

TEMA 1. INTRODUCCIÓN A LA MICROBIOLOGÍA ORAL

1. Concepto

2. Los microorganismos

a. Entidades acelulares: virus, viroides y priones

b. Microorganismos procariotas: bacterias y arqueas

c. Microorganismos eucariotas: hongos y protozoos

3. Desarrollo histórico de la Microbiología

4. Microbiología oral

1. CONCEPTO

La Microbiología es una disciplina que pertenece al conjunto de las ciencias de la vida. Etimológicamente, su nombre proviene de la conjunción de tres términos griegos: *micros* que significa pequeño, *bios* que significa vida y *logos* que equivale a tratado o Ciencia. La Microbiología es una ciencia experimental que puede definirse como la ciencia que trata el estudio de los microorganismos, es decir, aquellos seres vivos que, por su pequeño tamaño, escapan al poder resolutivo del ojo humano y solo pueden ser observados con la ayuda del microscopio. Esta definición sitúa los orígenes de esta ciencia en el siglo XVII, cuando se dispuso de lentes lo suficientemente perfeccionadas como para poder observar los microorganismos.

Esta disciplina científica, la Microbiología, se ocupa de la descripción, explicación y predicción de fenómenos y objetos relacionados con el mundo de los microorganismos y utiliza como método de trabajo el método científico o método hipotético deductivo. Establecer el tamaño como criterio selectivo condiciona que la Microbiología se ocupe del estudio de grupos taxonómicos muy diferentes como protozoos, algas, hongos, bacterias, virus, viriones y priones.

La Microbiología médica estudia a los microorganismos como agentes etiológicos de enfermedades y la Microbiología clínica aplica estos conocimientos a desarrollar métodos rápidos y fiables de aislamiento e identificación de los microorganismos patógenos para el diagnóstico, a estudiar

los factores de virulencia de los microorganismos patógenos, las condiciones del hospedador que predisponen a la invasión, así como sus reservorios y vías de transmisión. Otro objetivo importante de la Microbiología clínica es el control y tratamiento de las enfermedades infecciosas mediante el uso de productos de origen natural o sintético.

2. LOS MICROORGANISMOS

El objeto de estudio de la Microbiología está constituido por un gran y diverso grupo de organismos microscópicos, que incluye tanto formas pluricelulares sin diferenciación, como unicelulares e incluso formas acelulares. Todos ellos comparten una organización biológica sencilla sin especialización tisular y un tamaño pequeño, que obliga el uso del microscopio para su observación.

Los microorganismos influyen en gran medida en la vida y constitución tanto física como química de nuestro planeta. Participan en los ciclos de los elementos químicos indispensables para la vida, incluidos los del carbono, nitrógeno, azufre, hidrógeno y oxígeno, además de realizar la fotosíntesis.

Otra de las propiedades más destacadas de los microorganismos es su ubicuidad. Son capaces de adaptarse a las condiciones ambientales más diversas y se distribuyen en la naturaleza en poblaciones mixtas en las que cada tipo de microorganismo representa una fracción del total. Esto hace muy difícil estudiar las propiedades de un microorganismo si antes no se separa de los microorganismos acompañantes y se cultiva en un medio artificial, es decir, se aísla y mantiene en cultivo puro. Los métodos de aislamiento se crearon en principio para trabajar con bacterias y, posteriormente, han sido adaptados al estudio de otros microorganismos.

La necesidad de utilizar la técnica metodológica de los cultivos puros es una de las características que mejor han definido a la Microbiología durante muchos años. Sin embargo, en la actualidad no siempre se utilizan cultivos puros para el estudio de los microorganismos, bien porque el cultivo de algunos de ellos ha sido imposible de conseguir en condiciones de laboratorio, bien porque su crecimiento es dependiente de una célula hospedadora.

En concreto, la Microbiología estudia:

- Entidades acelulares: virus, viroides y priones.
- Seres celulares procariotas: bacterias y arqueas.
- Seres celulares eucariotas: hongos microscópicos, algas microscópicas y protozoos.

Además de estos grupos, la Microbiología también estudia metazoos como helmintos y artrópodos (arácnidos e insectos).

a. Entidades acelulares: virus, viroides y priones

Los virus son partículas infecciosas de muy pequeño tamaño. Su simplicidad les obliga a una replicación intracelular y les hace dependientes de la célula hospedadora. Los virus presentan dos fases una de ellas extracelular y la otra intracelular. En su fase extracelular el virus es una partícula infectiva (denominada virión), metabólicamente inerte, formada por material genético ARN o ADN, rodeado por una cubierta proteica o cápside que lo protege y le sirve como vehículo para su transmisión de una a otra célula hospedadora, en algunos casos está cubierta por una capa de lípidos, proteínas y carbohidratos denominada envuelta.

