Serie T.

3 El Fago Lambda.

4 El Fago Mu.

5 Fagos con ADN mc.

6 Fagos con ARN.

B/ Virus Animales (Láminas H).

1 Generalidades sobre la Infección de virus a células animales.

2 Efectos Citopáticos de la infección (ECP).

3 Evasión del Sistema Inmune.

4 Virus Animales de ADN.

5 Virus de ARN.

6 Retrovirus y Hepadnavirus.

C/ Virus Vegetales (Láminas I).

1 Generalidades sobre la Infección de virus a células vegetales.

D/ Otros Agentes Infecciosos Acelulares (Láminas J).

1 Viroides y Virusoides.

2 Priones.

Parte III; LOS MICROORGANISMOS EN LA NATURALEZA Y EN LA INDUSTRIA

I; Interacciones entre Microorganismos.

A/ Tipos de Simbiosis (Láminas K).

1 Generalidades; la Simbiosis.

2 Mutualismo.

3 Parasitismo.

B/ Respuesta del Sistema Inmune ante infección por Parásitos (Láminas K).

1 Evasión de la Respuesta Inmune.

2 La Respuesta Inmune; Defensas Inespecíficas.

3 La Respuesta Inmune; Defensas Específicas.

II; Taxonomía Bacteriana.

A/ Principios de Taxonomía Bacteriana (Láminas L).

1 Generalidades.

2 Taxonomía fenética.

3 Filogenia Bacteriana.

III; MICROORGANISMOS DE ESPECIAL INTERÉS.

A/ Microorganismos Patógenos (Láminas M).

- 1 Generalidades.
- 2 Bacterias de Transmisión Aérea.
- 3 Bacterias Transmitidas por Picadura de Artrópodos.
- 4 Bacterias de Transmisión Sexual.
- 5 Bacterias Transmitidas por el Agua y los Alimentos.
- 6 Otros tipos de Transmisión.

B/ Microorganismos de Interés Industrial (Láminas N).

- 1 Generalidades, Microbiología industrial.
- 2 Cultivos Industriales.
- 3 Industria Farmaceutica (médica).
- 4 Industria Agroalimentaria.
- 5 Elaboración de Alimentos.
- 6 Biodeterioro.

INTRODUCCIÓN

– **Microbios o microorganismos (MO):** Seres **microscópicos** no visibles, generalmente **unicelulares**. Presentan una relación Superficie/Volumen muy elevada, alimentándose y respirando por difusión. Presentan un metabolismo rápido, ciclos vitales muy cortos y una elevada capacidad de dispersión (ubicuidad). Pueden presentar fotosíntesis, quimiolitotrofía, metanogénesis, y habitar medios de condiciones muy duras, como T elevadas, altas P o aridez.

– **Microbiología:** Estudio de los MO. Requiere métodos de trabajo específicos.

I; PRINCIPALES MICROORGANISMOS

– Los microorganismos no conforman un grupo taxonómico filogenéticamente. Son, de hecho, microorganismos seres evolutivamente muy distantes, que solo tienen en común su reducido tamaño.

– **Entidades acelulares:** Algunos MO son acelulares, y generalmente infecciosos. Son los **priones**, **viroides** y **virus**.

– **Organismos celulares:** La mayoría de los MO son células procariontes, como **Bacteria** y **Achaea**, o eucariontes, del grupo de las **algas**, los **hongos** o **protozoos**.

1 Priones y viroides:

- Los **priones** son proteínas que en su forma natural (PRPc) se encuentra en el SN de varios mamíferos. La forma patógena (PRPSc) se contagia por contacto, y es responsable de enfermedades degenerativas neuronales contagiosas.
- Los **viroides** son secuencias circulares de ARN, de comportamiento infeccioso. Provoca muchas enfermedades en vegetales.

2 Virus:

- Entidades acelulares, de tamaño mucho menor que el de las bacterias, formadas por:
 - **Ácido nucleico** (DNA o ARN).
 - Una **cápsida**, formada por uno o varios tipos de proteínas acopladas en estructuras geométricas.
 - Una **cubierta lipídica** con proteínas obtenida de la mbr de una C infectada.
- **Carecen de autonomía:** carecen de maquinaria de reproducción del genoma y metabolismo. Parasitan los de las C durante las infecciones (parásitos intracelulares).

3 Procariontes

- La amplia mayoría de los MO son procariontes unicelulares.
- Los procariontes se dividen en dos dominios, **bacteria** y **archaea**, filogenéticamente muy distantes.
- Se distinguen de los organismos eucariontes a distintos niveles:
 - C de pequeño tamaño y organización interna simple.
 - Carecen de mbr nuclear y compartimentación Car.
 - No presentan CE.
 - Ribosomas 70S.
- Generalmente su sencillez estructural condiciona su reducido tamaño. Como excepción, se conocen dos especies de *bacterias gigantes*.

II; HISTORIA DE LA MICROBIOLOGÍA

1 Acercamiento a los MO:

- Los MO pasan desapercibidos a la vista. Solo se pudo detectar su presencia gracias a enfermedades infecciosas, fermentación (láctea, vino, cerveza) y conservación de alimentos, elaboración de encurtidos es decir, a sus efectos sobre la materia.
- **Hipócrates**, médico de la Antigua Grecia, nombró *miasmas* a los agentes patógenos que se transmitían entre las personas.

2 Teoría de la generación espontánea (TGE):

- Fuente de controversia que acompaña a la microbiología durante siglos. Según la **TGE**, **algunos organismos vivos pueden originarse a partir de la materia no viva**.
- **Aristóteles** fue el primero en plantear que podía suceder así al observar la aparición de de gusanos en la materia en descomposición de cadáveres.

- **Van Helmont** defendía que podían crearse ratones por generación espontánea colocando en el desván carne putrefacta envuelta en trapos.
- **Francesco Redi** desmiente por primera vez, en el siglo XVII, la TGE utilizando una mosquitera. Sin embargo, la carne no infestada de gusanos ni ratones acababa descomponiéndose debido a los MO.
- Finalmente **Pasteur** desmiente la TGE, gracias a su experimento en medio aséptico con su matraz en cuello de cisne. Demuestra que la putrefacción depende de los gérmenes del aire: la vida microbiana proviene de gérmenes en partículas en suspensión en el aire (También endosporas).

3 Conocimiento de los MO en el siglo XVIII:

- **Van Leeuwenhoek**, pañero, fue la primera persona que pudo ver MO, gracias a las primeras lentes de grandes aumentos que utilizaba para contar hilos.
- Observa los bacilos móviles en infusiones y les da en nombre de animáculos. The Royal Society recibe sus cartas y descripciones pero no le dan veracidad pues no es científico.
- Se comienzan a observar animáculos en infusiones (agua + materia orgánica muerta). Aparecen **Needham** (espontaneísta) y **Spallanzani** (antiespontaneísta), que trabajan con infusiones en matraces esterilizados para confirmar o desmentir respectivamente la TGE.
- Ambos creen que sus experimentos confirman sus ideas. Las formas esporuladas y pequeñas entradas de aire en los matraces hacen muy difíciles estos experimentos.
- **Jenner**, médico inglés, realiza la primera variolación; aplicación empírica de la vacunación, contra la viruela. Inyecta pústulas de animales infectados (vacas), de forma a inmunizar a personas sanas.

4 Nacimiento de la microbiología en el siglo XIX:

- Se comienza a utilizar desde el punto de vista quirúrgico la asepsia o antisepsia. Fue, en parte, gracias al joven ginecólogo de Viena, **Semmelweis**.
- El hospital en que trabajaba estaba dividido en una zona para pobres cuyos partos atendían comadronas, y otra para ricos donde los médicos se hacían cargo de los partos. Asoció la mayor frecuencia de defunciones en partos de la zona de los ricos, y que los médicos, que tratan con cadáveres y enfermos sin utilizar asepsia ni higiene, concluyendo que transmitían los MO a las madres en los partos. Fue expulsado del hospital.
- **Lister**, cirujano inglés, fue el primero en utilizar la técnica aséptica en sus operaciones, con alcoholes.
- **Louis Pasteur**, químico francés, es el fundador de la Microbiología como ciencia. El gobierno francés le encarga trabajos de análisis de vinos franceses para exportar, que se picaban en el trayecto. Así descubre los MO.
- Estudia también la cerveza, descubriendo bacterias anaerobias y levaduras de la fermentación alcohólica. Descubre así también la vida anaerobia.
- Pone de manifiesto el origen microbiano de muchas enfermedades contagiosas.
- Desmiente la TGE ganando un premio de la academia francesa.
- Descubre la primera vacuna, para la rabia. Inocula el virus de la rabia de la medula espinal de animales

afectados. La prueba sobre un niño en estado terminal, y logra milagrosamente salvar su vida.

