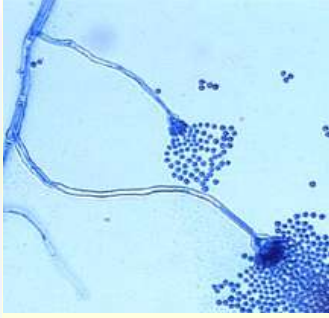




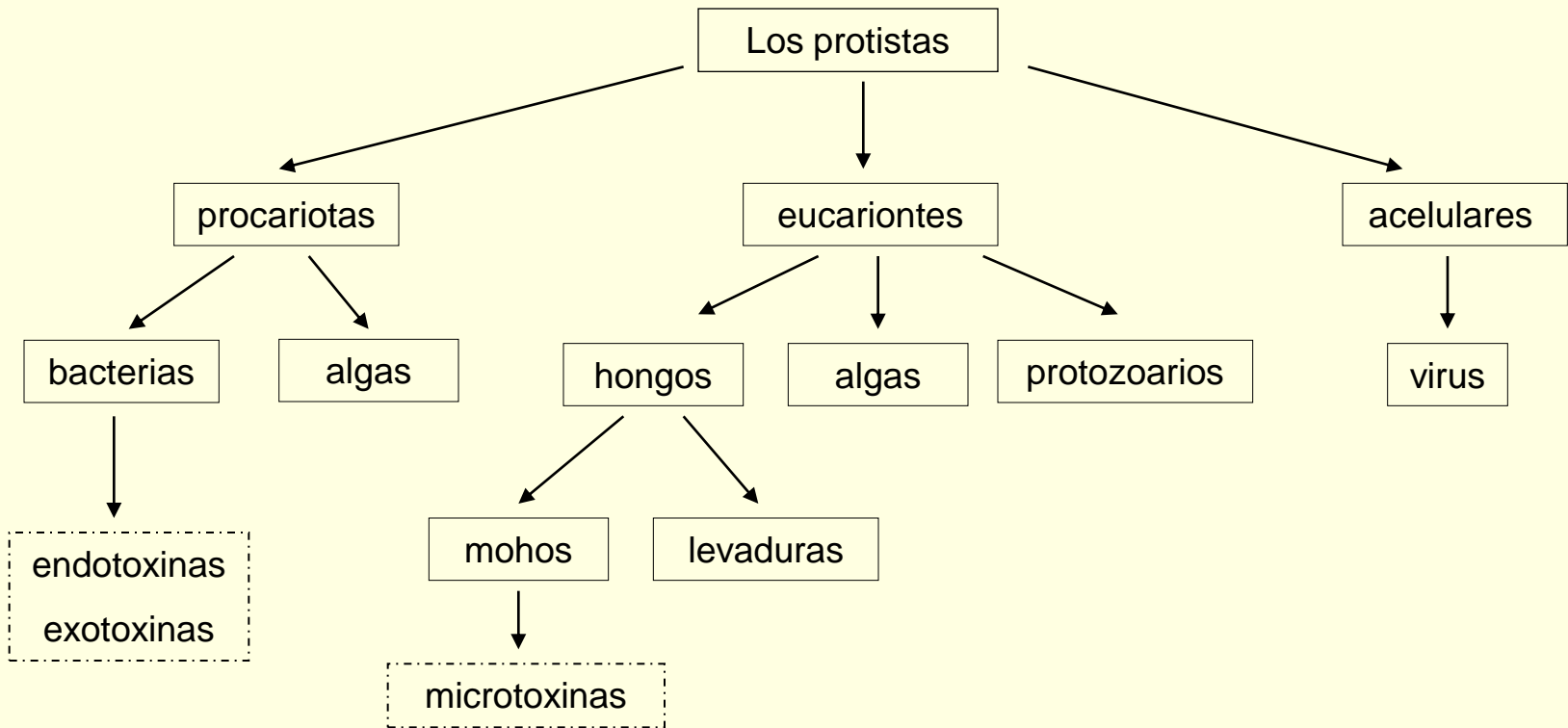
El fascinante universo de los microorganismos



Ecominga

Wanda Smoragiewicz, PhD
Université du Québec à Montréal
Departamento de ciencias biológicas

Los microorganismos

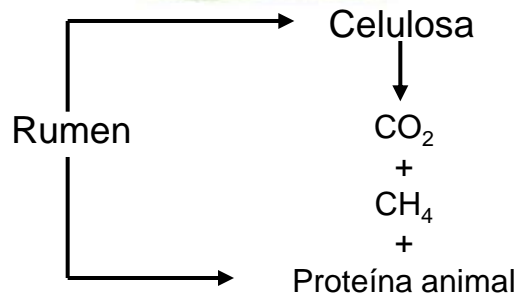


Agricultura

Fijación N_2 ($N_2 \rightarrow 2NH_3$)
Ciclo de los nutrientes, reciclaje



Producción animal



Enfermedades

Identificación de nuevas enfermedades




Tratamientos, cuidados y prevención



Energía / medio ambiente

Biocarburantes (CH_4 )

maíz $\xrightarrow{\text{Fermentación}}$ etanol 

Biorremediación (petróleo, contaminantes orgánicos) $\xrightarrow{O_2}$ CO_2

Transformación de productos mineros por los microorganismos ($CuS \rightarrow Cu^{2+} \rightarrow Cu^0$)

Alimentos

Conservación de los alimentos (calor, frío, radiación, conservantes químicos)

Alimentos fermentados



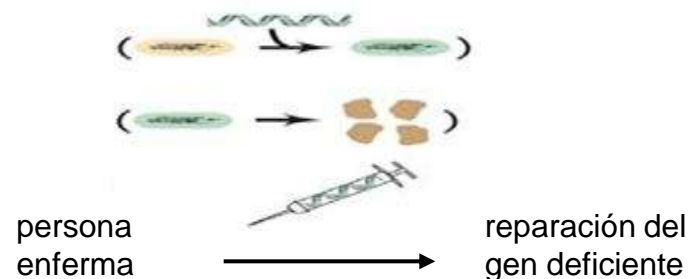
Aditivos alimentarios (sodio, glutamato, ácido cítrico, levadura)

Biología

Organismos genéticamente modificados

Productos farmacéuticos (insulina y otras proteínas humanas)

Terapia génica para ciertas enfermedades



El papel de los microbios en la fabricación de los alimentos

- los yogures (*Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*)
- los quesos (*Lactococcus lactis*, *L. cremoris*, *Propionobacterium*, *Penicillium camemberti*, *P. roquerforti*, etc.),
- los salchichones, los jamones y los pescados fermentados (*Bacillus halophiles*),
- el vino, la cerveza y las diversas bebidas fermentadas alcoholizadas (*Saccharomyces*, *Botrytis cinerea*),
- los vinagres (*Acetobacter*), los panes (*Saccharomyces*, *Lactobacillus*)
- el chucrut (*Leuconostoc mesenteroides*, *Leucobacillus plantarum*),
- los productos de ensilado para los animales (diversas especies anaeróbicas)

La conservación de los alimentos

- Los métodos de conservación de los alimentos apuntan a eliminar completamente
 - les microorganismos patógenos
 - les microorganismos que echan a perder
- Los métodos antiguos disminuían la disponibilidad en agua de los alimentos para los microorganismos :
 - el secado
 - la salazón
 - el endulzado (mermeladas)

Las nuevas técnicas de conservación de los alimentos

- La refrigeración (+5°C) y la congelación (- 18°C) permiten una conservación de mayor duración al inhibir el desarrollo de los microorganismos
 - el frío no mata los microorganismos
 - las bacterias psicrófilas pueden desarrollarse y alterar los alimentos incluso dentro de los refrigeradores
- La aplicación de altas temperaturas mata:
 - las formas vegetativas de los microorganismos
 - las esporas bacterianas

La deterioración de los alimentos

Varios microorganismos, en cuanto se desarrollan en productos frescos, causan su alteración y los hacen impropios al consumo



John M. Martinko et Cheryl Broadie

La sensibilidad de los alimentos a las deterioraciones microbianas

- Los factores que influyen en su sensibilidad a las deterioraciones
 - el contenido en agua, en azúcares y en grasas
 - el pH
 - el potencial de oxidorreducción
 - la estructura física (alimentos líquidos, carnes molidas)
- Los huevos se conservan bastante tiempo protegidos
 - por su cáscara
 - la lisozima que contienen

