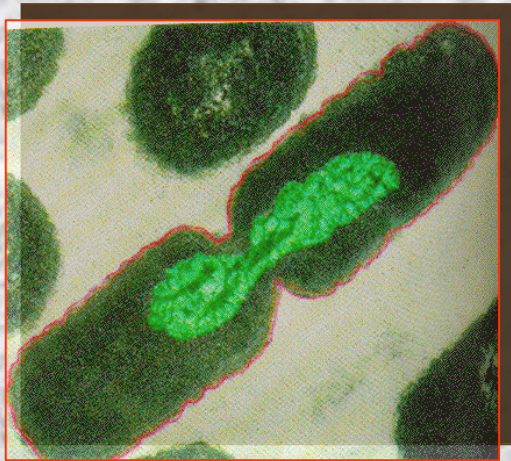




UNIVERSIDAD
DE LOS ANDES

UNIDAD II

ESTUDIO DE LA FISIOLOGÍA DE LOS MICROORGANISMOS



PROFESORA: ELCI VILLEGAS

Introducción

- ❖ La fisiología bacteriana comprende el estudio de las funciones realizadas por estos microorganismos.
- ❖ Las bacterias son muy eficientes fisiológicamente, sintetizan en forma muy rápida sus componentes celulares, siendo la mayoría autosuficientes a pesar de su simpleza estructural.
- ❖ En la bacteria se desencadenan una serie de procesos químicos que en conjunto constituyen el



Metabolismo Bacteriano

CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS

- **Aerobios Estrictos** → Son aquellas bacterias en que el aceptor final de e^- es el O_2
- **Anaerobios Estrictos** → Aquellos microorganismos en que el aceptor final es una molécula inorgánica, como SO_4 o NO_3 . No utilizan O_2 , y más aún éste es tóxico, ya que carecen de la capacidad de sintetizar catalasa superóxido dismutasa.
- **Anaerobios Facultativos** → Pueden vivir con O_2 y sin O_2

NUTRICIÓN BACTERIANA

Es el proceso por el que los seres vivos toman del medio donde habitan las sustancias químicas que necesitan para crecer (nutrientes) los que se requieren para:

- ❖ Fines energéticos
- ❖ Fines biosintéticos

Clasificación bacteriana según tipo de nutrición:

❖ Aprovechamiento de energía...

→ Litótrofas

→ Organótrofas

❖ Biosintético...

→ Autótrofas

→ Heterótrofas

Nutrientes Bacterianos

Podemos clasificar los nutrientes en las siguientes categorías:

- 1.-**Macronutrientes:** carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno.
- 2.-**Micronutrientes:** fósforo, potasio, azufre, magnesio.
- 3.-**Vitaminas y hormonas**
- 4.-**Elementos traza:** zinc, cobre, manganeso, molibdeno, cobalto.

MACRONUTRIENTES

Carbono. Todos los organismos necesitan carbono en alguna de sus formas. El carbono forma el esqueleto de los tres más importantes nutrientes (**carbohidratos, lípidos y proteínas**) que se utilizan para la obtención de energía así como material celular. Los microorganismos que utilizan compuestos orgánicos como fuente de carbono se llaman **heterotrofos** y aquellos que utilizan el CO₂ como fuente de carbono se llaman **autotrofos**.

Hidrógeno y Oxígeno. El hidrógeno y oxígeno forman parte de muchos compuestos orgánicos. Se encuentran en el H₂O, como componentes de nutrientes y en la atmósfera. Además el O₂ se utiliza en la respiración aeróbica como aceptor terminal de electrones.

MACRONUTRIENTES

Nitrógeno. Todos los organismos requieren nitrógeno. El nitrógeno es metabolizado y entra a formar parte de las **proteínas, ácidos nucleicos y polímeros de la pared celular**. Las fuentes de nitrógeno que pueden ser utilizadas por diferentes organismos incluyen:-el N_2 atmosférico en algunos procariotas, -otros utilizan compuestos inorgánicos como nitratos, nitritos o sales de amonio, -mientras que otros requieren compuestos nitrogenados orgánicos como son los aminoácidos o péptidos.