– Descubre la pasteurización como técnica de conservación de alimentos, que no llega al punto de la esterilización. Expone el producto a 100°C durante 10 minutos y lo hermetiza.

– **Robert Koch** identifica gracias a su postulado agentes causantes de enfermedades como la tuberculosis, el cólera. Según su postulado, un tipo de MO es causante de una enfermedad concreta. Se dedica al aislamiento y cultivo de bacterias.

- Aislamiento del MO.
- Obtención del cultivo puro.
- Inocular en animal sano de experimentación
- Si el animal sano desarrolla la enfermedad, el MO purificado es responsable de ella.
- Se puede aislar de nuevo el MO a partir del animal inoculado de experimentación.

– Descubre con su postulado MO responsables de enfermedades como el ántrax (*Bacillus anthracis*), o de la devastadora tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*). Esta última es una bacteria muy difícil de cultivar por sus altos requerimientos en nutrientes y el lento crecimiento poblacional, y de observar pues no se tiñe fácilmente.

5 Desarrollo de la técnica microbiológica:

– Los primeros medios de cultivo fueron líquidos, como las infusiones. Son cultivos más difíciles de observar y valorar. El propio Pasteur no dominaba la actual *metodología del cultivo puro*.

– **Robert Koch** es el primero en utilizar cultivos sólidos. Logra hacer desarrollarse colonias por mitosis de una única bacteria sobre rodajas de patatas. Las colonias forman grandes grumos fáciles de aislar; no se dispersan por flotación. Sin embargo, es difícil aislar estos cultivos de contaminación.

– Un discípulo de Koch inventa el cultivo sólido en placas de **Peyer** sobre gelatinas. Actualmente se utilizan las placas de **Petri** sobre cultivos sólidos de agar-agar extraído de algas, pero es un derivado de la técnica de Peyer.

6 Microbiología del suelo:

– **Martinus Beijerinck** descubre los MO relacionados con la fertilidad del suelo.

– Crea los cultivos de enriquecimiento, no puros, extraídos del suelo. Las condiciones de cultivo hacen proliferar determinados grupos de MO desplazando a las otras poblaciones.

– Descubre las bacterias fijadoras de nitrógeno: Estas convierten el nitrógeno molecular en compuestos nitrogenados fértiles para la vida. Son esenciales en los suelos para la subsistencia de muchas plantas. ($N_2 \rightarrow 2 NH_3 \rightarrow$ Incorporación en aminoácidos). Por ejemplo, *Rhizobium* vive en simbiosis en los nódulos reticulares de la raíz de leguminosas, fijando N_2 .

– También funda los principios básicos de la virología gracias al mosaico del tabaco, infección dañina para la economía. Gracias a diminutos poros logra filtrar MO a los que llama virus filtrables. Por entonces se denominaba virus a un agente patógeno.

– **Sergei Winogradsky** descubre los ciclos de renovación del nitrógeno y del azufre y muchas bacterias relacionadas. Descubre también la quimiolitotrofia: Metabolismo autótrofo no dependiente de la luz.

7 Quimioterapia antimicrobiana:

- **Paul Ehrlich** inicia la búsqueda de *la bala mágica*, fármaco nocivo selectivamente contra las bacterias o MO infecciosos, o C cancerosas. Crea el Salvarsan para tratamiento de la sífilis. Este medicamento derivado de arsénicos contenía metales pesados nocivos para bacterias, pero es responsable de muchos efectos secundarios.
- **Domagk** descubre que las sulfamidas refrenan el crecimiento bacteriano buscando colorantes que las tiña. Crea el Prontosil, con efecto bacteriostático, no bactericida, que bloquea el metabolismo bacteriano.
- **Alexander Fleming** descubre finalmente la penicilina, primer antibiótico, en 1928. Descubre este producto de secreción bactericida del Hongo *Penicillium* gracias a placas Petri accidentalmente contaminadas por este moho. Observó a simple vista Halos de inhibición. La extracción del producto resulta muy cara y escasa, y hasta 1940 no comienza la era de comercialización de estos productos.
- **Waksman** descubre la estreptomicina, antibiótico eficaz contra la tuberculosis, ante la que la penicilina no surgía efecto.
- Actualmente la mayoría de antibióticos se obtienen a partir de Actinomicetos, MO del suelo.

III; OBSERVACIÓN DE MICROORGANISMOS

A/ Sistemas de lentes

1 Sistemas de lentes:

- Los microscopios están formados por **dos lentes de aumento (objetivo y ocular)** cuyos valores se multiplican para obtener el **aumento** del microscopio, y un **condensador** que dirige y condensa en la muestra los rayos del foco de luz (ópticos) o electrones (electrónicos).
 - El aumento para observar bacterias gira entorno a 1000x (Por ejemplo; objetivo 100x, ocular 10x).
 - El **poder de resolución d** del sistema de lentes es la distancia mínima que separa dos puntos claramente distinguibles. Depende de λ (longitud de onda de la luz), n (índice de refracción del medio) y θ (Semiángulo del cono de luz).
- $$d = (0,5 \cdot \lambda) / (n \cdot \sin \theta)$$
- Al presentar un d mucho menor, los microscopios electrónicos permiten muchos más aumentos que los ópticos. Son necesarios para la observación de los virus.
 - Profundidad de campo: Espesor de muestra enfocado.
 - Área de campo: Diámetro del espacio enfocado.

2 Tipos de microscopía:

- La **microscopía óptica** utiliza como fuente un **haz de luz visible**. Debido a su elevada λ tiene mayor d.
 - De **campo claro**: Con muestras teñidas.
 - De **campo oscuro**: Para muestras pequeñas. Fondo oscuro, muestra aparece iluminada por refracción de un haz de luz desviado.

- De **contraste de fases**: Para observación de estructuras internas. Alto contraste producido por desfase de rayos de luz incidentes.
- De **contraste de interferencia diferencial**: observaciones 3D.
- De **fluorescencia**: Sin haz de luz. Técnicas de inmunofluorescencia; anticuerpos unidos a fluorocromo. Muestras clínicas.

– La **microscopía electrónica** utiliza como fuente un **haz de electrones**. Permite enfocar en aumentos mucho mayores gracias a su menor d.

- De **transmisión**: Observación de estructuras internas en cortes ultra finos.
- De **barrido**: Observación de superficies.

B/ Preparaciones y muestras

1 Tipos de observaciones:

- Observación **en fresco**: MO vivos, no teñidos, en gota pendiente.
- Observación de **preparaciones teñidas**: MO muertos. Se realiza frotis, fijación y tinción. Existen varios tipos de tinción distintos (Simple, negativa, diferencial)

2 Toma de muestras:

- Se utiliza la **técnica aséptica** para obtener cultivos puros: Se trabaja en ambiente estéril, y se manipula a un radio de 20cm del mechero Bunzen.
- Se utiliza un **asa de siembra** para tomar la muestra. Se forma por un mango y un filamento enroscado que debe ser flameado para esterilizarlo. También se flamea la boca del tubo de ensayo donde va a ser depositada la muestra: Cultivo joven en medio líquido.

3 Técnica de la gota pendiente:

- Se observan los **MO vivos** del cultivo joven, pudiéndose valorar la **movilidad** (perdida a las 48h), la **pureza del cultivo**, las **divisiones celulares** o procesos de **esporulación**. Pueden utilizarse algunos colorantes no tóxicos como azul de metileno.
- Se utiliza un **porta excavado**, con una depresión central. La muestra se coloca sobre el cubre con el asa de siembra, todo esterilizado. Se coloca el cubre sobre el porta de forma que la muestra quede en la depresión.
- Se emplea microscopía óptica de campo claro, campo oscuro o contraste de fases.
- La carencia de tinción y el movimiento dificultan la observación.

4 Preparación de muestras teñidas:

- **Frotis**: Película fina de suspensión de C o MO. Se coloca una muestra concentrada y una gota de agua en el centro del porta. Se extiende la mezcla y se deja secar al aire.
- **Fijación**: Adhesión de la muestra al porta. Para bacterias es suficiente pasar la muestra por el mechero bunzen, gracias a la PC. Otras C requieren métodos más complejos.
- **Tinción**: Aplicación de **colorantes** sobre la muestra. Se pueden aplicar **mordientes** que refuerzan la unión

colorante – muestra.