El crecimiento bacteriano

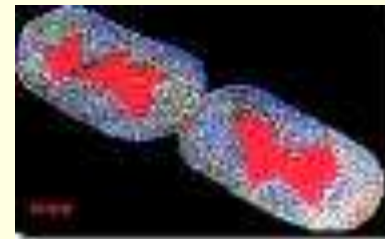
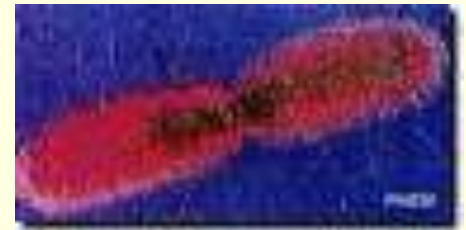
- Multiplicación por crecimiento seguida de división celular :

⇒ copias idénticas

- Velocidad de crecimiento :

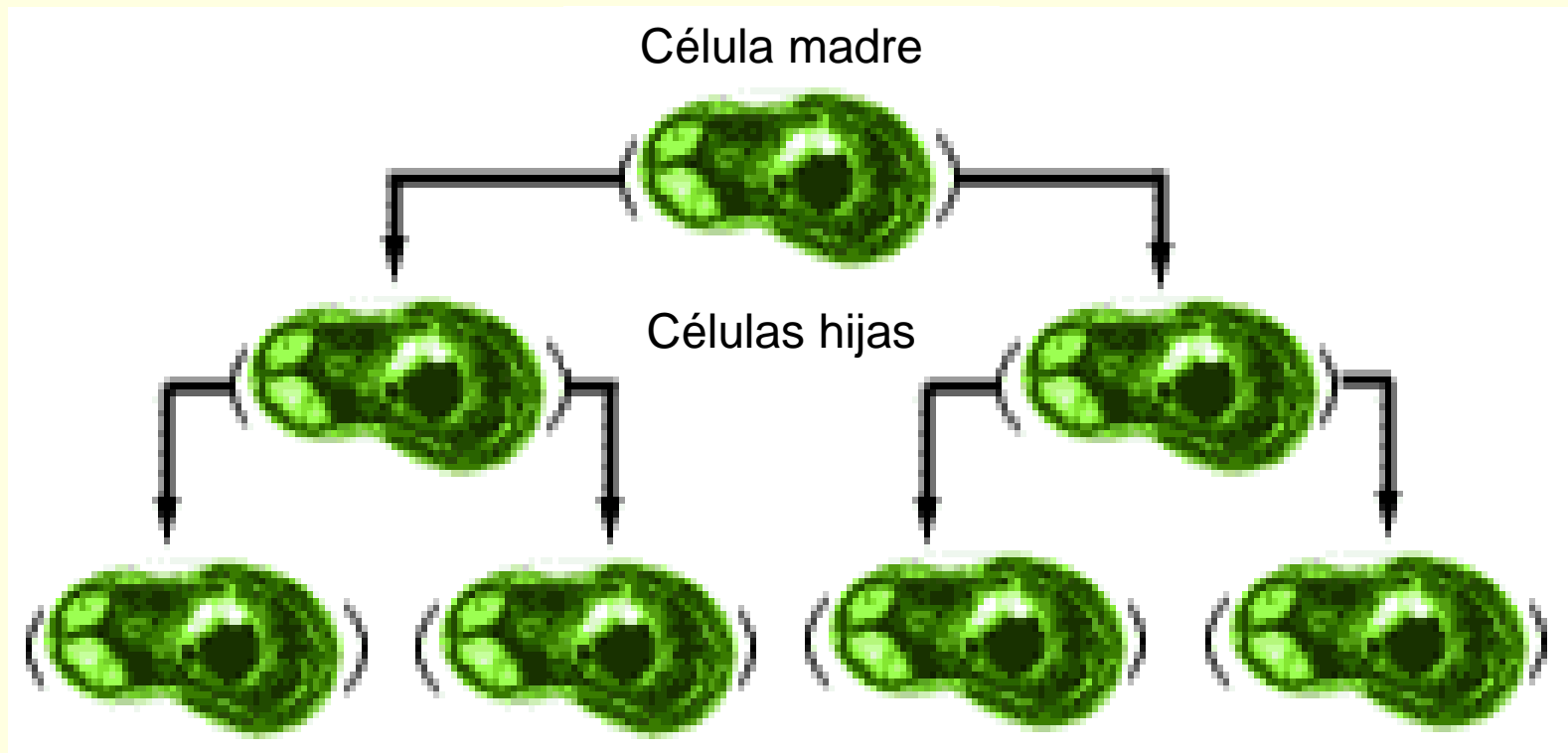
- Rápida

- *Escherichia coli* 1 x 20 mn

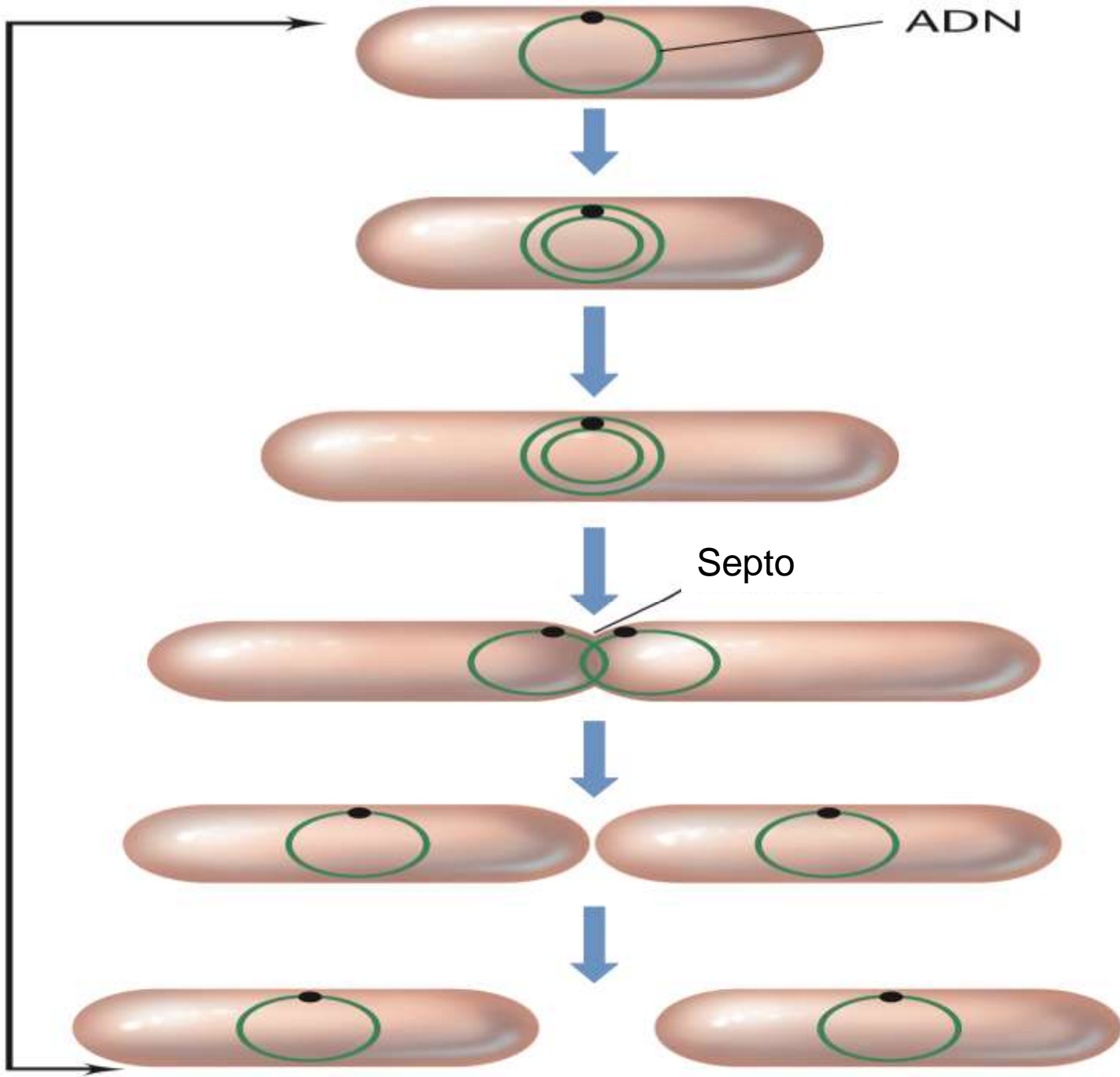


La proliferación de las bacterias

en condiciones favorables de crecimiento, una bacteria puede generar una descendencia de mil millones de individuos en 10 horas....