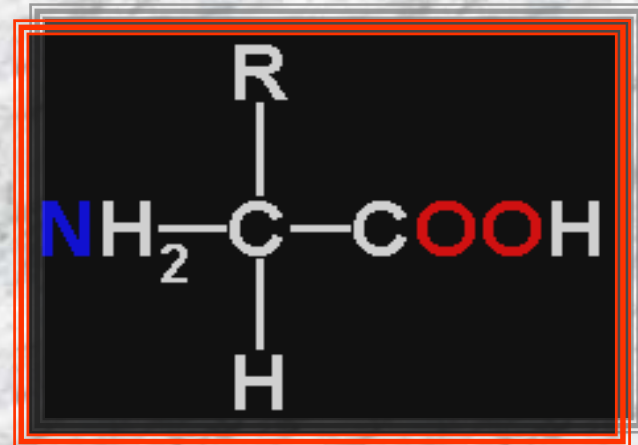
MICRONUTRIENTES

- ❖ **Fósforo.** El fósforo es esencial para la síntesis de **ácidos nucleicos y ATP**; también forma parte de los **fosfolípidos y polímeros de la pared celular**. El fósforo se suministra normalmente como fosfato inorgánico; alternatively se puede utilizar fosfato orgánico como son los glicerofosfatos y fosfolípidos.
- ❖ **Potasio.** El ión potasio actúa como **coenzima** y probablemente como catión en la estructura de RNA y otras estructuras aniónicas celulares.
- ❖ **Azufre.** El azufre es necesario para la biosíntesis de los aminoácidos cisteína, cistina y metionina. También forma parte de coenzimas como biotina, coenzima A y ferredoxina. El azufre se suministra en forma inorgánica como sulfato u orgánica como cistina, cisteína y metionina. **Magnesio.** Se utiliza como cofactor de reacciones enzimáticas donde actúa el **ATP**.

MICRONUTRIENTES

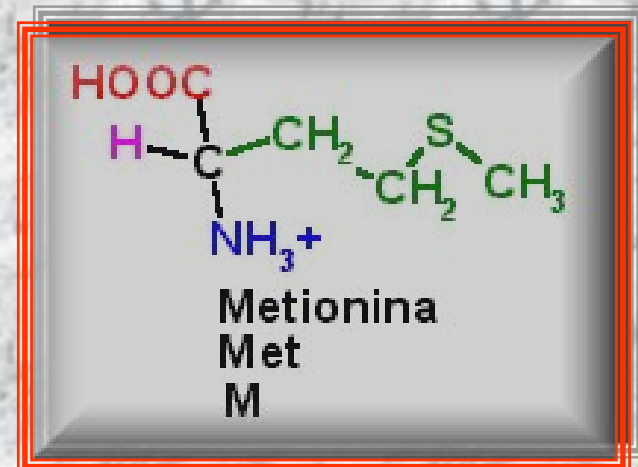
❖ Nitrógeno (-NH₂)

En aminoácidos
Bases nitrogenadas



❖ Azufre (-SH)

En determinados
aminoácidos y
coenzimas



VITAMINAS

Las vitaminas se clasifican en dos grupos, hidrosolubles y liposolubles. Dentro de éstas últimas la vitamina A, D y E no son necesarias para el crecimiento de las bacterias. Todas las vitaminas hidrosolubles, excepto el ácido ascórbico, son necesarias para el crecimiento de bacterias. La mayor parte de las vitaminas hidrosolubles son componentes de coenzimas. En los medios indefinidos se utiliza como fuente de vitaminas el extracto de levaduras.

ELEMENTOS TRAZA

En general los requerimientos de elementos traza se conocen sólo cualitativamente ya que es difícil demostrar su requerimiento debido a que las cantidades necesarias se suelen encontrar a menudo como contaminantes en otros constituyentes del medio. Son necesarios para activar algunos enzimas; por ejemplo, el Mo^{6+} se necesita en la nitrogenasa que es el enzima que cataliza la conversión del nitrógeno atmosférico en amoníaco en la fijación biológica de nitrógeno.

Factores de crecimiento

- ❖ Son moléculas orgánicas específicas indispensables para la vida de la bacteria pero que ella es incapaz de sintetizar

Ej: coenzimas o sus precursores, bases nitrogenadas, aminoácidos, vitaminas.

Condiciones apropiadas para el crecimiento bacteriano

Los principales factores que influyen en el crecimiento microbiano son alimento, t° , humedad, disponibilidad de oxígeno y pH.

- ❖ **Alimento:** Es la fuente de energía necesaria para la vida de los microorganismos.
- ❖ **Temperatura:** Influye mucho en la velocidad de crecimiento.