5 Tinción simple:

- Se utiliza un **único colorante**.
- Se aplica directamente sobre la muestra fijada, después se lava con agua.
- Permite mejor observación de **formas, tamaños y agrupaciones**.
- Colorantes: Azul de metileno, Cristal Violeta, Safranina, Fuscina ()
- **Técnica de tinción negativa con Nigrosina:** Partículas de carbón, que al ser demasiado grandes para penetrar y teñir al MO deja el fondo negro y los MO iluminados.

6 Tinción diferencial:

- Permite diferenciar distintos tipos celulares gracias a la utilización conjunta de varios colorantes distintos.
- A continuación veremos distintos tipos de tinción diferencial.

7 Tinción Gram:

- Principal tinción diferencial. Permite separar las bacterias actuales en dos grandes grupos: **Gram +** y **Gram -**.
- Metodología:
 - **Cristal violeta** (colorante fundamental) – 2 min.
 - **Lugol** (mordiente) – 1 min.
 - **Alcohol** (decoloración) – 30 seg.
 - Lavado con agua.
 - **Safranina** (colorante de contraste, rojo) – 1 min.
 - Lavado con agua y secado.
- El cristal violeta solo colorea las bacterias Gram + que aparecen de color violeta rosáceo.
- Las bacterias Gram – aparecen de color rojo, teñidas por la safranina.

8 Tinción en caliente:

- Se utiliza para teñir las **endosporas bacterianas**.
- Metodología:
 - **Verde malaquita** (colorante fundamental, hidrosoluble) – 3 min. Aplicado sobre mechero bunzen, en caliente, sin llegar a hervir.
 - Decoloración y lavado con agua.
 - **Safranina** (colorante de contraste) – 1 min.
 - Lavado y secado.
- Las esporas aparecen teñidas en verde sobre el cuerpo vegetativo bacteriano que aparece rojo.

- La presencia de endosporas es determinante a la hora de la clasificación de las bacterias.

9 Tinción ácido alcohol resistente (AAR), o de Ziehl – Niessen:

- Permite diferenciar las **mycobacterias**. Se utiliza como prueba diagnóstica para la tuberculosis.
- Metodología:
 - **Fuscina fenicada** (colorante fundamental) – 3–5 min. Aplicado en caliente.
 - Decoloración con **ácido nítrico (33%) – alcohol**.
 - Lavado con agua.
 - **Azul de metileno** (colorante de contraste) – 1–2 min.
- Las mycobacterias presentan **ácido–alcohol–resistencia** debido a la alta cantidad de grandes y complejos lípidos en su PC (ceras), y aparecen de color fuscina. Se denominan AAR +. Son Gram –.
- Las otras bacterias y C pierden el fuscina durante la decoloración, apareciendo azules. Se trata de AAR–.

C/ Diferencias observables entre microorganismos

1 Tamaño de los microorganismos:

- Las bacterias son generalmente muy pequeñas. Se miden en **micras** y para su observación es necesario un sistema de lentes equivalente a 1000x.
- Los eucariotas son de mucho mayor tamaño. Pueden ser pluricelulares y medirse en **milímetros**.
- Los virus son los más pequeños. Solo son observables con microscopio electrónico. Se miden en **nanómetros**. Los POX virus, de la viruela, son los más grandes: Pueden verse con microscopio óptico.

2 Principales formas de bacterias:

- Los **Cocos** son las bacterias de forma esférica. No suelen presentar flagelos ni movimiento.
- Los **Bacilos** son bacterias alargadas. Son las que presentan flagelos más frecuentemente.
- Los **Espirilos** son bacilos con forma curvada.
- Las **Espiroquetas** son bacterias muy alargadas y en espiral. Pueden observarse en microscopio de campo oscuro.
- Las **Bacterias filamentosas** son muy alargadas, con aspecto similar a una cuerda.
- Algunas bacterias (cocos, espirilos) presentan **prosteca o tallo**, para fijarse al sustrato. Presentan un ciclo característico donde se alterna la forma de C nadadora con flagelo y C sésil adherida al sustrato mediante el apéndice.
- Existen otras formas especiales. (Formas geométricas, pentágonos).

3 División y disposición en colonias de los cocos:

- **Streptococos**: Presentan un único plano de división formando cadenas.

- **Tétradas:** Presentan dos planos de división. Forman cuadrados de 4 C o tétradas.
- **Sarcinas:** Presentan tres planos de división y forman cubos.
- **Estrafilococos:** Presentan tres planos de división y forman grandes agrupaciones deformes o racimos.

4 Las bacterias gigantes:

- Mientras las dimensiones de E. coli son 1,5 x 2 μm y las del género Bacillus 1,5 x 4 μm , se conocen dos especies de **bacterias gigantes** cuyas dimensiones son 8 x 50 μm : Son mayores que los paramecios.
- Hasta su descubrimiento se pensaba que los procariontes tenían una limitación de tamaño mucho mayor.
- Una de las bacterias gigantes es **quimiolitótrofa**, la otra **endosimbionte del pez cirujano**.

IV; AISLAMIENTO Y CULTIVO DE MICROORGANISMOS

A/ Medios de cultivo

1 Generalidades:

- La obtención de cultivos puros y viables requiere la utilización de técnicas determinadas, como la **técnica aséptica**.
- **Siembra:** Se deposita un inóculo, o pequeña porción de muestra en un medio de cultivo.
- **Incubación:** Se procuran y mantienen las condiciones físico-químicas adecuadas para la proliferación del inóculo de la muestra.
- **Medio de cultivo:** Disolución acuosa, generalmente sólida, de nutrientes. Suele depositarse en placas de Petri, matraces o tubos de ensayo.
- Los medios de cultivo se pueden comprar preparados y deshidratados. Se disuelve el preparado en agua y se lleva a ebullición durante 3 minutos.

2 Requisitos nutritivos del medio de cultivo:

- El medio de cultivo debe contar con distintos componentes en función del tipo de microorganismo que se desea cultivar. Estos son los principales requisitos:
 - **Fuente de carbono:** Orgánico (azúcares) en heterótrofos, Bicarbonato o CO₂ en autótrofos.
 - **Fuente de N, P y S:** Sales minerales.
 - **Cationes:** Ca²⁺, Na⁺, Mg²⁺, K⁺.
 - **Oligoelementos** en baja concentración: Fe²⁺, Cl⁻
 - **Factores de crecimiento, compuestos orgánicos** (vitaminas, aminoácidos).
 - **Agente solidificante:** AGAR AGAR, Agar bacteriológico.
- E coli, por ejemplo, crece con sólo azúcares y sales.
- Las bacterias lácticas, sin embargo, precisan de factores de crecimiento.
- Para obtener medios de cultivo nutritivo se suelen utilizar los siguientes componentes:

- **Sales minerales:** NaCl, NH₄⁺, KCl
- **Extractos:** Caldos de carne, levaduras o soja.
- **Peptonas:** Digeridos proteicos animales o vegetales, aportan aminoácidos.
- **Fluidos corporales:** En caso de cultivo de bacterias patógenas.

3 Otros compuestos del medio de cultivo:

- **Solución tampón:** para evitar cambios bruscos en el pH, y mantener su valor en $6 < \text{pH} < 7$. En el caso de bacterias acidófilas o alcalinófilas, $\text{pH} < 6$ o $\text{pH} > 7$ respectivamente.
- **Indicadores de pH:** Controlando su valor se pueden localizar reacciones fisiológicas como la fermentación de lactosa que implica un descenso del pH.
- **Colorantes** para localizar reacciones fisiológicas, como el púrpura de bromocresol, que pasa de morado a amarillo cuando tiene lugar la fermentación del sustrato. Se utiliza para seleccionar colonias fermentadoras de azúcares en placas de Petri (zonas amarillas).
- Se pueden emplear **agentes selectivos** creando medios de cultivo selectivos. Inhiben el crecimiento de ciertos grupos determinados de MO para aislamiento de bacterias. Por ejemplo, se emplean agentes reductores como triglicolato o cisteína, que captan el O₂, aislando bacterias anaeróbicas o microaerófilas.