Una generación



ADN

Replicación del ADN

Elongación celular

Formación del septo

Finalización de la división (septo) y formación de células distintas

Separación de las células

Septo

Las toxinas alimentarias

- A veces, el desarrollo de microorganismos sobre los alimentos no se detecta ni visualmente, ni en el gusto
 - los alimentos pueden en esos casos ser peligrosos
- Ciertos microorganismos liberan toxinas:
 - la toxina botulínica
 - la toxina estafilocócica
 - la ergotamina (*Claviceps purpurea*)
 - las aflatoxinas cancerígenas (*Aspergillus flavus*)

Las toxiinfecciones alimentarias colectivas (TIAC)

- *Staphylococcus aureus* (portadores humanos, piel y heridas infectadas)
 - *Salmonella sp.* (portadores humanos y animales, intestinos)
 - *Shigella sp.* (tubo digestivo del humano)
 - *Bacillus cereus* (bacteria saprofita del agua, del suelo, de los vegetales)
 - *Clostridium perfringens* (bacteria telúrica, tubo digestivo del humano y de los animales)
 - *Clostridium botulinum* (bacteria telúrica)
 - *Yersinia enterocolitica* (microflora del humano y de los animales)
 - *Campylobacter jejuni* (tubo digestivo del humano)
 - *Vibrio parahaemolyticus* (tubo digestivo de los peces y los moluscos con conchas)
 - *Escherichia coli* ETEC (tubo digestivo de los animales)
 - *Vibrio cholerae* (moluscos con conchas)
 - *Listeria monocytogenes* (bacteria telúrica y sobre los vegetales)
-
- Agentes patógenos virales, protistas, levaduras y mohos

Los controles microbiológicos

- Los controles microbiológicos se hacen regularmente:
 - sobre las superficies para controlar la eficacia de la limpieza
 - sobre los productos
- Se buscan y se cuentan:
 - la flora aeróbica mesófila, responsable de la alteración de los productos
 - los gérmenes testigos de contaminación fecal
 - los gérmenes patógenos (estafilococos, salmonelas y anaerobios sulfito-reductores)

Los controles microbiológicos

- Los gérmenes testigos de contaminación fecal son gérmenes banales
 - su medio de vida es el intestino de los animales y de los humanos.
 - su presencia en un medio diferente indica que ese medio ha sido contaminado por deyecciones fecales
- Las principales especies buscadas son:
 - los coliformes fecales
 - *Escherichia coli*
 - *Clostridium* sulfito-reductores
 - los estreptococos fecales
 - de paso, algunas otras especies

Les bacterias: parte integral del cuerpo humano

Boca : 10^8 /ml

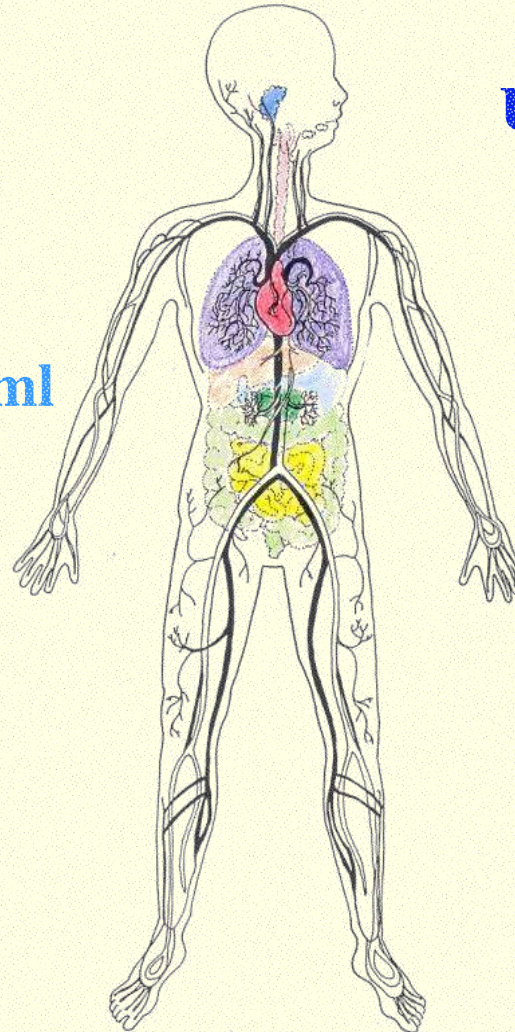
Estómago : 10^1 - 10^2 /ml

Duodeno : 10^2 - 10^4 /ml

Int. delgado : 10^7 – 10^8 /ml

Colon : 10^{11} /g

Piel : 10^2 - 10^5 /cm²



Un ser humano =

10^{13} células

10^{14} microorganismos

Uréter : 10^3 /ml

Vagina : 10^9 /ml

Les bacterias amigas

- Una carencia de bacterias amigas puede causar un buen número de enfermedades
- Repoblar la flora intestinal es vital para:
 - vencer la diarrea y otros trastornos intestinales
 - aliviar la intolerancia a la lactosa
 -

Los tres mosqueteros

- Existen numerosas especies de bacterias amigas, de las cuales estas son mis tres preferidas:
 - El *Lactobacillus acidophilus*
 - Los *Bifidobacterium*
 - El *Lactobacillus bulgaricus*
- Estudiadas de manera más profunda que las otras, esas tres bacterias parecen estar asociadas a la mayoría de los beneficios de salud.

Lactobacillus acidophilus

- Impide el crecimiento de la levadura *Candida albicans*, de la bacteria *E. coli* y de otros gérmenes nocivos
- Al ayudar el organismo a fabricar interferón, sostiene también las funciones inmunitarias
- Se ubica principalmente en el intestino delgado
- Es parte de la flora protectora de la vagina, donde es capital para prevenir la infección por levaduras

Bifidobactérium

- El elemento más importante de la flora intestinal del intestino grueso
- Protección contra numerosas bacterias que pueden causar la diarrea del turista o del viajero
- La bacteria contribuye a:
 - disminuir el nivel de colesterol
 - prevenir las intoxicaciones alimentarias
 - digerir la lactosa
 - fabricar numerosas vitaminas del grupo B
 - combatir la intolerancia a la lactosa

Lactobacillus bulgaricus

- Esta bacteria puede estimular el sistema inmunitario de manera más eficaz que el *L. acidophilus*
- La mayoría de los nutrimentos entran a la circulación sanguínea por el intestino delgado, órgano de unos seis metros de largo y enrollado sobre sí mismo, que dispone de una superficie de absorción del tamaño de un terreno de tenis.
- Los alimentos son asimilados correctamente en ese lugar únicamente si han sido descompuestos por las enzimas pancreáticas
- Flatulencias o gases alrededor de una hora después de la comida pueden ser un signo de una carencia de esas sustancias

Los fructooligosacáridos (FOS)

- Los FOS no son absorbidos por el organismo
 - alimentan la flora intestinal
- Consumir esta sustancia favorece el crecimiento y la multiplicación de nuestras bacterias amigas
- El término aplicado a estas sustancias es « prebiótico»
- Los FOS están naturalmente presentes en numerosas frutas y verduras
 - las bananas, la cebada, los tomates, los espárragos, el ajo

Las bacterias: indispensables para la supervivencia

- Pueden ser
 - buenas
 - nefastas

- El tratamiento más eficaz contra las infecciones bacterianas: los antibióticos

Los antibióticos

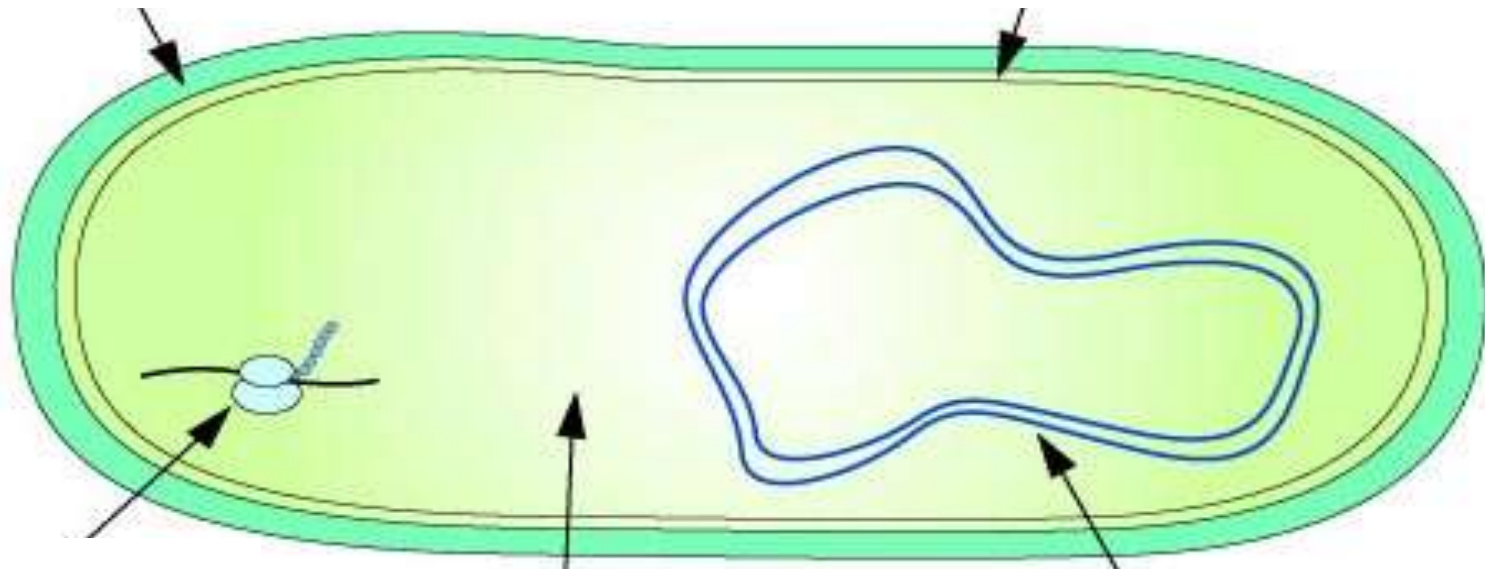
- ❑ Compuestos que impiden el crecimiento o una función vital de la célula bacteriana.