Condiciones apropiadas para el crecimiento bacteriano

- ❖ **Humedad:** Es la cantidad de agua disponible en el sistema.
- ❖ **Oxígeno:** los microorganismos pueden agruparse en distintas categorías basándose en sus requerimientos o intolerancia al O₂.
- ❖ **pH:** Los microorganismos tienen pH óptimos de crecimiento y pH límites por encima o debajo de los cuales no pueden desarrollarse.

Temperatura

- ❖ Presentan un estrecho rango de crecimiento optimo. Delimita este rango una t° mínima de crecimiento y una máxima.
- ❖ Por debajo de la mínima multiplicación se deteriora
- ❖ Por sobre la máxima muerte bacteriana

Temperatura

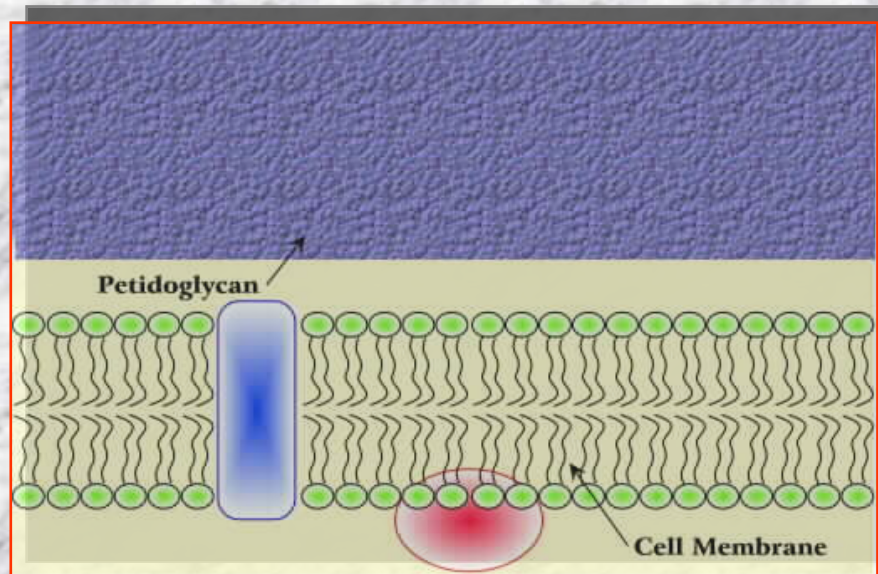
- ❖ Las bacterias se pueden clasificar en 3 grandes grupos, según su t° optima de crecimiento:
 - Psicrófilas 10 – 20°C (15°C)
 - Mesófilas 20 – 40°C (30°C)
 - Termófilas 50 – 60°C (55°C)

pH

- ❖ En el interior de la bacteria el pH es normalmente neutro.
- ❖ La mayoría de las bacterias puede soportar cambios entre 3 y 4 unidades de pH.
- ❖ Se pueden clasificar en 3 grandes grupos según pH:
 - **alcalófilas.**
 - **neutrófilas.**
 - **acidófilas.**

Condiciones Osmóticas

- ❖ Las bacterias tienen una tolerancia osmótica importante, lo que les permite soportar grandes cambios de la osmolaridad, todo esto gracias a la ***PARED CELULAR*** que constituye una importante barrera.