4 Tipos de medios de cultivo:

- Los cultivos pueden ser **líquidos, semisólidos o sólidos**.
- Suelen presentarse en **placas de Petri**, si son líquidos, en **matraces**. Suelen ser conservados en **tubos de ensayo inclinados**, aumentando la superficie de exposición.
- **Generales:** Contienen nutrientes que permiten el crecimiento de cualquier muestra bacteriana.
- **Enriquecidos:** Contienen además compuestos adicionales requeridos para ciertos cultivos especiales, como plasma sanguíneo para ciertos MO patógenos.
- **Selectivos:** Permiten el crecimiento selectivo de determinado grupo de bacterias, inhibiendo el crecimiento de las otras. Por ejemplo, cristal violeta impide crecimiento de Gram +. En presencia de nitrógeno, solo se desarrollan las bacterias capaces de fijarlo.
- **Diferenciales:** Permiten diferenciar visualmente ciertas colonias de bacterias, como en el caso de indicadores de pH o colorantes.
- **Especiales o de identificación:** Se utilizan para diferenciar y clasificar bacterias, recurriendo a diferencias fisiológicas y metabólicas como fermentación, respiración, o proteólisis. Son cultivos **enriquecidos y diferenciales**, que permiten comprobar si un MO da determinada reacción.

B/ Técnicas de aislamiento

1 El cultivo puro:

- El **cultivo puro** es un cultivo donde solo prolifera **una única estirpe** de MO.
- Suelen obtenerse a partir de una célula microbiana por sucesivas mitosis.

- Para obtener el cultivo puro debemos **aislar** el MO que deseamos estudiar de una muestra natural, que es una población mixta.

2 Obtención de cultivos puros:

- **Colonia:** Formación macroscópica con morfología característica de la especie, que tiene por origen una única **célula UFC** (unidad formadora de colonias).
- A partir de la **inoculación de una colonia** obtendremos un cultivo puro.
- Por medio de **cultivos de enriquecimiento, selectivos o diferenciales**, podemos favorecer selectivamente la proliferación de determinadas colonias de MO, o diferenciarlas con mayor facilidad.
- Se pueden obtener cultivos puros por **micromanipulación**, a partir de una única C madre.

3 Obtención de colonias por agotamiento de asa en placa:

- Después de esterilizar el asa de siembra, se inocula, y se descarga en la placa Petri.
- A continuación se limpia y esteriliza el asa, se inocula de la primera descarga y de nuevo se realiza una segunda descarga.
- Después de repetir el proceso, en la últimas descargas quedan muy **pocas C y muy separadas**, de este modo después de incubar se obtienen **colonias visiblemente separadas**, y se pueden inocular selectivamente obteniendo **cultivos puros**.

4 Obtención de unidades formadoras de colonias (UFC) por divisiones sucesivas:

- Se parte de un cultivo joven en medio líquido. Las poblaciones bacterianas se encuentran en concentraciones muy altas.
- Se procede a realizar **diluciones sucesivas** de la muestra en sueros nutritivos. Después de n diluciones, se inocula 1 ml del último tubo en un medio de cultivo en placa, extendiéndose con **asa Drigalski** de vidrio.
- Después de incubación, aparecen UFC **colonias visiblemente separadas**, originadas en una sola célula. Efectivo con muestras más cargadas que en el caso de agotamiento de asa.
- **Técnica de profundidad:** En ocasiones se coloca el medio de cultivo sobre la dilución y se homogeneizan de modo que las colonias no quedan todas en la superficie del medio de cultivo.

5 Obtención de colonias por filtración e incubación de muestras:

- Esta técnica se utiliza con muestras líquidas. Pueden ser cultivos jóvenes o diluciones en sueros.
- La muestra se deposita en un recipiente sin fondo sobre un filtro en un portafiltros. El conjunto se dispone sobre un matraz con sistema de succión.
- Al activar la bomba de succión, todos los desechos caen al matraz, mientras el filtro retiene todos los MO, salvo los virus.
- Las bacterias retenidas en el filtro se llevan a medio de cultivo. Se obtienen colonias por incubación.

- Esta técnica también se utiliza para la esterilización de líquidos.

4 Microorganismos que no crecen en medios de cultivo:

- *Treponema pallidum*: Responsable de la sífilis. Se utilizan conejos.
- *Mycobacterium leprae*: Responsable de la lepra. Se utilizan armadillos.
- Parásitos intracelulares obligados, como *Rickettsia*, *Chlamydia* o virus. Se utilizan cultivos de otros tipos celulares para su proliferación en ellos.

C/ Conservación de cultivos

1 Incubación de cultivos:

- Tanto para la obtención de colonias como para la conservación de cultivos es esencial incubarlos y mantenerlos a **temperatura, pH y condiciones nutritivas** adecuadas para la población estudiada.
- Para incubación de bacterias fotosintéticas es precisa la luz.
- Para bacterias anaerobias estrictas es esencial la carencia de O₂, que las resulta tóxico. Las anaerobias facultativas no lo necesitan, pero pueden desarrollarse en su presencia.
- Para los cultivos de anaeróbios se utilizan **jarras de anaerobios** y **catalizadores** que eliminan el O₂. Pueden producir gases como CO. Estos cultivos suelen sellarse con una **capa de parafina estéril**.
- Las bacterias microaerófilas de la fermentación de la lactosa requieren una baja [O₂].
- Las bacterias aerobias estrictas necesitan el O₂. Se utilizan para los cultivos aerófilos **recipientes especiales** estériles con alta aireación o **planchas de aireación**.
- Los **cultivos bimembres** son cultivos especiales de bacterias simbióticas que necesitan otras especies para subsistir, como las bacterias bacteriolíticas, consorcios de simbiosis altamente dependiente, o cultivos de virus.

2 Métodos de conservación de cultivos:

- Es suficiente realizar continuas **resiembras** en medios estériles para conservar durante temporadas cortas los cultivos. Si se agotan los nutrientes o acumulan tóxicos en el medio, los MO no subsisten.
- La **refrigeración a 4°C** permite con un bajo coste conservar un cultivo durante un mes, reduciendo el metabolismo y la tasa de crecimiento de las poblaciones.
- La **congelación** permite conservar hasta 5 meses un cultivo, si se añaden agentes protectores para las C conservadas.
- La **liofilización** permite deshidratar al vacío las C sin alterarlas. Puede servir para conservar cultivos hasta durante 20 años.
- Los MO con **formas criptobióticas** como endosporas o quistes pueden subsistir varios años.

3 Colecciones de cultivos:

- Existen colecciones de cultivos de MO vivos, purificados y numerados, que se conservan generalmente liofilizados.
- **ATCC** (American Type Culture Collection) es la colección de referencia.
- La **Colección del Instituto Pasteur** es la mayor de Europa.
- Una de las más destacables en España es la **Colección Española de Cultivo** de la universidad de Valencia.

Parte I; LOS MICROORGANISMOS PROCARIONTES

INTRODUCCIÓN

A/ Evolución de la célula:

- Todos los tipos celulares encuentran su origen evolutivo en la célula procarionte.
- A partir de ese ancestro algunas C buscaron el camino de la individualidad, resultando organismos siempre unicelulares. Para seguir esta estrategia la estructura procarionte fue suficiente. Se encuentran dos líneas o dominios de procariontes claramente diferenciables: Bacteria y Archaea.
- Con esta estrategia evolutiva las C se comportan como individuos, y deben hacer frente a los cambios ambientales. Presentan mayor respuesta a cambios de pH o T. Presentan uniformidad celular: Gran capacidad de adaptación al ambiente cambiante.
- Otras C buscaron el camino de la cooperatividad, formando organismos pluricelulares. La estructura eucarionte, más compleja, triunfó en este propósito. Las células unidas conservan con más facilidad un ambiente estable y un medio de crecimiento adecuado. Se especializan en tejidos.
- Por sus procesos fisiológicos y su estructura similares, se piensa que las ancestrales Archaea dieron lugar a la aparición de eucariontes por un lado, y bacterias actuales por otro.

B/ La célula bacteriana:

1 Generalidades:

- Las Bacterias actuales son seres primitivos unicelulares, que aparecieron hace unos 3000 Ma.
- C estructuralmente muy simples. Sin compartimentación ni núcleo celular.
- Presentan rápida interacción con el ambiente y una alta y rápida capacidad de adaptación (Uniformidad celular).
- Su reproducción tiene lugar mayoritariamente por fisión binaria.
- Su variabilidad tiene origen fundamentalmente en la mutación. En ocasiones puede tener lugar recombinación de material genético. Son seres haploides.
- Llevan a cabo la expresión génica por procesos muy distintos a los eucariontes.

2 Analisis de la composición de Escherichia coli:

– **50% Proteínas:**

- Constitutivas (estructurales).
- Inducibles. (enzimáticas, sólo se sintetizan en determinadas circunstancias).

– **25% RNA:**

- 80% rRNA.
- 15% rRNA.
- 5% mRNA.