- ❑ Origen :
 - ❑ Sustancias naturales
 - ❑ Sustancias de síntesis

El mecanismo de acción de los antibióticos

① Inhibición de la síntesis de la pared bacteriana

② Inhibición de la síntesis de la membrana citoplasmática



③ Inhibición de la síntesis proteica

④ Inhibición de la síntesis del ADN

⑤ Otros mecanismos

Aminoglucósidos
Tetraciclinas
Macrólidos
Cloramfenicol
Lincosaminas
Streptograminas

Bloqueo de la síntesis de las proteínas

Bloqueo de la síntesis de la pared

Betalactaminas
Glucopéptido
Cicloserina
Bacitracina



Bloqueo de los intercambios celulares asegurados por la membrana plasmática

Polimixinas

Quinolonas
Metronidazol

Bloqueo de la replicación y de la transcripción

Bloqueo de las reacciones metabólicas

Metabolismo del ácido fólico
Sulfamidas
Sulfonas
Trimetoprima

La supervivencia de los microorganismos en el ambiente

■ Rotavirus

- 1 à 10 días sobre las superficies, varios días sobre las manos

■ Virus influenza (gripe)

- hasta 12 horas en superficies suaves
24 a 48 horas en superficies lisas

■ Virus respiratorio

- hasta 6 horas en superficies y ropas, 30 minutos a 1 hora sobre las manos

■ Staphylococcus aureus

- varias semanas en superficies secas

■ Pseudomonas aeruginosa

- 1 semana en superficies húmedas

Las bacterias han logrado adaptarse

- Gérmenes resistentes a varios tratamientos anti-infecciosos
- Esa resistencia puede ser
 - natural (son resistentes a esos antibióticos)
 - adquirida (se convierten)

Historial

- Emergencia de la **resistencia del Estafilococo dorado a la penicilina** (#1943) y a la **meticilina** (#1962)
- **Multirresistencia** a los antibióticos de los **bacilos Gram negativos** a partir de 1985
- Aparición de **enterococos resistentes a la vancomicina** (ERV) en 1989

Les bacterias resistentes a los antibióticos

Puesta en mercado

- Penicilina (1942)
- Meticilina (1961)
- Ampicilina (1962)
- Cefalosporina (1980)

Descubrimiento de la resistencia

- Estafilococo dorado (1943)
- Estafilococo dorado (1962)
- Enterobacterias (1964)
- Enterobacterias (1981)

Los mecanismos de resistencia

Existe un relación muy estrecha entre el consumo de antibióticos y la resistencia

Los mecanismos de resistencia

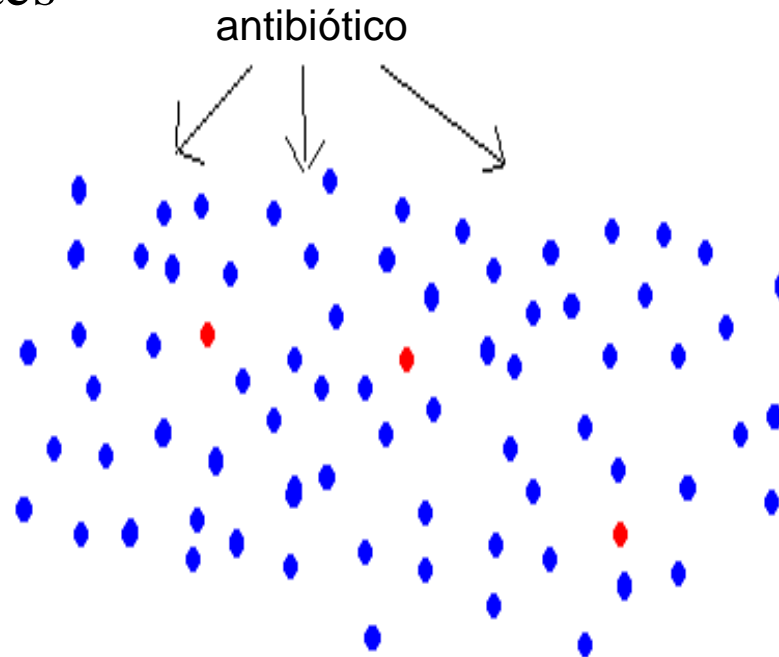
Un médico prescribe un antibiótico, más bien de espectro amplio - activo frente a muchos gérmenes



Los mecanismos de resistencia

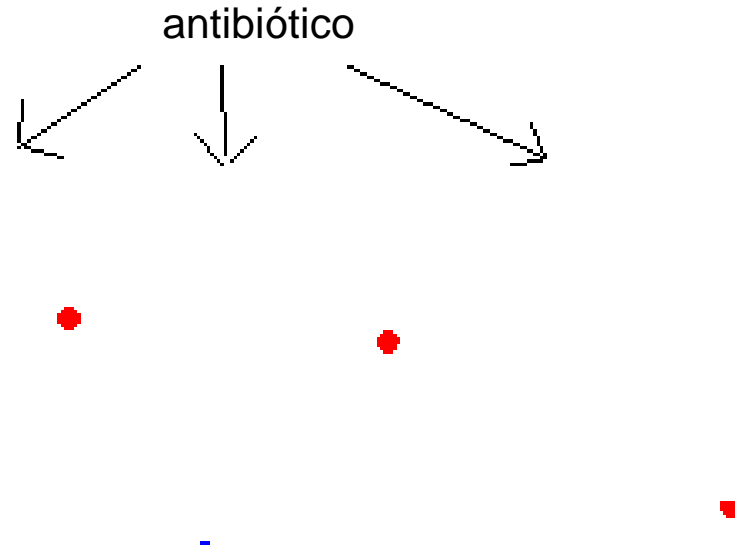
1^{era} etapa : bacterias azules (sensibles al antibiótico), muy mayoritarias, y algunas raras bacterias rojas, de la misma especie que las azules, pero multirresistentes

Las condiciones ecológicas habituales de esas bacterias prohíben a las rojas ser dominantes



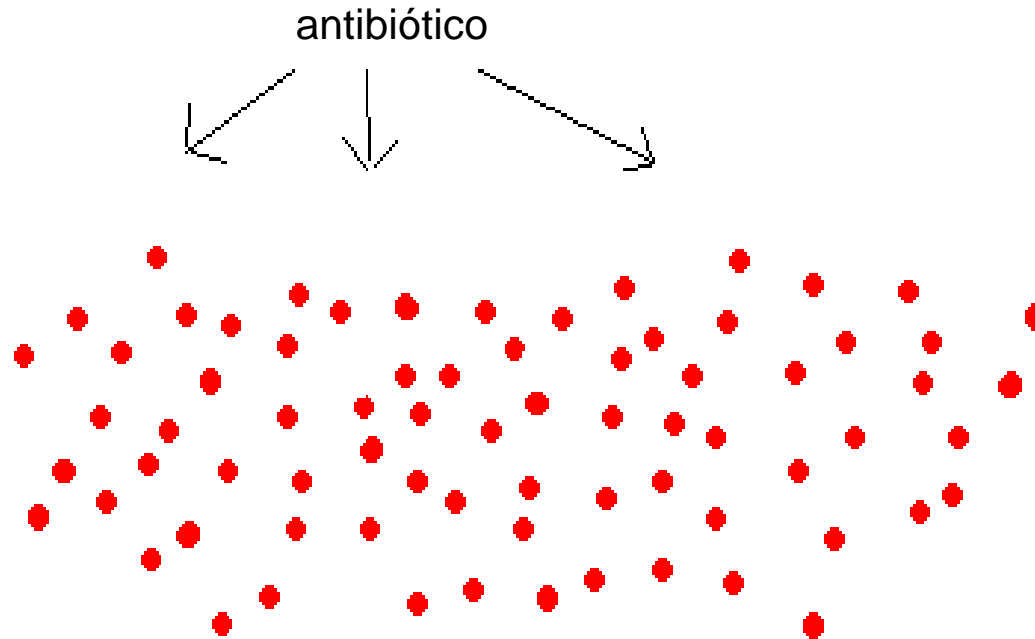
Los mecanismos de resistencia

2^{da} etapa : el antibiótico mata todas las bacterias sensibles pero no mata las bacterias resistentes



Los mecanismos de resistencia

3^{ra} etapa : las bacterias resistentes se desarrollan y se vuelven dominantes



Los mecanismos de resistencia

- Hemos creado una reserva de BMR (**bacterias multirresistentes**) en el tubo digestivo de un enfermo al tratar una infección localizada en otro lugar.
- El paciente puede no presentar ningún signo de ser portador de esta BMR, que podría eventualmente ser transmitida a otros pacientes.