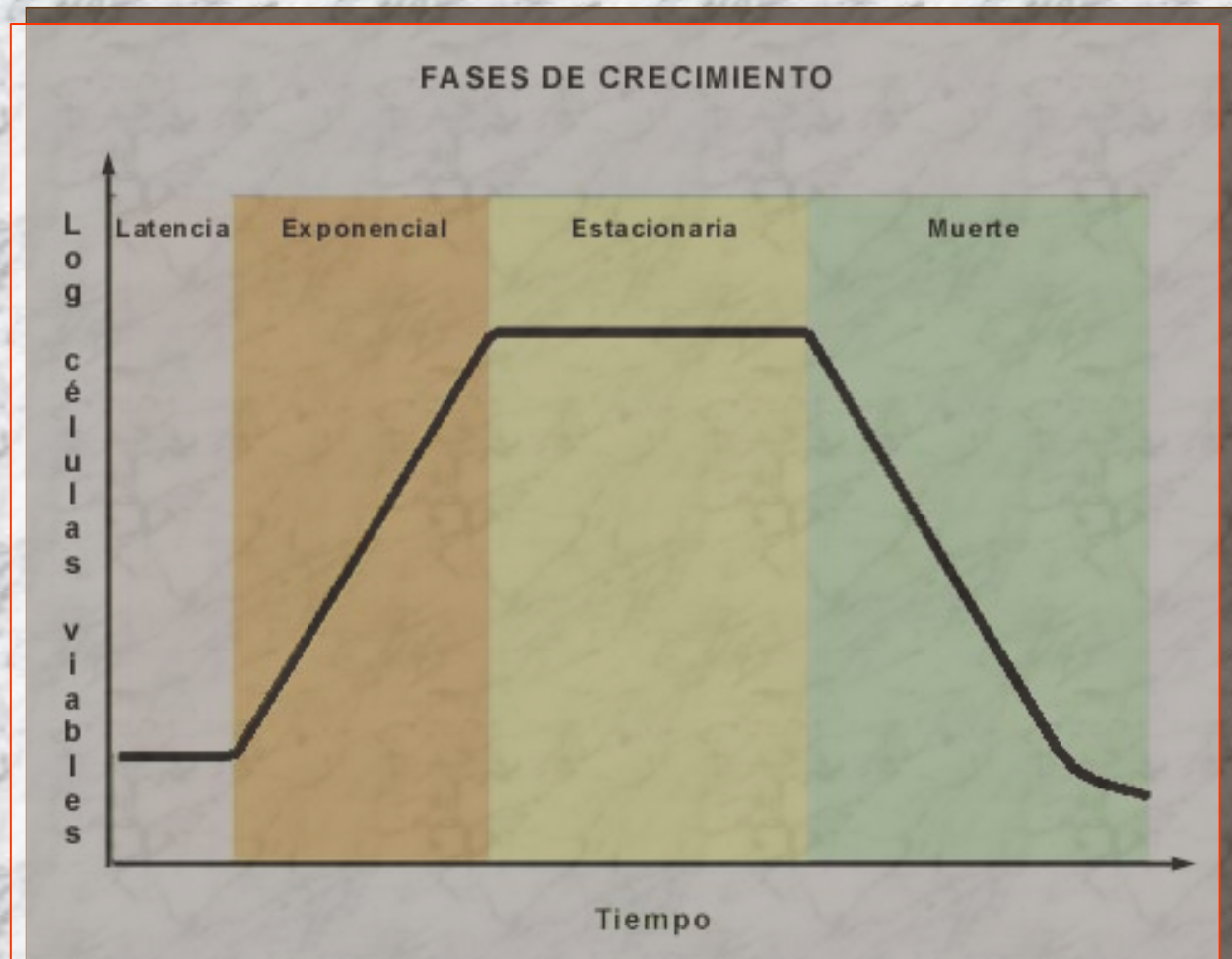
Oxígeno

- ❖ Conforme con requerimientos de oxígeno de la bacterias, se clasifican en:
 - **Aeróbicas:** Requieren de Oxígeno para su desarrollo.
 - **Anaeróbicas:** crecen en ausencia o presencia de Oxígeno.
 - **Microaereofílicas:** crecen mejor con tensiones de Oxígeno bajas.

Fases del crecimiento bacteriano

- ❖ El crecimiento bacteriano es autolimitante.
- ❖ Multiplicación de 3 a 5 hrs, llegando a un numero y tamaño máximo.
- ❖ Todos esto es debido a múltiples factores que se presentan luego de un determinado tiempo.
- ❖ **Fases:**
 - fase de latencia o retraso
 - fase logarítmica o exponencial.
 - fase estacionaria.
 - fase de regresión o muerte

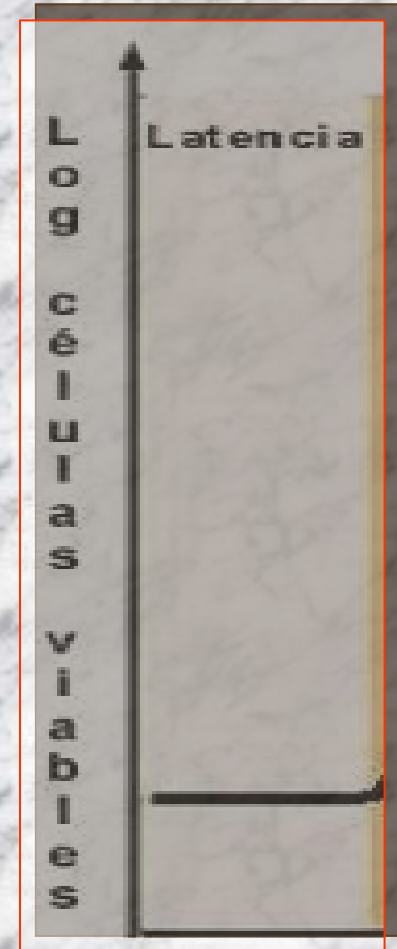
Fases del crecimiento bacteriano



Fases del crecimiento bacteriano

❖ Fase de retraso:

- Aprox. 4 horas.
- Las bacterias tienen una gran actividad metabólica.
- No hay división, por lo tanto su n° no aumenta



Fases del crecimiento bacteriano

❖ *Fase logarítmica:*

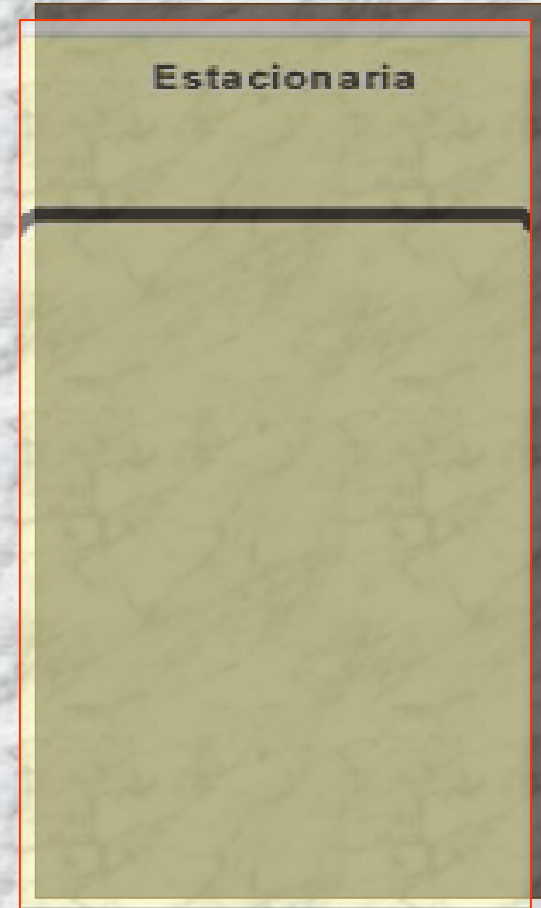
- ✓ Después de 6 aprox. Crecimiento exponencial, en donde las bacterias se dividen en forma constante y máxima.
- ✓ Las diferentes poblaciones bacterianas poseen una tasa de crecimiento característica que depende de la t^0 y los nutrientes que el medio le está entregando.
- ✓ Liberación de exotoxinas.



Fases del crecimiento bacteriano

❖ Fase estacionaria:

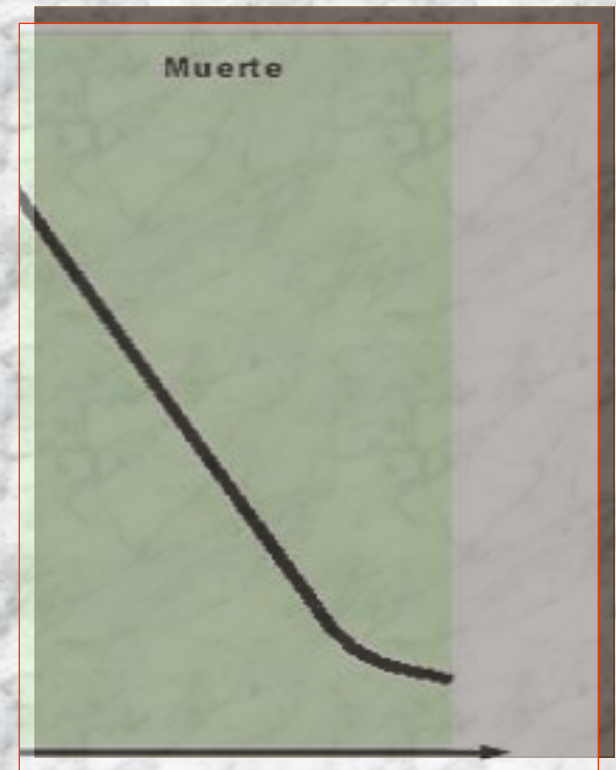
- Acumulación de desechos metabólicos y disminución de los nutrientes.
- Igualación de la tasa de crecimiento con la de muerte.