– **3% DNA:**

- Cromosomas circulares.
- Pequeños plásmidos.

– **22% Otros:**

- 41,4% Lípidos.
- 15,9% Lipopolisacárido (Sólo en Gram -).
- 11,4% Peptidoglucano (Pared celular bacteriana, en mayor concentración en Gram +).
- 11,4% Glucógeno.
- 20% Metabolitos, Vitaminas, Iones.

3 Elementos constantes en Bacteria:

- Pared Celular Bacteriana (PCB): Cubierta exterior de la membrana plasmática, responsable del mantenimiento de la morfología y presión osmótica.
- Membrana Celular lipídica.
- Citoplasma.
- Nucleoide o Cromosoma Bacteriano.
- Ribosomas esparcidos en el citoplasma. Durante crecimiento activo aumenta su concentración considerablemente.
- Plásmidos con genes aventajados selectivamente, pero no indispensables para la supervivencia de la C.

4 Elementos frecuentes en Bacteria:

- Cápsula de polisacáridos externa a la PCB.
- Flagelos bacterianos para la movilidad.
- Fimbrias y Pili para adhesión al sustrato y recombinación de material genético.
- Inclusiones: Reservas de carbono y otros nutrientes.

5 Elementos siempre ausentes en Bacteria:

- Doble membrana nuclear.
- Compartimentación intracelular (Orgánulos).
- Citoesqueleto.

I; ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DE LA CÉLULA BACTERIANA:

A/ La Cubierta de la Célula Bacteriana; Membrana Plasmática:

1 La Membrana Plasmática de Procariontes:

- Rodea y delimita la célula. En caso de Bacteria es el sistema de relación entre ser vivo y medio externo.
- Mesosomas: Se trata de invaginaciones y plegamientos de la membrana. Aumentan la superficie de intercambio con el medio. Se piensa que sirven de anclaje para los cromosomas durante la división celular.
- Existen diferencias apreciables entre las membranas de los dos grupos de procariontes:
 - Bacteria: Siempre es una Bicapa Lipídica. Es similar a Eucariontes; la unión Glicerol – 2 ácidos grasos es de tipo Ester
 - Archaea: Puede ser Bicapa o Monocapa. La unión Glicerol – 2 cadenas Isoprenoides (Lípidos derivados de Isopreno) es de tipo Eter.
- En Archaea, Fitano es un Isoprenoide frecuente. En caso de bicapa, se forma de Glicerol Dieter Bifitano. En caso de monocapa se producen enlaces entre las moléculas de Fitano, formando Glicerol Tetraeter Dibifitano.

BICAPA MONOCAPA

Enlace entre

Dibifitanos

- La monocapa lipídica de algunos miembros de Archaea proporcionan mayor resistencia para la vida en ambientes extremos, como alta T o bajo pH. Estas condiciones no pueden atacar los enlaces tetraeter monocapa.
- Los esteroides presentes en membranas de Archaea son los Hopanoides.

2 Membrana plasmática de Bacteria:

- Se trata de una Bicapa lipídica en Modelo de Mosaico fluido.
- Los esteroides presentes en membranas bacterianas son los Hopanoides.
- Presentan diversas proteínas ancladas a la membrana: Integrales y Periféricas.
 - Entre las integrales o transmembrana se encuentran transportadores de nutrientes y desechos, proteínas exportadoras a pared celular o periplasma, y proteínas sensoras de percepción del entorno.
 - Entre las periféricas se encuentran las proteínas del periplasma, las asociadas a cadenas de transporte electrónico (funciones mitocondriales), y las quinasas transductoras de señales, relacionadas con las

proteínas transmembrana sensoras.

– La membrana de la Bacteria cumple más funciones que las de las membranas plasmáticas de eucariontes pluricelulares. Al delimitar Organismo/Entorno, debe cubrir más necesidades celulares. Son descritas a continuación.

3 Permeabilidad:

– El transporte de nutrientes al interior y la eliminación de los desechos en el entorno son mediados por prot transportadoras.

– Se han descubierto las Acuoporinas, que facilitan los Intercambios por Osmosis (H₂O). No permiten el paso de sustancias grandes, ni de iones (polares).

– Difusión Simple: Moléculas que pueden atravesar la membrana. Relación lineal, depende sólo de [SINT] y [SEXT]. Caso de Canales (acuoprina) y Sistemas de Uniporte selectivo.

– Difusión facilitada: Moléculas que necesitan transportadores para atravesar la membrana. Depende de [SINT] y [SEXT], pero también de la Saturación: La velocidad del transporte se estabiliza cuando todos los transportadores están ocupados; es el nivel de saturación.

– Transporte activo: No es espontáneo, y requiere suministro energético. Se produce en contra del gradiente de concentraciones:

- Sistemas de simporte y antiporte: Transporte en contra de grad se acopla a otro a favor de grad, utilizando su energía.
- Sistema Fosfotransferasa (translocación): Se utiliza para importar azúcares al int Car. Durante el proceso. El nutriente es químicamente modificado cuando atraviesa la membrana. La energía proviene del fosfolpiruvato; éste cede su P y queda Piruvato. Una cadena de kinasas llevan P hasta el transportador y lo activan. Durante el transporte, los azúcares quedan fosforilados.

EXT INT

Glucosa Glucosa-6-fosfato

Transportador

- Transportadores ABC: Polímeros transmembrana que hidrolizan ATP como fuente de energía.

4 Obtención y Acumulación de Energía:

– Síntesis de ATP (Respiración/Fotosíntesis).

– Acumulación de Energía en forma de Gradiente Quimioosmótico de H⁺ (ATPasas transductoras de protones).

– Suministro de Energía (Movimiento Flagelar, Transporte activo transmembrana).

5 Percepción del medio:

– Recepción de Señales extracelulares: Kinasas. El dominio interno se fosforila ante llegada de la señal externa.

- Transducción de señales para provocar la respuesta celular.
- Por ejemplo, E. coli puede reconocer en el entorno si se encuentra en agua o en un intestino, debido a la diferente P osmótica.

6 Exportación de proteínas sintetizadas por ribosomas:

- Componentes del Peptidoglucano
- Proteínas periplásmicas

7 Separación de los cromosomas durante división celular:

- No hay membrana nuclear.

B/ La Cubierta de la Célula Bacteriana; Pared Celular:

1 La pared celular en procariontes:

- La mayoría de procariontes poseen una pared celular, de estructura totalmente distinta de la Vegetal, pero de funciones similares. Como excepción, las archaeas Hipertermófilas y las bacterias Micoplasmas no presentan PC.
- La C procarionte debe soportar una alta presión osmótica. Además de esto, la PC mantiene la morfología Car.
- Archaea presenta gran variedad estructural en su PC. Se forma de proteínas, glucoproteínas y polisacáridos.
- Dentro del Dominio Bacteria, se distinguen tres tipos estructurales de PC:
 - Gram –.
 - Gram +.
 - Ácido-Alcohol Resistentes.
- La PC bacteriana suele tener carga neta nula defendiendo a la bacteria ante fagocitosis.

2 La pared celular Gram –:

- En la región externa se encuentra una membrana bicapa lipídica de LPS (Lipopolisacáridos) en el exterior, y fosfolípidos en la hemimbr interna, y con proteínas ancladas.
- Entre esta mbr externa y la mbr plasmática se encuentra el Periplasma. En posición central, en el espacio periplasmático, se encuentra una cubierta de Peptidoglucano: Se considera PC propiamente dicha a esta cubierta.
- Las lipoproteínas median la unión entre la mbr externa y el peptidoglucano.

3 La pared celular Gram +:

- Se forma de un recubrimiento general, grueso, de peptidoglucano, unida a la mbr plasmática.
- Hay abundantes Ácidos Teicoicos; son polialcoholes (unidades repetidas de Glicerol–Ribitol) que actúan

como antígenos bacterianos. Los ácidos lipoteicoicos median la unión PC – mbr Car.

- Existen algunas proteínas asociadas a PC.