Importancia del problema BMR

- Las infecciones nosocomiales por BMR representan alrededor de 10% a 20 % de las infecciones nosocomiales.
- Alta prevalencia de portadores asintomáticos (**¡ningún signo clínico!**).

Las bacterias multirresistentes

- Las principales BMR :
 - ↪ Estafilococo dorado resistente a la meticilina (SARM).
 - ↪ Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE).
 - ↪ Acinetobacter spp.
 - ↪ Pseudomonas aeruginosa (piociánico) resistentes a la ceftazidima.
 - ↪ Enterococos resistentes a vancomicina (ERV).

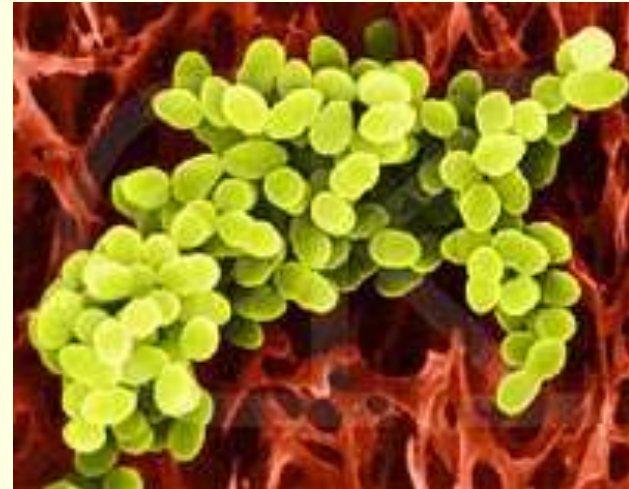
BMR : un problema de salud pública

***EL PROBLEMA NO ESTÁ SOLAMENTE
EN LA INFECCIÓN SINO SOBRE TODO
EN LA DIFUSIÓN DE ESTA RESISTENCIA***

- no ha sido demostrado que las BMR son más virulentas que las bacterias no resistentes de la misma especie.

Ejemplos de colonizaciones por BMR

- Zonas portadoras del Estafilococo dorado resistente a la meticilina (SARM) :
 - Nariz
 - Piel (axilas, ingles)
 - Heridas crónicas



Ejemplos de colonizaciones por BMR

- Zonas portadoras de Enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación:
 - Tubo digestivo



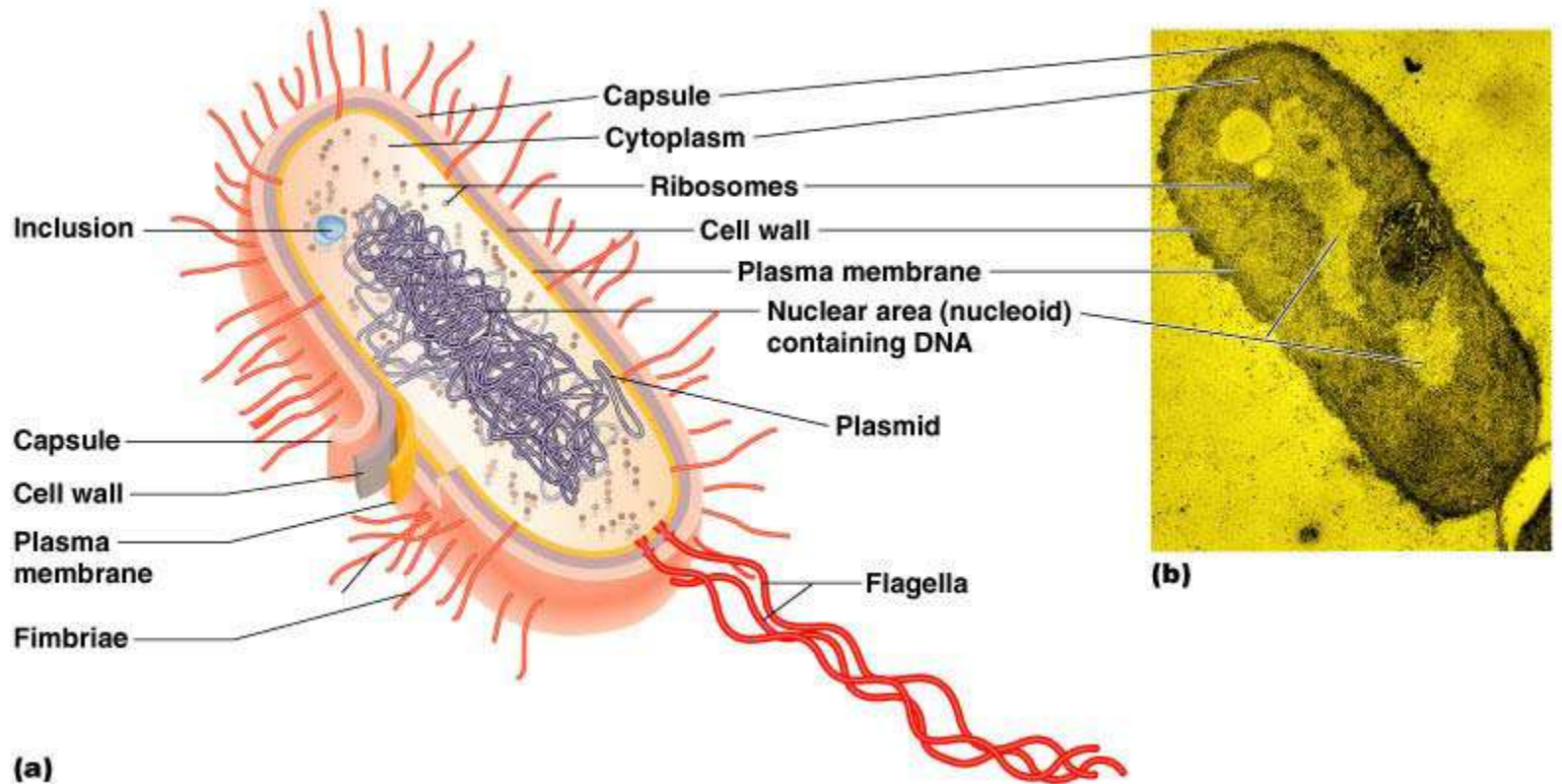
La adquisición de resistencia en la bacteria