Fases del crecimiento bacteriano

❖ *Fase de muerte:*

- Las bacterias dejan de multiplicarse y mueren con el tiempo.
- Hay término de nutrientes, acumulación de material de desecho y disminución del espacio físico.
- Esta curva solo se produce en condiciones de laboratorio



Metabolismo Bacteriano

- ❖ Es el conjunto de reacciones químicas que ocurren en la célula.
- ❖ Funciones:
 - Obtener energía química del entorno
 - Convertir los nutrientes exógenos
 - Formar y degradar moléculas.

Metabolismo Bacteriano



En las bacterias se encuentran las 3 vías centrales del metabolismo intermediario de los Hidratos de Carbono:

- Vía glicolítica o de Embden Meyerhof Parnas
- Vía de pentosa fofato o de Shunt de las pentosas
- Vía de Entner-Doudoroff

Metabolismo Bacteriano

Las bacterias son muy eficientes fisiológicamente, sintetizan en forma muy rápida todos sus componentes celulares, siendo la mayoría autosuficientes a pesar de su simpleza estructural. Para que esto ocurra, en la bacteria se desencadenan una serie de procesos químicos que en su conjunto constituyen el metabolismo bacteriano.

En el metabolismo bacteriano, los procesos químicos por los cuales la bacteria construye componentes celulares, a partir de compuestos simples externos (nutrientes), **se denomina anabolismo**. En cambio, aquellas reacciones destinadas a obtener energía a partir de compuestos químicos corresponden al **catabolismo**.

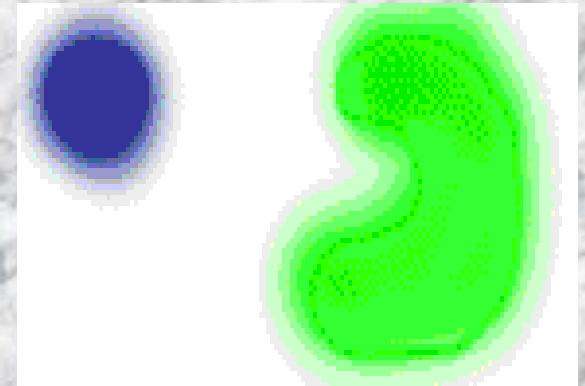
REGULACION DEL METABOLISMO

Cada reacción metabólica está regulada no sólo con respecto a otras reacciones sino también con respecto a la concentración de nutrientes en el medio. La regulación se realiza a diferentes niveles:

- ❖ Regulación de la actividad enzimática a través de: enzimas alostéricas, inhibición por retroalimentación, activación alostérica, y cooperatividad.
- ❖ Regulación de la síntesis de enzimas por: inducción enzimática y represión por productos finales.

ENZIMAS

Los enzimas son proteínas que catalizan reacciones químicas en los seres vivos. Los enzimas son catalizadores, es decir, sustancias que, sin consumirse en una reacción, aumentan notablemente su velocidad. No hacen factibles las reacciones imposibles, sino que sólomente aceleran las que espontáneamente podrían producirse. Ello hace posible que en condiciones fisiológicas tengan lugar reacciones que sin catalizador requerirían condiciones extremas de presión, temperatura o pH.



Especificidad de los enzimas

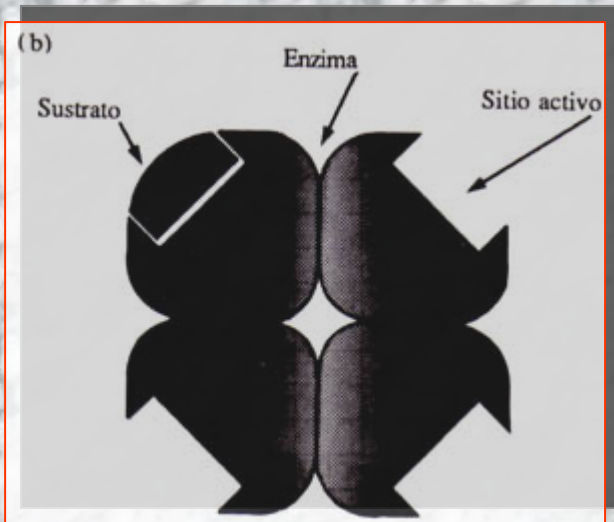
Los enzimas son proteínas catalíticas. Casi todas las reacciones celulares están catalizadas. Alguna actividad catalítica no reside en las proteínas sino en el RNA, es el caso de la ribozima que tiene parte de RNA y parte proteica aunque la catálisis la efectúa el ácido nucleico. Esto tiene una importancia evolutiva pues demuestra que el RNA catalizaba antes que los enzimas que luego se especializaron. El RNA es peor catalizador. La función de los enzimas está relacionada con la unión de un ligando que será el sustrato. Se forma complejo enzima-sustrato, que luego se convierte en producto:

enzima + sustrato \rightleftharpoons enzima-sustrato \rightarrow enzima + producto