4 Los Peptidoglucanos:

- Se trata de largas cadenas de azúcares formadas por repeticiones del disacárido formado por N-Acetilglucosamina (NAG) y N-Acetilurámico (NAH): NAG-NAH, por uniones $\beta(1,4)$.
- El Disacárido Tetrapeptídico es la unidad básica del Peptidoglucano. Se produce la unión de un tetrapéptido en NAH del disacárido. El tetrapéptido es similar pero distinto en los dos tipos de PC:

GRAM + NAH – L-Ala – D-Glu – L-Lys – D-Ala

GRAM – NAH – L-Ala – D-Glu – H-Dap – D-Ala

- H-Dap: ácido meso diaminopimélico
- Se produce la unión lateral $\beta(1,4)$ entre los disacáridos tetrapeptídicos, formándose una larga cadena de peptidoglucano.
- Las cadenas de peptidoglucano dispuestas paralelamente pueden formar enlaces interpeptídicos, formando una malla tridimensional de peptidoglucano, resistente, que recubre toda la superficie celular.
- Las uniones interpeptídicas son distintas en cada caso:

GRAM + L-Lys – Gly(5) – D-Ala

GRAM – H-Dap – D-Ala

- La Lisozima es una defensa ante las bacterias pues rompe el tetrapéptido que conecta entre sí las cadenas de peptidoglucano.

5 La membrana externa y el Periplasma de Gram –:

- Un Lipopolisacárido (LPS) se forma de un Lípido A, con varios ácidos grasos que se sitúan en la región hidrofóbica de la mbr externa. Este lípido con propiedades antigénicas es el causante de la Fiebre; Se trata de una endotoxina (Toxina estructural de la célula bacteriana).
- El Lípido A del LPS se encuentra unido a un núcleo polisacárido, unido a su vez a un polisacárido específico que se proyecta hacia el exterior.
- Esta última cadena de sacáridos es muy variada y adquiere función de antígeno bacteriano para Gram –.
- La conexión Entorno-Periplasma es facilitada por proteínas Porina de la mbr externa. Se trata de polímeros de 3 subunidades, que forman tres canales transmembrana. Facilitan la difusión no selectiva a través de la mbr externa.
- Se encuentran también proteínas receptoras de señales específicas.

6 Biosíntesis del Peptidoglucano:

- Citoplasma: Síntesis de precursores: NAG y NAH–pentapéptido.
- Activación energética de precursores: Uridildifosfato (UDP) es un transportador que se une a los N–Acetil. Transporta los precursores selectivamente a través de Bactoprenol, prot transubr de la mbr plasmática, hasta el periplasma.
- Periplasma:
 - Polimerización: Se forma la unión $\beta(1,4)$ entre NAG y NAH formándose un Disacárido Pentapeptídico.
 - Transpeptidación: Los enlaces polipeptídicos son modificados por la enzima Transpeptidasa. Queda una cadena de repeticiones de Disacáridos Tetrapeptídicos. La energía de la transpeptidación es utilizada para la formación de las uniones peptídicas entre cadenas de Peptidoglucano. La Penicilina inhibe la Transpeptidasa.
- Autolisinas: Se encargan de cortar los Peptidoglucanos preexistentes, permitiendo la incorporación de Peptidoglucanos recién sintetizados y el crecimiento celular.
- En el caso de Cocos, se diferencian Zonas de Crecimiento: regiones específicas donde se produce la acción de autolisinas y el crecimiento de la PC.
- En las bacterias Gram +, los Peptidoglucanos son sintetizados en la región más próxima a la mbr plasmática, mientras las capas externas se van perdiendo.
- En Gram – Deben incorporarse a la PG varios productos sintetizados por la célula, como los LPS. Existen estructuras específicas que facilitan la salida de los precursores. Las más frecuente son las Uniones Bayer.
- Las Uniones Bayer: Entre hemimembrana externa plasmática y hemimembrana interna de la mbr externa.

7 Las Bacterias Acido–Alcohol Resistentes (AAR), o micobacterias:

- Grupo responsable de la tuberculosis.
- Presentan un modelo de PC distinto al de Gram + y Gram –.
- La mbr plasmática está recubierta por una capa de Peptidoglucano.
- Esta, a su vez, está recubierta por tres capa externas; de la más interna a la más externa son:
 - Glúcidos: Arabinogalactanos.
 - Glucolípidos: Lipoarabinomanano.
 - Lípidos: Ácidos micólicos (enormes lípidos). Ralentizan la entrada de nutrientes por su espesor y efecto hidrofóbico.
- Las micobacterias presentan un crecimiento muy lento, debido a su compleja PC.

8 Casos especiales:

- Los Micoplasmas: Carecen de PC y son resistentes a la penicilina. Tienen forma esférica deformable. Presentan en su mbr plasmática esteroides similares a los Eucariontes.
- Las Archaeas Termófilas o Termoplasmas viven a 80–90 °C y tampoco presentan PC. Presentan una mbr plasmática particular.

– Protoplastos: La Lisozima digiere sus Peptidoglucanos y su pared celular. Generalmente el protoplasto abandona los restos de su PC digerida, y no la necesita para mantener su presión osmótica. En algunos casos puede tener lugar la Lisis celular.

C/ El interior de la Célula Bacteriana; La Información Genética:

1 El Nucleoide:

- La célula procarionte no presenta compartimentación ni núcleo celular. El Nucleoide es una molécula circular de DNA bacteriano: Es su único cromosoma. No rodeado por mbr.
- Como excepciones, hay bacterias que presentan membrana nuclear, varios cromosomas, o cromosomas lineales.
- El Nucleoide o Cromosoma bacteriano constituye el genoma de la bacteria.
- Los Plásmidos son moléculas de DNA, que suelen ser más pequeñas. No son parte esencial del genoma bacteriano, pero suelen aportar ventajas selectivas a sus portadores. Pueden autorreplicarse.
- El cromosoma bacteriano suele encontrarse empaquetado por proteínas no Histonas. En Dominio Archaea son similares a Histonas y se produce superenrollamiento positivo.
- En Bacteria se produce Superenrollamiento Negativo del cromosoma bacteriano, mediado por enzimas Girasas (topoisomerasas), que lo estabiliza.
- Otras proteínas empaquetadoras asociadas se unen al DNA superenrollado, formando una estructura tipo estrellas, cuyos brazos reciben el nombre de Dominios.

2 Replicación del DNA:

- El Modelo de Replicación más común en Cromosomas Bacterianos es el modelo θ o semiconservativo.
- La replicación se inicia en un punto concreto Ori C del cromosoma circular, y es Bidireccional: tiene lugar en ambos sentidos simultáneamente terminando en el punto Ter C.
- Se diferencian la Cadena Líder leída de 5' a 3', y la cadena retardada en la que se forman los fragmentos de Okazaki.
- Girasas: desenrollan el DNA permitiendo su lectura y replicación, introduciendo superenrollamiento positivo.
- Helicasas: Abren la doble hélice de DNA. Algunas proteínas de unión a DNA monocatenario se unen y mantienen las cadenas separadas.
- DNA Polimerasas (I, II y III) leen y replican la información de las Bases Nitrogenadas. Reconocen y dependen de un fragmento Iniciador de DNA de su cadena molde. Tienen capacidad para reparar sus errores.
- RNA Primasas: Leen los fragmentos iniciadores formando el primosoma: Sintetizan Fragmentos Cebadores de RNA.
- DNA Polimerasa III continúa la síntesis de DNA de 5' a 3' a partir del primosoma.

- DNA Polimerasa I corta los fragmentos cebadores y los reemplaza por DNA.
- DNA Ligasa enlaza los fragmentos de DNA.
- DNA Polimerasa II tiene la función exclusiva de reparación de errores.
- Durante etapas de división, antes del fin de la síntesis de un cromosoma comienza la replicación del cromosoma hijo. Los procariontes son siempre Haploides pero pueden presentar varias copias de su cromosoma.
- Salvo algunas excepciones en Archaea, Los procariontes no suelen tener intrones en sus genes, y nunca presentan sistema mitótico o del huso.

3 Organización de los Genes y Transcripción en procariontes:

- Los genes de procariontes se encuentran organizados en Operones, o conjuntos de Genes que son transcritos todos en bloque. Un mRNA va a transportar la información de varios genes a los Ribosomas.
- Todas las proteínas correspondientes a un mismo operón están implicadas en una misma función.
- En la región de Iniciación de la Transcripción presentan un Fragmento Operador. Y antes un Centro Promotor, de reconocimiento y unión de RNA Polimerasa. (TATA box).

OPERÓN:

Centro Promotor Gen 1 Gen 3 Gen 5

Operador Gen 2 Gen 4

- El factor reconoce y se une a los Centros Promotores, activándolos, y permitiendo a RNA Polimerasa unirse al inicio del operón.
- El Operador, no siempre presente, sirve como Regulador. Algunos represores pueden unirse, inhibiendo la acción de RNA Polimerasa.
- Se habla de ADN Policistrónico, pues algunos genes se encuentran en la hebra principal, y otros en la complementaria.