Los viriones carecen de los constituyentes necesarios para su crecimiento y replicación (ribosomas, proteínas o sistemas enzimáticos requeridos para la síntesis de ácidos nucleicos), pero pueden contener algunos enzimas no disponibles en la célula hospedadora, como determinadas polimerasas requeridas para iniciar el ciclo de replicación del virus. En resumen, los virus son parásitos intracelulares estrictos, carentes de metabolismo independiente, pero capaces de usar la maquinaria enzimática del hospedador para su propia replicación.

Existe una gran diversidad de replicación vírica, que, en algunos casos, presenta una gran complejidad. Para que un virus pueda replicarse, debe inducir a una célula viva hospedadora a sintetizar todos los componentes esenciales necesarios para producir más viriones. Luego, estos componentes deberán ensamblarse en nuevos viriones que escaparán de la célula. La

replicación vírica se realiza en hospedadores específicos y según el tipo de hospedador que parasitan se clasifican en tres grupos: virus de bacterias o bacteriófagos, virus animales y virus vegetales. Otros criterios utilizados para su clasificación en los distintos grupos y familias son: el tipo de ácido nucleico del genoma viral, el número de cadenas o la presencia o ausencia de envoltura lipoproteica.

Los virus causan numerosas enfermedades, tanto en plantas como en animales. En los vegetales dan lugar a numerosas alteraciones, destrucción del aparato foliar, detención del crecimiento, marchitamiento, no fructificación, etc., que pueden ocasionar grandes pérdidas en las cosechas. En el ser humano debemos recordar algunas enfermedades de etiología viral como gripe, viruela, fiebre amarilla, parotiditis, rabia, herpes, varicela, hepatitis, resfriado común, poliomielitis y el síndrome de la inmunodeficiencia adquirida. En los últimos años también se ha puesto de manifiesto el papel de algunos virus como papilomavirus, virus Epstein-Barr, virus de la hepatitis B y C en la etiología de determinados tipos de cáncer.

Los viroides, descubiertos por Theodor O. Diener en 1971, son parásitos exclusivos de células vegetales en los que inducen una gran variedad de procesos patológicos. Están constituidos tan solo por una molécula circular monocatenaria de ARN de entre 246 y 401 nucleótidos y no tienen una cápside proteica. El ARN de los viroides no contiene genes que codifican proteínas por lo que dependen por completo para su replicación del sistema enzimático de la célula hospedadora y se diseminan por transmisión mecánica (daño humano y ambiental), por propagación vegetativa (injerto) y a través del polen, semillas o por medio de insectos. Los síntomas de las enfermedades producidas por los viroides son indistinguibles de las que causan los virus de las plantas.

Los priones, aislados por Stanley Prusiner en 1982, son agentes infecciosos de células animales con especial afinidad por las células del tejido nervioso donde inducen procesos degenerativos, originando encefalopatías espongiiformes, tales como la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob. En diferentes estudios ha sido posible describir la proteína causante de la enfermedad pero los esfuerzos por identificar otros componentes, como ácidos nucleicos, no han tenido éxito. La

proteína priónica normal está codificada por el genoma del hospedador, esta proteína está muy conservada en los mamíferos, lo que explica que los priones no induzcan la respuesta inmunitaria, y se expresa de manera predominante en el cerebro. La proteína normal (PrP^c) y la isoforma anormal de esta proteína (forma infecciosa, PrP^{sc}) están codificadas por el mismo gen, pero sus estructuras terciarias son diferentes. La PrP^c cambia de conformación a PrP^{sc} y se acumula en el cerebro produciendo la encefalopatía espongiforme.

b. Microorganismos procariotas: bacterias y arqueas

Son entidades biológicas constituidas por células procariotas. Una célula procariota tiene una serie de características que podríamos resumir en:

- Ausencia de compartimentos con distintas funciones, justificada por la ausencia de los orgánulos subcelulares existentes en eucariotas, tales como cloroplastos y aparato de Golgi, con la única excepción del aparato fotosintético de las cianobacterias.
- Diferencias en el aparato de síntesis de proteínas, como son los ribosomas, cuyo coeficiente de sedimentación es 70S, más ligeros que los ribosomas de las células eucarióticas, con un coeficiente de sedimentación de 80S.
- Sencillez en la organización del material genético que no se localiza dentro de un compartimento específico ni presenta la complejidad de la célula eucariótica, constando de un solo cromosoma circular.
- Simplicidad en los mecanismos de replicación y expresión génica, y ausencia de complejidad en la división celular, que ocurre, principalmente, mediante un proceso simple denominado fisión binaria.