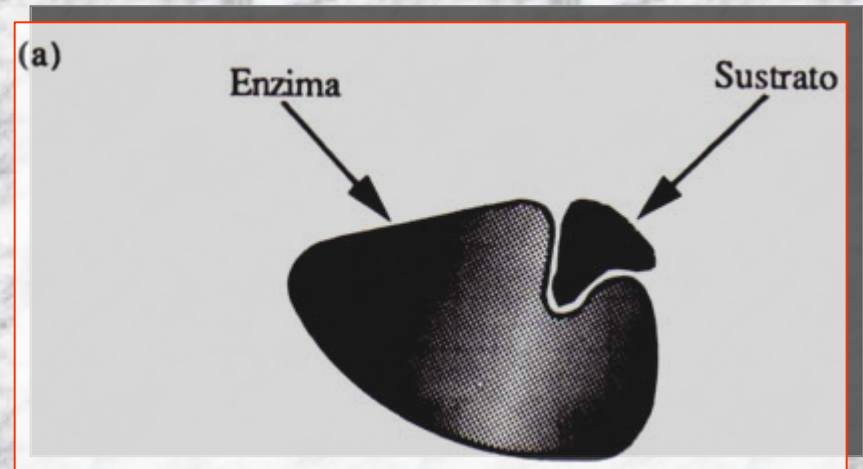
Especificidad de los enzimas

- ❖ Como es un catalizador el enzima no se consume, acelerando la velocidad de reacción sin modificar la posición de equilibrio. Las propiedades que tienen los enzimas que los hacen efectivos como catalizadores son:
 - Capaces de acelerar las reacciones en las condiciones suaves de la célula.
 - Alto poder catalítico por su gran actividad molecular, aceleran las reacciones hasta 10^{17} veces. Esto es porque se une al sustrato en relación 1:1 y la reacción que ocurre en los confines de éste ve rebajada su energía de activación como consecuencia de esa unión.
 - Son muy específicos respecto a.
 - a) **Tipo de reacción:** ya que no son catalizadas reacciones de naturaleza distinta.
 - b) **Respecto al sustrato:** el enzima no puede unirse con cualquier sustrato. Hay enzimas más específicos que otros. La especificidad puede ser tan alta que se distinga entre estereoisómeros. Sin embargo los enzimas digestivos son poco específicos porque si no harían falta demasiados. La ventaja de la especificidad reside en que se pueden catalizar muchas reacciones a la vez sin reacciones laterales ni que se acumulen los productos secundarios.

Especificidad de los enzimas



Enzima con uno o dos sitios activos y una cadena de aminoácidos.



Enzima con varias cadenas de aminoácidos y varios sitios activos.

Las enzimas bacterianas se clasifican:

Las enzimas bacterianas pueden clasificarse según

- ❖ Su lugar de acción en: **endoenzimas** y **exoenzimas**. Las **endoenzimas**, son aquellas enzimas que actúan en el interior de la célula.

Ej. oxidasas, reductasas y transaminasas. Las **exoenzimas**, son enzimas que siendo también sintetizadas en el interior de la célula, para ejercer su función deben ser exportadas al medio extracelular en bacterias Gram (+) y al espacio periplásmico en las bacterias Gram (-). Su función principal es degradar macromoléculas, las que por su tamaño no atraviesan las capas superficiales de la célula procariótica.

Las enzimas bacterianas se clasifican:

Las enzimas bacterianas, también pueden ser clasificadas considerando **sí su síntesis es o no modificada por el medio ambiente**. De acuerdo a esto, las enzimas pueden ser **constitutivas o inducidas**.

- ❖ **Las enzimas constitutivas** son aquellas cuya síntesis es independiente del medio externo. Se sintetizan siempre, Ej. enzimas que degradan la glucosa.
- ❖ **En cambio, las enzimas inducidas** son aquellas cuya síntesis depende de la presencia o ausencia del sustrato en el medio, Ej. β -galactosidasa, la cual actúa sobre la lactosa, sólo es sintetizada cuando existe lactosa en el medio (Figura 3-1). Las bacterias son metabólicamente eficientes ya que la mayoría de sus enzimas son inducidas.