4 Regulación de la Transcripción:

- Los genes inducibles (operones) sólo son sintetizados cuando se vuelven necesarios para la célula, en función de la presencia o ausencia de determinadas sustancias en el medio. Su transcripción debe ser regulada.
- La regulación tiene lugar de tres modos:
 - Mediante factores (existen distintos tipos).
 - Control Negativo: Hay represión de la transcripción. Puede ser por Represión o Inducción.
 - Control Positivo: Hay expresión de Operones.
- Control Negativo por Represión: Se forma un correpresor que indica la presencia de una sustancia que hace inútil la traducción de cierto operón. Al unirse al correpresor, el represor queda activado y se une al fragmento Operador impidiendo que avance RNA Polimerasa.

- Control Negativo por Inducción: Se forma un correpresor que indica la presencia de una sustancia que hace útil la traducción de cierto operón. Al unirse al correpresor, el represor queda inactivado y liberado del fragmento Operador al que estaba inicialmente unido, permitiendo así que avance RNA Polimerasa.
- Control Positivo: Se forma un inductor que indica que la transcripción es necesaria. Al unirse al Activador lo activa permitiendo que se una al DNA antes del Centro promotor, y facilitando la unión de RNA Polimerasa.
- Proteínas Kinasas transmembrana sensoras: Son las que detectan la presencia de ciertas sustancias del entorno que implican regulación de la información genética. Al unirse al sustrato quedan fosforiladas en su dominio externo. Se desencadena una cadena de fosforilación de Kinasas que puede terminar en la activación o inhibición de la transcripción.

D/ El interior de la Célula Bacteriana; El Citoplasma:

1 MreB; Citoesqueleto Bacteriano:

- MreB es una proteína similar a la Actina de Eucariontes, que polimeriza formando filamentos que hacen las veces de citoesqueleto bacteriano.
- Forman bandas en el interior de la membrana celular, sobretodo en Bacilos.

2 Ribosomas 70S y Traducción del mRNA a Proteínas:

- Son complejos de proteínas y rRNA de tres tipos, ligeramente inferiores a los de eucariontes. Hay dos subunidades 50S y 30S. Forman pequeños gránulos en el citoplasma bacteriano.
 - 50S: rRNA 23S y rRNA 5S.
 - 30S: rRNA 16S.
- Durante la traducción, el codón iniciador siempre codifica un aa especial que luego será eliminado; f-Met (formil metionina).
- Los polirribosomas son estructuras tipo pluma que se forman a lo largo de un mRNA cuando está siendo transcrito simultáneamente por numerosos Ribosomas.
- La Iniciación de la traducción está marcada por una secuencia de iniciación al comienzo del Operón de mRNA: Secuencia de Shine-Dalgarno. Se une primero la subunidad 30S del Ribosoma al mRNA, y luego la 50S. El proceso gasta GTP, e intervienen proteínas Factores de Iniciación.
- La Elongación es mediada por los tRNA que activan a los aa y los unen al péptido biosintetizado. tRNA pasa por el sitio A (Aceptor), P (Peptidil) y E (Salida) de la subunidad 50S. El proceso gasta GTP, e intervienen proteínas Factores de Elongación.
- La Terminación de cada gen está marcada por un Codón de terminación. Intervienen factores de Terminación. Al final del operón se forman bucles de ARN que impiden al Ribosoma que siga la traducción.
- Algunos antibióticos actúan selectivamente contra los Ribosomas 70S.
- Ciertas toxinas bacterianas inhiben la acción de factores de elongación Eucariontes, impidiendo la síntesis de proteínas.

3 Inclusiones del Citoplasma:

- Son los gránulos de mayor tamaño del citoplasma bacteriano.
- Suelen ser acúmulos de sustancias de reserva, que se forman ante la abundante presencia de un elemento nutritivo en el medio.
 - Carbono: Nunca se almacena en forma de lípidos. Suele ser Gucógeno o PHB (Poli- δ -Hidroxibutirato)
 - Fósforo: Polifosfatos
 - Azufre: Es acumulado en bacterias que necesitan azufre como fuente de E o poder reductor.
- Estas inclusiones pueden estar rodeadas por capas de lípidos (no membrana) o proteínas.
- Otras inclusiones concretas:
 - Carboxisomas: Cristalizaciones de Enzima Rubisco en bacterias autótrofas.
 - Vesículas de gas: En bacterias acuáticas, son impermeables y regulan la flotación. Al tomar o expulsar gas permiten a la bacteria situarse a la profundidad óptima. Se forman de aire y dos tipos de proteínas: GVP-A (Dan volumen a la vesícula) y GVP-C (estabilizan a GVP-A).
 - Magnetosomas: Se encuentran en algunos organismos marinos que viven entre los sedimentos. Se trata de acúmulos de Magnetita (Fe_3O_4).
- Fototactismo: Algunas bacterias utilizan las vesículas de gas para situarse a la profundidad donde reciben la δ de luz que puede serles útil.
- Magnetotaxis: Los magnetosomas permiten a las bacterias detectar el campo magnético terrestre para determinar su desplazamiento entre los sedimentos marinos.

E/ Estructuras y Apéndices externos de la Célula Bacteriana:

1 El Glicocalix:

- Se trata de una cubierta externa y bastante impermeable presente en muchas bacterias.
- Su espesor es variable y se forma fundamentalmente de Glucoproteínas y Polisacáridos, pero puede variar en función de la especie y los nutrientes presentes en el medio.
- Se encuentran dos tipos distinguibles de Glucocaliz:
 - Cápsula: Estructura rígida y definida.
 - Capa Mucosa: Flexible y amorfa.
- Una de sus principales funciones es la de adherencia entre integrantes de Colonias y acumulación de nutrientes y agua evitando desecación, por la formación de Biopelículas o Biofilms, que proporcionan además adherencia a, por ejemplo, las rocas de los ríos.
- Otra importante función es la protección de la célula ante bactericidas o fagocitosis, proporcionando mayor resistencia en hospedadores. Cuanto más espesa es la cápsula, más dificulta la fagocitosis
- A menudo, en una misma especie, la cepa virulenta es aquella con mayor espesor de cápsula (Ejemplo: *Bacillus anthracis*).

2 Fimbria y Pili:

- Fimbria son apéndices cortos y numerosos en la cubierta bacteriana. Sus funciones no son bien conocidas, pero entre ellas está probablemente la de adhesión a tejidos de hospedadores.
- La Proteína Adhesina de las Fimbrias es fundamental en bacterias patógenas.
- Algunas Fimbrias especialmente reciben el nombre de Pili.
- Pili Sexuales o Conjugativos, muy largos y escasos, permiten la conjugación genética entre dos bacterias de la misma especie. Las bacterias son capaces de transferirse copias de Plásmidos a través del Pili.
- Durante la conjugación, se da el nombre F⁺ a la célula donante, y F⁻ a la receptora.
- Otros Pili están también relacionados con la adhesión de bacterias patógenas a los tejidos.
- Fimbria (y Pili) presentan receptores para el anclaje de Fagos.

3 Apéndices implicados en la movilidad bacteriana: Los Flagelos Bacterianos:

- Los Flagelos son apéndices mucho más grandes que Fimbria. Son largos y finos, y están unidos a la célula por un extremo. Son distintos a los flagelos de Eucariontes.
- Existen varios tipos de Flagelación en función de la disposición de los flagelos:
 - Monotrica: 1 flagelo en disposición polar.
 - Lofotrica: Dos penachos de flagelos en polos opuestos celulares.
 - Peritrica: Flagelos dispuestos sobre toda la superficie celular.
- El Flagelo se forma de un Filamento, un Gancho, y una base anclada a la membrana celular.
- El Filamento es una estructura helicoidal, con longitud de onda constante para una misma especie. El movimiento se basa en la rotación del filamento sobre sí mismo a modo de hélice de barco.
- La Base, anclada a la membrana, es responsable de la rotación del filamento. Se forma por un eje central y un sistema de anillos transversales (4 en Gram ⁻; 2 en Gram ⁺). Incluyen además proteínas Fli entre el 1er y 2do anillo, y proteínas Mot externas a los anillos.
- En Gram ⁻, los dos primeros anillos (S, M) se encuentran anclados a la membrana plasmática de la bacteria, con las proteínas Mot y Fli. El tercer anillo (P) se encuentra a la altura de la capa de Peptidoglucano. El último anillo (L) se encuentra a la altura de la membrana externa.
- Las Proteínas Mot permiten la entrada de H⁺ al interior celular. De tal manera logran aprovechar el gradiente quimioosmótico como energía para el movimiento.
- Las Proteínas Fli son las conmutadoras del motor: Se encargan de transformar esa energía en el giro de los anillos S, M, asegurando la rotación del flagelo. Determina si el giro es Horario o Antihorario.
- El Gancho es una estructura formada por un único tipo de proteína, que une el Eje de la Base con el Filamento del Flagelo. Esta ligeramente curvado, de acuerdo con la forma helicoidal del Filamento.
- El Filamento está formado de proteína Flagelina. Es helicoidal, y tiene una δ específica para cada especie en

función del tipo de flagelina. Se encarga de transformar la energía de rotación de los anillos en movimiento celular.