Además de estas diferencias de carácter general que constituyen una demarcación clara entre procariotas y eucariotas, existen otras propiedades distintivas que no aparecen en todos los organismos procariotas, como son la presencia de peptidoglicano en sus paredes celulares, la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la acumulación de poli- β -hidroxibutirato como material de reserva o la estructura de los flagelos, absolutamente distintos a los flagelos y cilios eucarióticos.

Muestran escasa variabilidad morfológica, pero una gran versatilidad metabólica, lo que les permite proliferar en casi cualquier tipo de ambiente. Los procariotas, en conjunto, pueden utilizar casi cualquier compuesto orgánico y una amplia gama de compuestos inorgánicos. Algunos son capaces de llevar a cabo procesos fotosintéticos. Ocupan ambientes extremos en los que las células eucariotas no pueden desarrollarse y llevan a cabo transformaciones químicas exclusivas. Se reproducen asexualmente, la mayoría por fisión binaria y algunos por gemación o fisión múltiple. Ciertos procariotas muestran ciclos de vida más complejos con alternancia de tipos morfológicos distintos. Presentan mecanismos de intercambio genético (conjugación, transducción y transformación) responsables en parte de la variabilidad genética. Un reducido número de procariotas son capaces de producir enfermedades en el hombre, animales y plantas, pero en conjunto son beneficiosos e indispensables en los ciclos de los elementos en la naturaleza.

En un principio, los procariotas se consideraban un grupo único y homogéneo, pero a finales de la década de 1970 Carl R. Woese y George E. Fox pusieron en entredicho la dicotomía eucariota/procariota al mostrar, basándose en análisis comparativos de las secuencias de los ARN ribosómicos 16S, la existencia de un conjunto de organismos con características muy distintas al resto de las formas bacterianas. Este grupo, es reconocido en la actualidad bajo la denominación genérica de arqueas. Por tanto, los microorganismos procariotas están comprendidos en dos dominios filogenéticos: *Bacteria* y *Archaea*, que se diferencian en su hábitat, composición química y fisiología, mientras que el tercer dominio, *Eukarya*, engloba a todos los organismos eucariotas. A nivel celular las arqueas son auténticos procariotas, pero a nivel molecular las similitudes con las bacterias no son superiores a las similitudes con eucariotas. Las arqueas carecen de peptidoglicano en su pared y su membrana está constituida por derivados isoprenoides ramificados unidos al glicerol por enlaces éter, a diferencia del resto de los grupos bacterianos, que tienen ácidos grasos con enlaces éster. Estas y otras diferencias les separan del resto de los procariotas y les asemejan a los eucariotas. Por otra parte, las arqueas muestran una enorme diversidad fenotípica, además muchas habitan en ambientes extremos. Las arqueas incluyen organismos anaerobios estrictos

que desprenden metano (metanógenos), que viven en ambientes con elevada salinidad (halófilos), pueden crecer en ambientes muy ácidos (acidófilos) y temperaturas muy elevadas (hipertermófilos). La mayor parte de los procariontes que conocemos en la actualidad se incluyen en el grupo de las bacterias.

Los estudios de filogenia y taxonomía bacterianas basados en la secuencia del ARN ribosómico 16S permitieron, además, establecer las divisiones mayoritarias y subdivisiones dentro de ambos dominios y posteriormente se ha utilizado ampliamente para establecer las relaciones filogenéticas dentro del mundo procariota, causando un profundo impacto en nuestra visión de la evolución y, como consecuencia, en la clasificación e identificación bacteriana. De hecho, las ediciones vigentes de los dos tratados fundamentales de bacteriología, el *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* y *The Prokaryotes*, basan su estructuración del mundo procariota en las relaciones filogenéticas establecidas con esta macromolécula.

c. Microorganismos eucariotas: hongos y protozoos

La célula eucariótica representa un estado de organización estructural-funcional más complejo que el procariota, reflejado por la existencia de una membrana nuclear que separa el material genético de un complejo citoplasma con orgánulos donde se compartimentan distintas funciones celulares, como el retículo endoplásmico, el aparato de Golgi, las mitocondrias o los cloroplastos. Otras propiedades distintivas son el genoma nuclear organizado en varios cromosomas y los ribosomas de tipo 80S, los constituyentes de la pared y membranas celulares, los elementos del citoesqueleto o las histonas asociadas al ADN. Los microorganismos eucariotas incluyen los hongos, algunas algas y los protozoos.