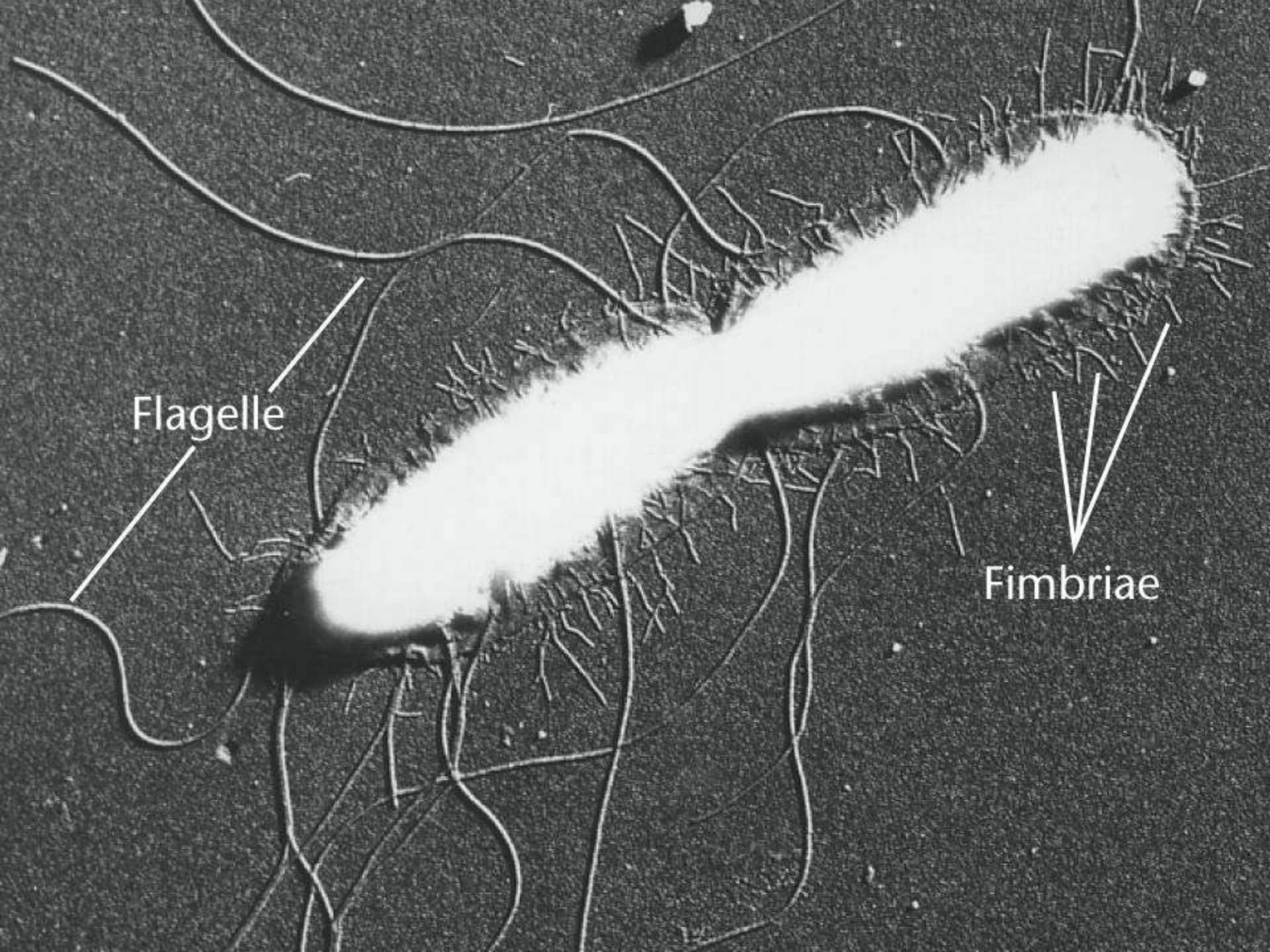
Adquisición de un gen de resistencia:
paso de un gen de resistencia de una bacteria resistente a una bacteria sensible que va a hacerse resistente

La adquisición de resistencia en la bacteria

- Deriva de una modificación genética de las bacterias
 - plásmidos (extracromosómicas)
 - cromosómicas
- La resistencia cromosómica es la menos corriente (menos de 10%)
 - no es provocada por la exposición de las bacterias a los antibióticos.

Las bacterias



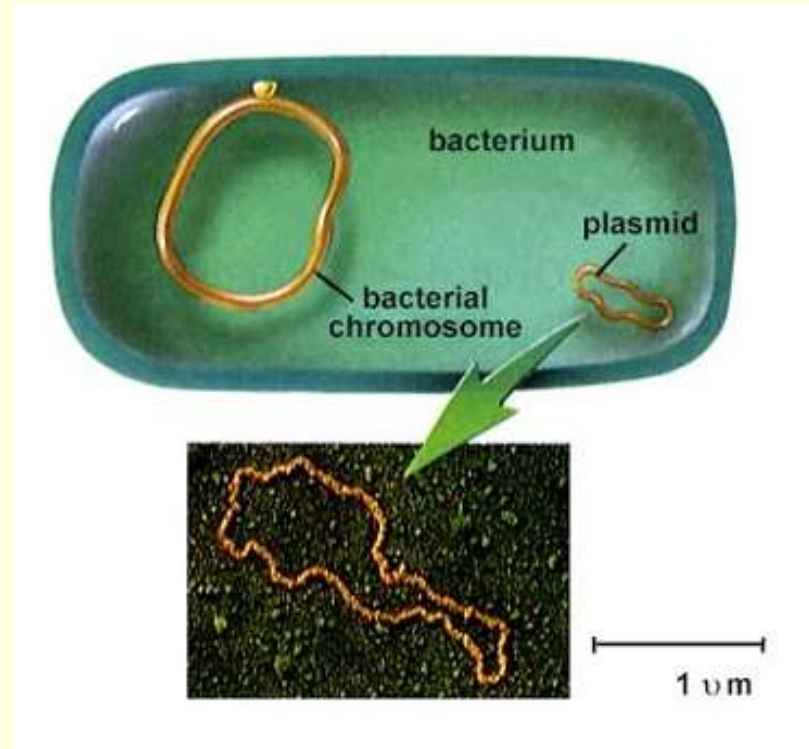


Flagelle

Fimbriae

Plásmidos

- Formación circular de ADN extracromosómico
- Muy frecuente en las bacterias



Las modificaciones plasmídicas

- Aparecen en más de 90% de los casos
- Pueden hacerse a través de cuatro mecanismos:
 - conjugación
 - transducción
 - transformación
 - transposición

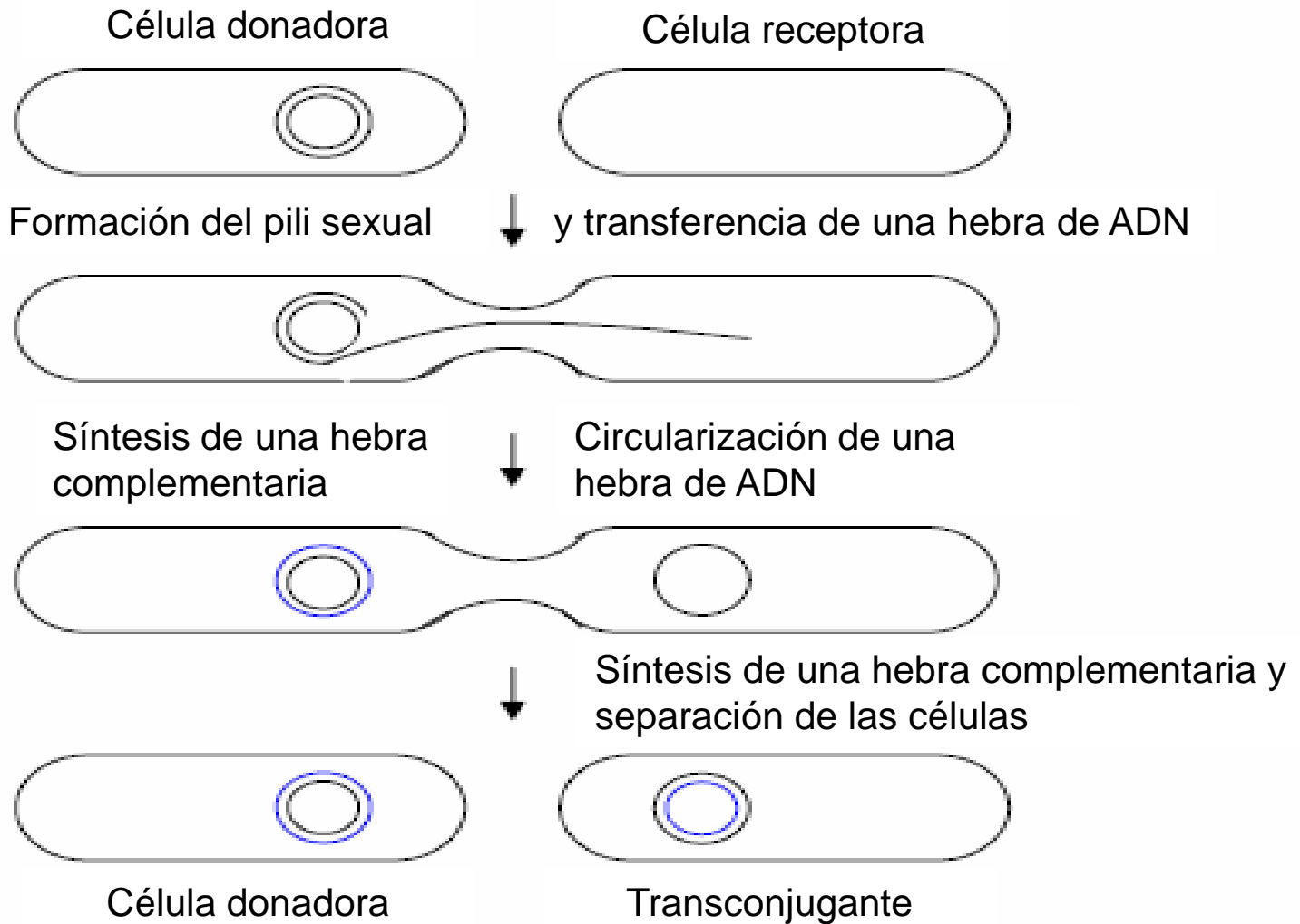
Las modificaciones plasmídicas

- La conjugación y la transducción son frecuentes
- La conjugación permite la transferencia de una pequeña molécula de ADN circular de doble cadena al cromosoma bacteriano, llamado plásmido.
- En las bacterias Gram negativas, el plásmido contiene un grupo de genes designado por las letras RTF (factores de transferencia de resistencia).