4 Endoflagelos:

- Son Flagelos Internos especiales de Espiroquetas.
- Se trata de Filamentos Axiales responsables de la morfogénesis y movimientos específicos de este tipo de Bacteria.

E/ Movilidad Bacteriana:

1 Tipos de Movilidad:

- La movilidad bacteriana puede ser de tres tipos:
 - Por Vesícula de Gas (medio acuoso).
 - Flagelar (medio acuoso).
 - Deslizante (sobre sólidos).
- Suelen orientar sus movimientos en función de su percepción sensorial, en busca de nutrientes o evitando sustancias tóxicas.

2 Movilidad Flagelar:

- En Función del Giro de Fli, el movimiento es CW (Horario) o CCW (Antihorario).
- Las Bacterias Monotricas pueden nadar, parar y cambiar de dirección. Cuando giran CCW nadan hacia delante. Cuando giran CW van marcha atrás.
- Las bacterias Peritricas tienen un modo de nado más complejo. Se produce una alternancia en el tiempo entre CCW/CW que se traduce en una alternancia Carrera/Voltereta.
 - CCW: Carrera; la bacteria nada en línea recta. Hay Enlazamiento de los flagelos: Todos se disponen paralelamente.
 - CW: Voltereta o Giro; la bacteria cambia aleatoriamente la dirección de nado. Los flagelos se separan y empujan en direcciones contrarias.

3 Quimiotaxis; Percepción Sensorial relacionada con Movimiento Flagelar:

- La Quimiotaxis es la capacidad de percepción de Nutrientes y Repelentes Químicos en el entorno. No se trata simplemente de la percepción de presencia o ausencia de sustancias, sino de su gradiente de concentraciones.
- Gracias a la Quimiotaxis las bacterias pueden nadar a favor de grad de nutrientes o en contra de grad de repelentes.
- Cuando no se detecta gradiente, Carrera/Voltereta se alternan aleatoriamente. Al detectarse un gradiente, las volteretas se hacen menos frecuentes cuando la carrera se produce en la dirección deseada por la bacteria, por ejemplo, huyendo de sustancias tóxicas.
- A pesar de detectar grad, poseen unicamente un tipo de receptor para la sustancia. La célula toma muestras

del medio cada poco tiempo, varias durante una carrera, pudiendo evaluar si la concentración ha aumentado o disminuido, hasta que alcanza la saturación de los receptores. Se comparan resultados en el tiempo, no en el espacio.

- Receptores de Metilo: Son un grupo de receptores de Quimiotaxis. Al unirse la sustancia analizada, el dominio interno del R se metila produciéndose la transducción.
- Proteínas Che: Relacionadas con cascadas metabólicas, regulan la movilidad flagelar bacteriana. Son activadas cuando al ser fosforiladas.
- CheY – P actúa sobre Fli estimulando la rotación CCW. En su presencia aumenta la longitud de la Carrera, o disminuye la frecuencia de Volteretas. Cuando CheY no tiene P, aumenta la frecuencia de Volteretas.

Bacterias Flageladas

Capilar con Nutrientes

Capilar con Repelentes

- Durante la división celular de las Bacterias Flageladas, la síntesis de los Flagelos es muy compleja, e implica varias decenas de genes.
- Se sintetizan, por este orden Eje y Anillos profundos, Mot y Fli, Anillos externos, Garfio, Filamento.
- Durante la síntesis del Filamento, Flagelina es Biosintetizada en el Citosol y sale a través del eje central, que es un Tubo Hueco, pudiendo así alcanzar con relativa facilidad el extremo terminal del Filamento para ensamblarse ahí.
- Si se produce una rotura del Flagelo, Puede regenerarse por el mismo proceso.

4 Movilidad Deslizante:

- Es, al igual que la Flagelar, uno de los tipos de movilidad más frecuentes. Sin embargo, está menos estudiado este último proceso.
- Se trata de un movimiento más lento, similar al arrastre, que precisa de una superficie sólida.
- En Gram –, se sitúan, en contacto al nivel del peptidoglucano, dos tipos de proteínas: Uno de ellos en la membrana plasmática, el otro en la externa.
- Por rotación, las proteínas internas desplazan a las externas, que a su vez se anclan al medio sólido.

Mbr Plasmática

Proteína Interna

Peptidoglucano

Proteína Externa

Mbr Externa

Movimiento Bacteriano

F/ Ciclos Celulares de las Bacterias:

1 La División Celular en Bacteria:

- El tipo de división más común es la Fisión Binaria, aunque en algunos casos se producen divisiones asimétricas, como gemación o crecimiento polar.
- La Fisión Binaria de las Bacterias suele tener lugar en tres pasos básicos:
 - Replicación del Cromosoma.
 - Síntesis de nuevo material:
 - De la Cubierta celular (mbr, PC).
 - Ribosomas en Inclusiones.
 - Plásmidos.
 - Flagelos.
 - Enzimas y Metabolitos.
 - Formación del Divisoma, y del Septo, generalmente transversal, y separación de las células. El Divisoma de las Bacterias adquiere la funcionalidad de Citocinesis. También se forma en Mitocondrias y Cloroplastos. Intervienen diversas proteínas:
 - Fts Z: Se encuentran dispersas en el citoplasma durante crecimiento activo. Es de estructura similar a la Tubulina de Eucariontes. Durante la división se dispone formando un anillo a nivel del septo, en la cara interna de la membrana plasmática.
 - Otras proteínas son responsables de la síntesis de Peptidoglucano y mbr plasmática.
- Una vez formado el Divisoma, el anillo contractil de Fts Z sufre una constricción que lleva a la separación física de ambas células.
- Una mutación en Fts Z puede conllevar la aparición de minicélulas: Normalmente Fts Z encuentra justo el medio de la Célula para formar el anillo.
- Algunas Bacterias tienen varios cromosomas: Deben ser repartidos equitativamente. Sin embargo, las bacterias no tienen aparato mitótico y se desconoce la naturaleza del proceso.

2 Procesos de Diferenciación Celular: Las Endosporas:

- Se trata de los procesos mediante los cuales se produce la formación de tipos celulares morfológica y fisiológicamente distintos al tipo celular más frecuente.
- Las Endosporas son formas de resistencia bacterianas, frecuentes en Gram + del suelo, como el género *Bacillus*. Se forman y maduran en el interior de la célula, y posteriormente son liberadas al entorno. Se forma exclusivamente una por célula.
- La Endospora contiene la información genética de la célula, y al germinar dará lugar a un nuevo cuerpo vegetativo, con capacidad de división por Fisión Binaria. Sin embargo, los genes que se expresan en la endospora son distintos que en el cuerpo vegetativo.
- Se diferencian las Esporas No Deformantes, más pequeñas que la célula que las contiene, de las Esporas

Deformantes, de mayor tamaño que el cuerpo vegetativo bacteriano.

– *Clostridium*: Género causante del Tétanos, son anaeróbios estrictos. Las formas esporuladas pueden soportar, sin embargo, la presencia de oxígeno.

– Las Endosporas son, de hecho, la forma de resistencia biológica más inalterable conocida hasta la fecha:

- Termorresistencia: Soporta hasta 100 °C (Asepsia: 20", 120 °C).
- Resistencia a Rayos UV.
- Resistencia a compuestos químicos tóxicos.
- Resistencia a la desecación.
- Resistencia a condiciones adversas durante muchos años, incluso siglos.

– Los motivos de su alta resistencia también son varios:

- Son metabólicamente inertes. Germinan sólo en medios adecuados.
- Son impermeables. Para su tinción se precisa de técnicas especiales a altas T.
- Presentan alto nivel de deshidratación en el citosol
- Poseen proteínas protectoras contra radiaciones en el citosol: SASP. Sirven como fuente de carbono durante la germinación.

– Además de deshidratación y proteínas SASP, en el citosol de pH especialmente ácido se encuentra un compuesto característico que es acumulado: Ácido Dipicolínico. Se asocia a Ca^{2+} .

Citosol