Los hongos son organismos heterótrofos, unicelulares (levaduras) o multicelulares (hongos filamentosos), carentes de clorofila y dotados de una pared rígida que contiene quitina y/o celulosa. Los multicelulares poseen organización filamentosa (micelio) constituido por hifas, tabicadas o no, normalmente ramificadas, por las que fluye el contenido citoplásmico. La mayor parte de los hongos presentan forma unicelular o forma filamentosa; sin

embargo, algunos de ellos pueden adoptar ambas morfologías, se trata de los llamados hongos dimorfos.

Todos son quimioorganotrofos y se nutren por absorción gracias a la secreción de enzimas extracelulares que hidrolizan la materia orgánica polimérica y la transforman en compuestos de bajo peso molecular que posteriormente son absorbidos y metabolizados. Son extraordinariamente homogéneos en sus reacciones metabólicas, pero exhiben una gran diversidad en su morfología y en sus ciclos con reproducción asexual y/o sexual. Son precisamente éstas las características que se emplean en su clasificación.

La mayoría de los hongos viven en el suelo y sobre materia orgánica en descomposición. También hay hongos parásitos de plantas terrestres que pueden ocasionar grandes pérdidas económicas en especies cultivadas. Otros son parásitos de animales, incluido el ser humano. Los hongos son organismos muy importantes tanto desde un punto de vista ecológico como clínico o industrial, y el ser humano ha hecho uso de ellos desde la más remota antigüedad para obtener alimentos o bebidas, y más recientemente para obtener antibióticos, enzimas o como biotransformadores.

Finalmente, los protozoos son un grupo de microorganismos unicelulares no fotosintéticos, generalmente móviles, que se nutren por fagocitosis o por absorción de nutrientes. Están desprovistos de pared celular rígida, lo cual hace que algunos puedan cambiar de forma y así moverse mediante la emisión de pseudópodos. En otros casos, aun conservando su forma característica, poseen cilios o flagelos que hacen posible su locomoción en medio acuoso. Se encuentran en una gran variedad de hábitats terrestres, marinos y de agua dulce. Algunos son parásitos de animales, incluido el ser humano. Se clasifican atendiendo a numerosas características, entre las que destaca el mecanismo de movilidad. Los que muestran movimiento ameboideo se engloban en el grupo Sarcodina, los que usan flagelos en el grupo Mastigophora y los que presentan cilios en algún momento de su ciclo celular pertenecen al grupo Ciliophora. El cuarto grupo, Apicomplexa, está integrado por los esporozoos, que son inmóviles y generalmente parásitos de animales superiores. Algunos

protozoos son agentes causales de importantes enfermedades en el hombre, como la malaria, la disentería amebiana y la enfermedad del sueño.

3. DESARROLLO HISTÓRICO DE LA MICROBIOLOGÍA

La evolución histórica de la Microbiología ha sido diferente de la del resto de las disciplinas biológicas, puesto que ha estado condicionada fundamentalmente por dos factores: las posibilidades técnicas y la especulación filosófica. Las primeras fueron decisivas para su nacimiento en el siglo XVII, ligado a la aparición de los primeros microscopios, y para su posterior evolución a la par que se desarrollaba una metodología microbiológica específica. La especulación filosófica en torno a la existencia de los microorganismos y su papel en las transformaciones químicas y en el origen de las enfermedades infecciosas, ha constituido un impulso decisivo para el avance de la Microbiología, especialmente en sus inicios.

El ser humano ha hecho uso desde la antigüedad de la enorme potencialidad de los microorganismos para llevar a cabo transformaciones químicas. Los papiros egipcios ya describen con detalle el procedimiento para la preparación del vino y la cerveza, señalando la importancia de la eliminación del aire en la fermentación, y el empleo del sedimento de la cerveza para la elaboración de pan. El empleo de microorganismos para la producción de lácteos (queso, yogur, kéfir, etc.) data de la revolución agrícola del Neolítico, e incluso existen referencias a otros procesos microbiológicos como el enriado del lino que llegaron a alcanzar un cierto grado de complejidad técnica. Sin embargo, la existencia de microorganismos y su participación en estos procesos resultaba por entonces inconcebible.