La conjugación

- La bacteria donadora
 - hace una copia de cadena sencilla de su plásmido
 - lo transfiere a una bacteria receptora por un pili - un puente entre dos células
- Este tipo de intercambio es epidémico
 - permite el intercambio del gen de resistencia por simple contacto entre dos células bacterianas

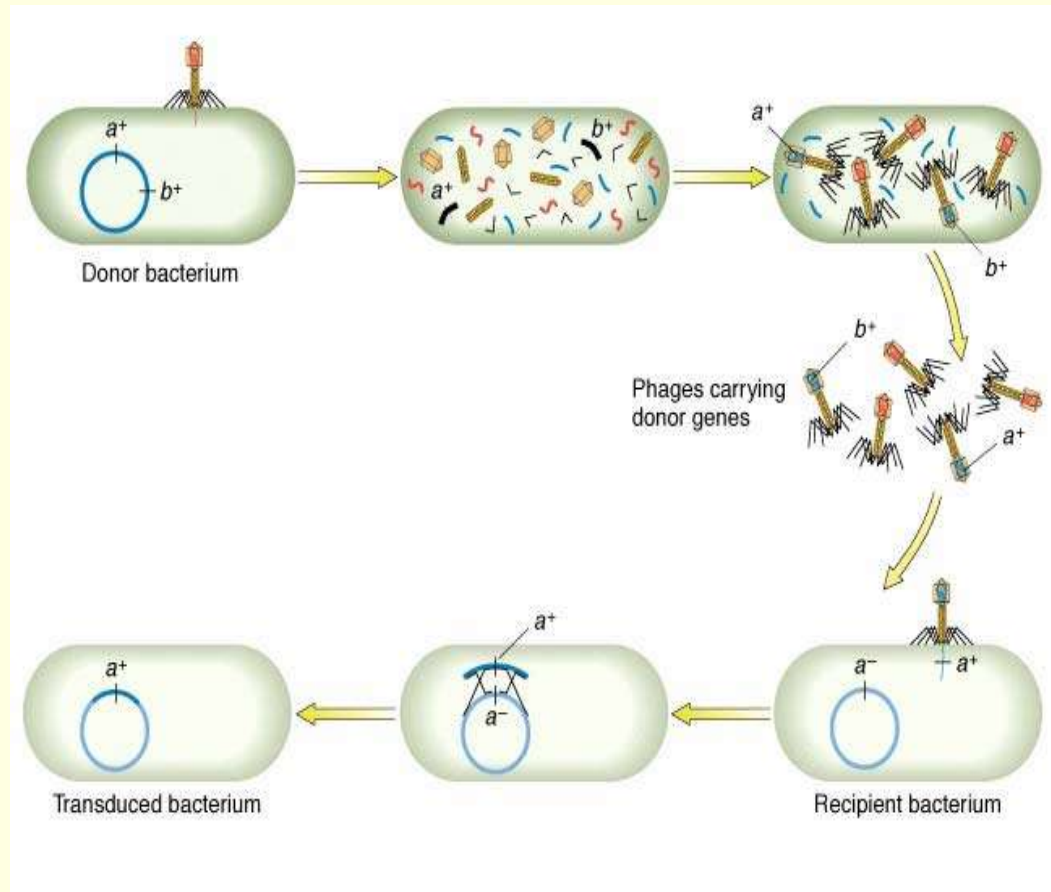
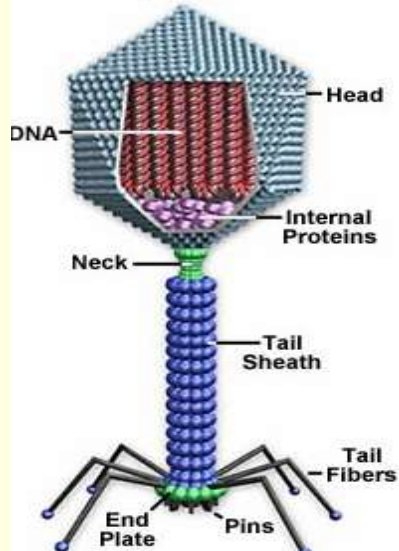
La conjugación



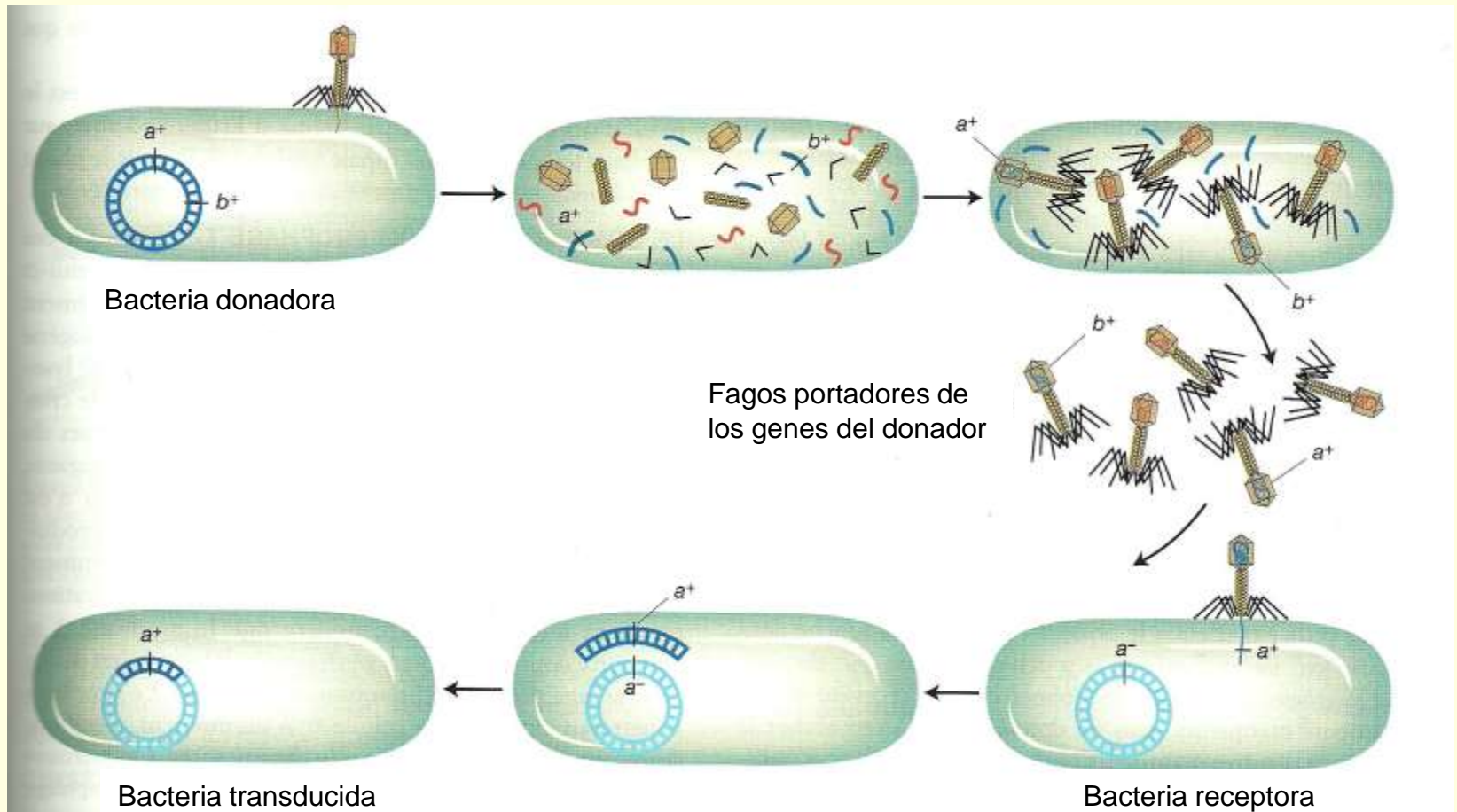
Transducción bacteriana



Bacteriophage Structure



El mecanismo de transducción



Genes de resistencia a los antibióticos



Cassettes e integrones

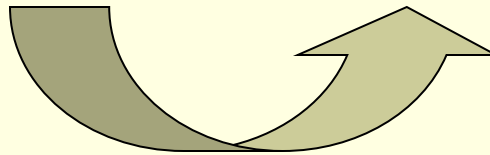


Transposones



Cromosomas y plásmidos

Transformación



Conjugación

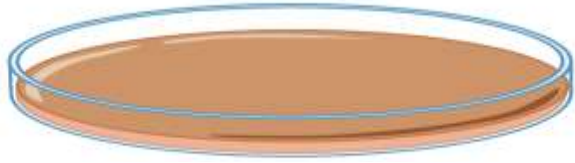
Transducción



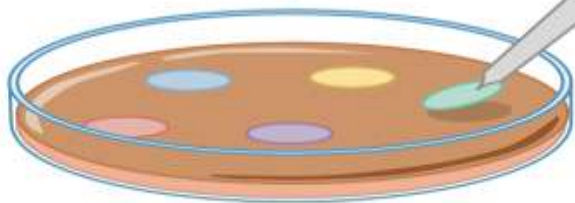
Caja con un medio de cultivo gelosado



Cultura inoculada en 5 ml de agar en fusión para cubrir el medio de cultivo gelosado