Agentes Físicos y Químicos que actúan sobre los Microorganismos

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

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

En general, si no sólo nos referimos a las bacterias, sino a cualquier tipo de microorganismos, hablamos respectivamente de agentes **microbiostáticos** y **microbicidas**. Ahora bien, para una misma sustancia química, la línea de demarcación entre un efecto **microbiostático** y otro **microbicida** depende muchas veces de la concentración de dicha sustancia y del tiempo durante el que actúa.

Agentes Físicos y Químicos que actúan sobre los Microorganismos

- ❖ **Agentes esterilizantes** son aquellos que producen la inactivación total de todas las formas de vida microbiana (o sea, su "muerte" o pérdida irreversible de su viabilidad). (También existen agentes físicos esterilizantes).
- ❖ **Agentes desinfectantes (o germicidas)** son agentes (sobre todo químicos) antimicrobianos capaces de matar los microorganismos patógenos (infecciosos) de un material. Pueden (y en muchos casos suelen) presentar efectos tóxicos sobre tejidos vivos, por lo que se suelen emplear sólo sobre materiales inertes.
- ❖ **Agentes antisépticos** son sustancias químicas antimicrobianas que se oponen a la sepsis o putrefacción de materiales vivos. Se trata de desinfectantes con baja actividad tóxica hacia los tejidos vivos donde se aplican.
- ❖ **Quimioterápicos** son compuestos químicos con actividad microbicida o microbiostática, con una toxicidad suficientemente baja como para permitir su administración a un organismo superior, en cuyos fluidos corporales y tejidos permanece estable un cierto tiempo a concentraciones tales que los hace eficaces como antimicrobianos dentro del organismo.

FACTORES QUE AFECTAN LA POTENCIA DE UN DESINFECTANTE

- 1) **Concentración del agente y tiempo de actuación**
- 2) **pH:** El pH afecta tanto a la carga superficial neta de la bacteria como al grado de ionización del agente.
 - Los agentes aniónicos suelen ser más efectivos a pH ácidos.
 - Los agentes catiónicos muestran más eficacia a pH alcalinos.
- 3) **Temperatura.** Normalmente, al aumentar la temperatura aumenta la potencia de los desinfectantes. Para muchos agentes la subida de 10 grados supone duplicar la tasa de muerte.
- 4) **Naturaleza del microorganismo y otros factores asociados a la población microbiana**
 - Según la especie empleada: p. ej., el bacilo tuberculoso resiste los hipocloritos mejor que otras bacterias
 - Según la fase de cultivo
 - Dependiendo de la presencia de cápsulas o de esporas (suelen conferir más resistencia)
 - Dependiendo del número de microorganismos iniciales.
- 5) **Presencia de materiales extraños:** La existencia de materia orgánica en el material a tratar (p. ej., sangre, suero, pus) afecta negativamente a la potencia de los desinfectantes

ANTIBIÓTICOS

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

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

ANTIBIÓTICOS

La mayor parte de los antibióticos comerciales se emplea para tratar enfermedades de etiología bacteriana, aunque algunos se usan contra hongos y levaduras, y unos pocos presentan actividad antitumoral.

Desde el punto de vista químico, se clasifican en grandes familias:

- antibióticos que contienen carbohidratos;
- lactonas macrocíclicas;
- quinonas y compuestos relacionados;
- antibióticos peptídicos y con aminoácidos;
- heterociclos del N;
- heterociclos del O;
- aromáticos;
- alifáticos, etc.

MODO DE ACCION DE LOS ANTIBIOTICOS

En general, los antibióticos deben su toxicidad selectiva a las diferencias entre las células eucariotas y procariotas. Su eficacia tóxica es la consecuencia de su capacidad de inhibir una reacción bioquímica específica y esencial, bien sea para la célula eucariota o para la célula procariota. Para que el antibiótico ejerza su acción es necesario que llegue al foco infeccioso, penetre en las bacterias (por difusión o transporte activo) y alcance intracelularmente la concentración necesaria. Una vez dentro de la célula el antibiótico puede ser bacteriostático si inhibe la multiplicación de forma reversible, o bactericida si tiene un efecto letal. En general, cada grupo de antibióticos actúa preferentemente de una forma u otra.

Antibióticos bacteriostáticos: macrólidos, tetraciclinas, cloranfenicol.

Antibióticos bactericidas: aminoglicósidos, polipeptídicos, betalactámicos, polienos.



GRACIAS