El descubridor del mundo microbiano fue Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), un comerciante de la ciudad holandesa de Delft cuya afición era construir microscopios simples con lentes muy bien trabajadas y observar con éstas prácticamente todo lo que caía en sus manos. Fue el primero en observar microorganismos en muestras de aguas a los que denominó *animálculos*. A. van Leeuwenhoek describió con asombrosa precisión bacilos, estreptococos y

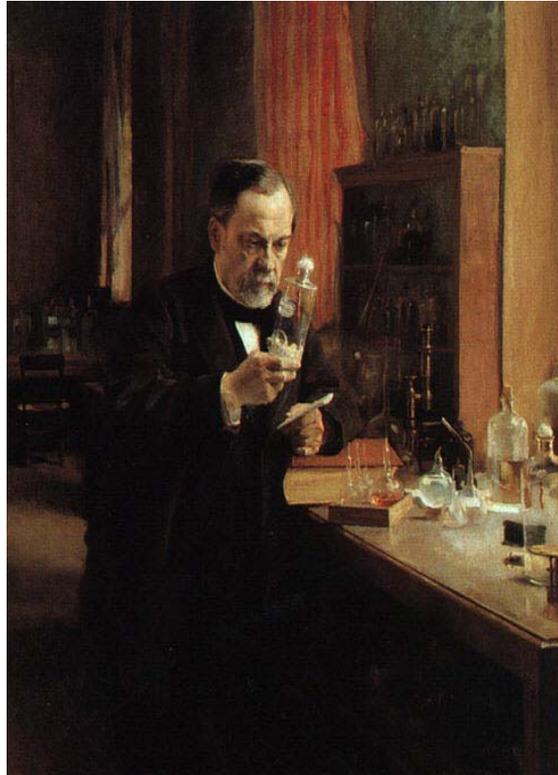
otras formas características, aunque Marcello Malpighi y Robert Hooke, mediante microscopios compuestos con elevados aumentos ya habían descrito con bastante precisión cuerpos fructíferos de hongos.

Los siguientes progresos en los microscopios compuestos no aparecieron hasta finales del siglo XIX cuando se introdujeron las correcciones de la aberración cromática y esférica (Ernst Abbe, 1878). Por su parte Robert Koch en 1877 fue el primero en observar preparaciones de *Bacillus anthracis* fijadas con alcohol y teñidas con azul de metileno. Los múltiples ensayos que se realizaron llevaron a la combinación de tinción y decoloración lo que permitió a Franz Ziehl y Friedrich Neelsen, en 1882, la observación de *Mycobacterium tuberculosis* mediante una técnica basada en su resistencia al ácido-alcohol y a Hans Christian Gram al desarrollo, en 1884, de la tinción que lleva su nombre y que permite dividir a las bacterias en dos grandes grupos en base a sus características estructurales.

En cuanto se conoció la existencia de los microorganismos surgieron diversas hipótesis acerca de su origen. En el siglo XVII la opinión de la comunidad científica apareció dividida entre los partidarios de que los microorganismos se podían formar a partir de la materia inerte de forma espontánea, doctrina conocida como "generación espontánea o abiogénesis" y los que defendían la idea de que provenían de "semillas o gérmenes" preexistentes. La controversia sobre la generación espontánea fue un acicate que impulsó el avance de la Microbiología.

No fue sino hasta mediados del siglo XIX cuando el químico Louis Pasteur (1822-1895), consiguió zanjar definitivamente la controversia sobre la generación espontánea. Además de demostrar la existencia de microorganismos en el aire, mediante los matraces de cuello de cisne consiguió conservar indefinidamente y en contacto con el aire, líquidos que habían sido sometidos a ebullición. A pesar del gran éxito de Pasteur, un libro publicado en Inglaterra por Henry C. Bastian en 1872, volvía a defender la teoría de la generación espontánea. Esta vez no fue Pasteur, sino el físico inglés John Tyndall (1820-1893) quien refutó las tesis de Bastian. Aplicando un método de esterilización por calor discontinuo, Tyndall llegó a la interesante conclusión de

que ciertos microorganismos tenían dos fases: una relativamente termolábil, las formas vegetativas, y otra relativamente termo-resistente, las endosporas. A este proceso de esterilización se le denomina tindalización en honor a su descubridor.