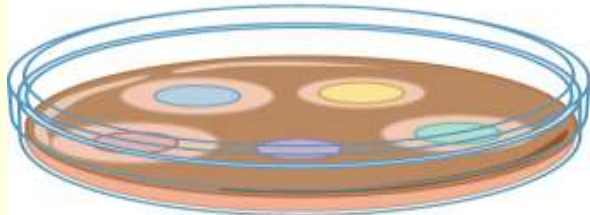
Caja cubierta



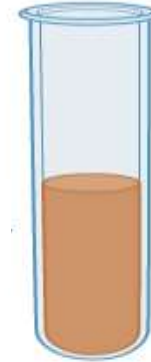
Discos impregnados de antibióticos son colocados en la superficie



Incubación de 24 a 48 horas

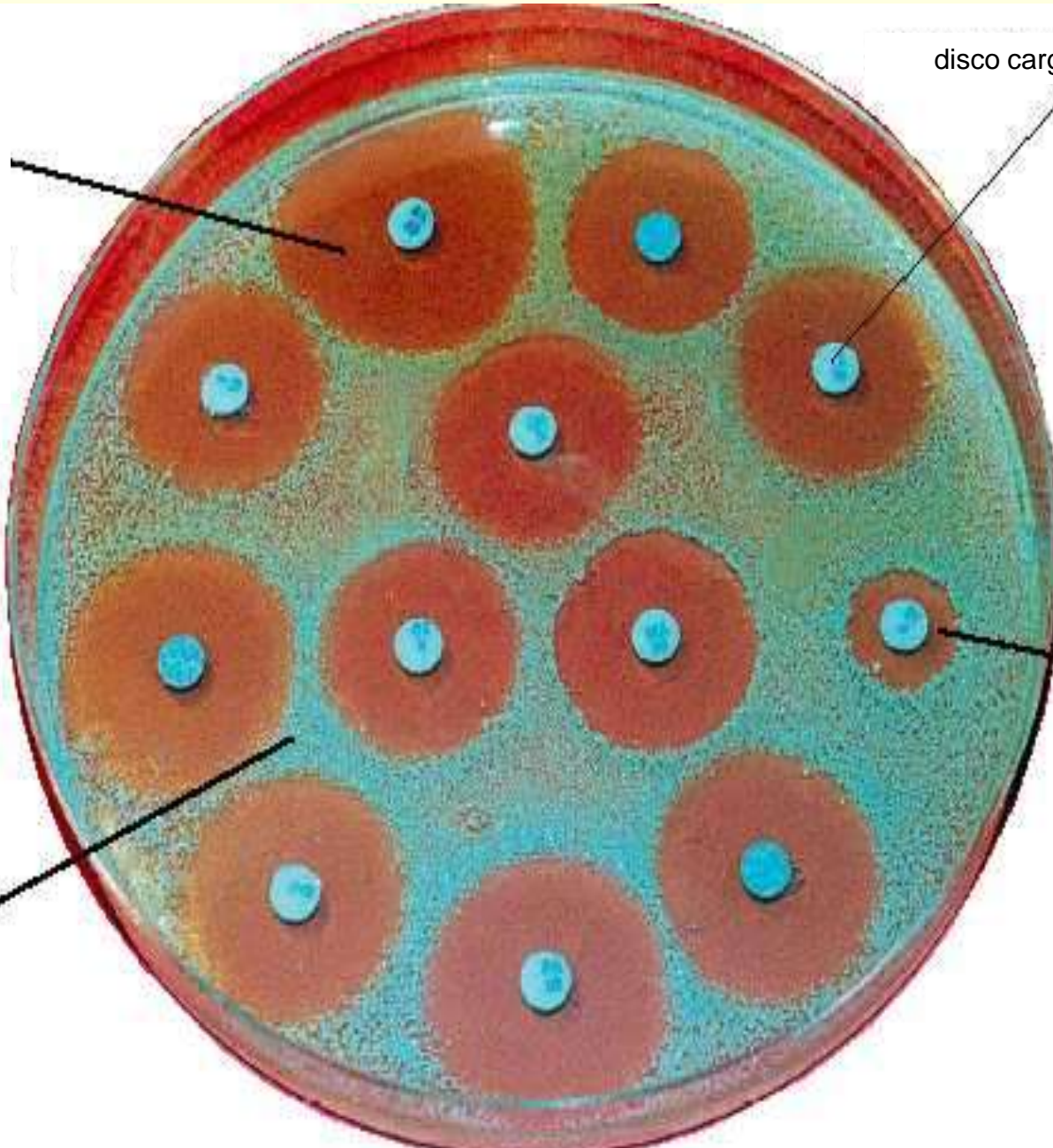


El organismo testeado muestra su susceptibilidad a los antibióticos, indicada por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano alrededor de los discos (zona de inhibición) después de la incubación



zona que confirma una fuerte eficacia (los bacilos no se han multiplicado)

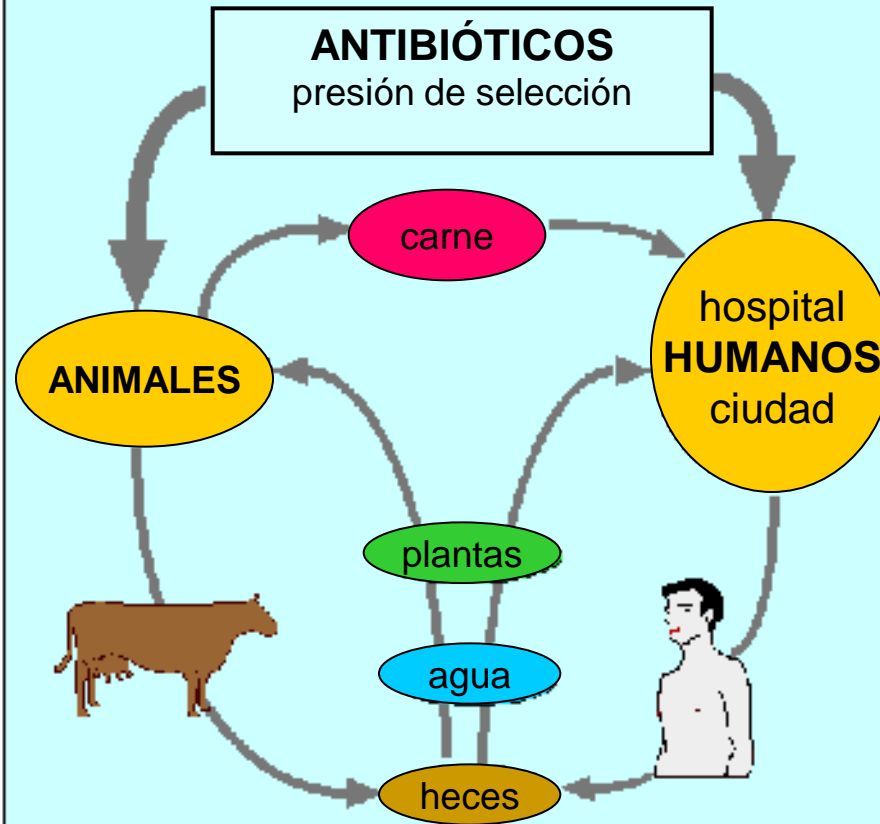
disco cargado de un antibiótico



zona que confirma una débil eficacia

bacilos

TRANSFERENCIAS DE RESISTENCIA: LA RED



Investigación microbiológica

- Actividad antibacteriana de *Lactobacillus acidophilus* y *Lactobacillus casei* contra el *Estafilococo dorado* resistente a la meticilina (SARM)
- Interacción de las bacterias lácticas y de los SARM provocan la erradicación de 99% de las células de SARM después de 24 h de incubación común a 37 grados C.