Luis Pasteur en su laboratorio pintado por A. Edelfeldt en 1885
(http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Tableau_Louis_Pasteur.jpg)

Antes de que se obtuvieran suficientes pruebas sobre la naturaleza de los agentes infecciosos, se habían obtenido evidencias sobre los mecanismos de transmisión de las enfermedades causadas por ellos. Ya en el siglo XVIII, John Hunter demostró la transmisión de la infección, inoculándose material purulento de un enfermo de gonorrea. Por desgracia para él y para la comprensión de la etiología, al mismo tiempo que la gonorrea se transmitió otra enfermedad mucho más grave: la sífilis.

4. MICROBIOLOGÍA ORAL

El origen de la microbiología oral coincide con el descubrimiento de las bacterias, ya que Leeuwenhoek observó en su saliva y en el material depositado en los dientes, que denominó materia alba, los citados *animálculos*. En lo que se refiere a los grandes procesos microbianos de la cavidad bucal, los que afectan al periodonto, como la gingivitis y la periodontitis, en 1745 Pierre Fauchard relacionó lo que hoy se conoce como placa y el sarro o tártaro con la aparición de estas afecciones. En 1773, John Hunter señaló que las gingivitis y piorreas podían repercutir en otras zonas del organismo. En 1890, Willoughby Miller, natural de EE.UU., químico convertido en dentista y que trabajó con Koch en Berlín y posteriormente en la Universidad de Pensilvania, describió, por primera vez, las bases microbiológicas de la caries dental. Publicó el libro *The microorganism of the human mouth* en el que expone la famosa teoría quimioparasitaria, en virtud de la cual los microorganismos, al actuar sobre los hidratos de carbono de la dieta acumulados en la boca, producirían ácidos que desmineralizarían los tejidos duros del diente. El mismo Miller intentó aislar e identificar estos microorganismos bucales, pero tropezó con la dificultad de obtener cultivos puros, debido a la heterogenicidad de esta microbiota. Sin embargo, en 1891, basándose sobre una hipótesis previa de Hunter, formuló otra célebre teoría, la focal, según la cual las bacterias orales podrían, a partir de la boca, originar procesos infecciosos en otros puntos del organismo. No fue hasta años después que se descubrió la asociación de espiroquetas y bacterias fusiformes en procesos infecciosos periodontales por Plaut, en 1894 y Jean H. Vincent en 1896. En 1897, el estadounidense Leon Williams encontró en las zonas con caries incipientes acumulaciones de bacterias, placas, adheridas al esmalte dañado y pensó que la producción de ácidos en dichas zonas eran las responsables del proceso.

Nombre	Fechas	Hechos o descubrimientos relevantes
Antony van Leeuwenhoek	1632-1723	Fue el primero en realizar importantes observaciones con microscopios fabricados por sí mismo.
Robert Koch	1843-1910	<p>Descubrió que las enfermedades contagiosas se debían a microorganismos.</p> <p>El trabajo de Koch consistió en aislar el microorganismo causante de una enfermedad y hacerlo crecer en un cultivo puro. El cultivo puro fue utilizado para inducir la enfermedad en animales de laboratorio, en su caso la cobaya, aislando de nuevo el germen de los animales enfermos y comparándolo con el germen original.</p>
Joseph Lister	1827-1912	Gracias al descubrimiento de los antisépticos en 1865, Lister contribuyó a reducir en gran medida el número de muertes por infecciones contraídas en el quirófano después de que los pacientes fueran sometidos a intervenciones quirúrgicas.
Louis Pasteur	1822-1895	Estudió también los procesos de fermentación, tanto alcohólica como butírica y láctica, y demostró que se deben a la presencia de microorganismos y que la eliminación de éstos anula el fenómeno (pasteurización). Demostró el llamado efecto Pasteur, según el cual las levaduras tienen la capacidad de reproducirse en ausencia de oxígeno. Postuló la existencia de los gérmenes y logró demostrarla, con lo cual rebatió de manera definitiva la antigua teoría de la generación espontánea. Vacuna contra la rabia,
Paul Ehrlich	1854-1915	Inició la quimioterapia, obteniendo un derivado del arsénico, el salvarsán, eficaz en el tratamiento de la sífilis.
Willoughby Miller	1853-1907	<p>Odontólogo americano Willoughby Miller describió, por primera vez, en 1890 las bases microbiológicas de la caries dental.</p> <p>Trabajó en el laboratorio de microbiología de Robert Koch en Berlín</p>