



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

Importancia Médica e
Industrial de los
Actinomicetos.

TRABAJO MONOGRAFICO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

MANUEL FERNANDO GONZALEZ CRUZ

México, D. F.



1986.

EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

2ej
A9



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE GENERAL

CAPITULO 1 CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS ACTINOMICETOS

- I) Biología de Actinomicetos.....1
- II) Fisiología de Actinomicetos.....16
- III) Ecología de Actinomicetos.....27
- IV) Clasificación de Actinomicetos
por su composición química.....39

CAPITULO 2 IMPORTANCIA MEDICA DE LOS ACTINOMICETOS

- I) Taxonomía Médica de los Actinomicetos.....54
- II) Características macroscópicas y microscópicas
de los Actinomicetos de Importancia Clínica.....62
- III) Pruebas bioquímicas para la diferenciación
de Actinomicetos de Importancia Médica.....73
- IV) Enfermedades causadas por Actinomicetos.....81
- V) Identificación de Actinomicetos como
agente etiológico.....99
- VI) Tratamiento de las enfermedades causadas
por Actinomicetos.....105

CAPITULO 3 IMPORTANCIA INDUSTRIAL DE LOS ACTINOMICETOS

- I) Producción de Antibioticos por Actinomicetos....117
- II) Otros metabolitos sintetizados por Actinomicetos140

CONCLUSIONES.....145

BIBLIOGRAFIA.....148

PREFACIO

En años recientes se ha estudiado con creciente interés al grupo bacteriano de los actinomicetos debido a las características de crecimiento y reproducción tan especiales que presentan, así como por las acciones benéficas y perjudiciales que producen en su interrelación con el hombre y otros seres vivos. Es el objetivo del presente trabajo presentar un panorama amplio y actual sobre el estudio de estos microorganismos, por lo que se ha dividido este en 3 capítulos.

El capítulo 1 hace mención de las características morfológicas, fisiológicas y clasificación de los actinomicetos, también presenta su relación con otros organismos y su medio ambiente.

El capítulo 2 se refiere principalmente a los actinomicetos patógenos para el hombre, prestando especial atención a las características macroscópicas y microscópicas, morfología colonial, y pruebas bioquímicas para la identificación de estos como agente etiológico, asimismo se exhibe la sintomatología y patología de las principales enfermedades causadas por estos organismos y su tratamiento ulterior.

La importancia industrial de estos microorganismos es analizada en el capítulo 3 ocupando un lugar preponderante la producción de antibióticos, pero sin olvidar otros metabolitos secundarios que empiezan a ser explotados a gran escala.

CAPITULO 1

•CARACTERISTICAS GENERALES DE
LOS ACTINOMICETOS.

I) BIOLOGIA DE ACTINOMICETOS

1.1 CARACTERISTICAS BIOLÓGICAS DE ACTINOMICETOS

Los actinomicetos son un grupo heterogéneo de organismos los cuales poseen propiedades tan especiales que ha despertado en la actualidad un creciente interés por su estudio, gracias a estas investigaciones se pudo determinar que estos microorganismos son bacterias filamentosas gram positivas. Asimismo es importante destacar que los actinomicetos presentan características que los relacionan con el reino fungi por lo que por mucho tiempo fueron considerados como hongos, y aún en la actualidad son estudiados en diversos cursos y libros de Micología Médica.

a) Propiedades bacterianas

El hecho de catalogar en la actualidad a los actinomicetos como bacterias se debe a la estrecha relación existente entre estos microorganismos y las bacterias "verdaderas" en cuanto a funciones y propiedades que a la vez los separan del fungi, por ser distintas o no ser demostradas su existencia; entre ellas podemos citar:

- 1) El diámetro de la hifa de los actinomicetos corresponde a la magnitud bacteriana de aproximadamente una micra, lo cual fue demostrado con el advenimiento del microscopio electrónico.
- 2) Son procariotes al igual que la célula bacteriana, ambos muy distintos de la estructura eucariótica fungi.
- 3) Las similitudes citológicas entre las bacterias "verdaderas" y actinomicetos incluyen el tipo de flagelo formado, el cual permite la movilidad exhibida por algunas especies de actinomicetos.

- 4) Al igual que existen bacterias anaerobias estrictas también especies de el género Actinomyces lo son.
- 5) Los actinomicetos son sujetos al ataque de numerosos fagos los cuales son similares en su morfología y en su acción o ataque hacia las bacterias verdaderas", en contraste hay pocos reportes de ataque a virus y hongos.
- 6) Son sensibles en general a la acción de antibióticos efectivos contra bacterias gram positivas y son resistentes a la acción de antibióticos estrictamente antifúngicos como los polienos.
- 7) El descubrimiento por Avery y Blank (63), de que la pared celular de actinomicetos no contaba con quitina o celulosa, sugería fuertemente que su pared celular tenía una composición química similar a la del tipo bacteriano. Esta hipótesis fue demostrada por otros investigadores en 1956, cuando encontraron que los actinomicetos tenían pared celular químicamente relacionada a bacterias gram positivas cuya pared estaba compuesta de mucopéptidos y péptidoglicanos.
- 8) Estudios de la relación inmunológica entre bacterias y actinomicetos confirman la cercanía antigénica de muchas especies de Mycobacterium, Nocardia y Corynebacterium.

b) Propiedades fúngicas

Entre las características propias del reino fungi existentes en los actinomicetos y por las que fueron considerados en algún tiempo como hongos, cabe destacar:

1) Las enfermedades que ellos causan como los micetomas y nocardiosis tienen una patología similar a las micosis.

2) Formación de filamentos vegetativos y aéreos o reproductivos que son estructuralmente similares a los formados por hongos

3) Formación de esporas, las cuales tanto funcionalmente como estructuralmente son muy parecidas a las formadas por hongos.

Debido a la importancia exhibida por las esporas de actinomicetos como órganos de reproducción y latencia es que el resto del inciso I trata con detalle su formación y propiedades.

1.2 FORMACION, PROPIEDADES Y GERMINACION DE ESPORAS DE ACTINOMICETOS

Los actinomicetos se caracterizan como únicos entre los organismos procarióticos en dos aspectos: la diversidad de su morfología y de sus productos metabólicos. El mas reciente ejemplo de esta aseveración es la abundancia de antibióticos producidos principalmente como metabolitos secundarios en la última etapa de crecimiento. Algunas de esas moléculas de antibióticos existen completamente como estructuras complejas, comprometidas con complicadas rutas biosintéticas. Mas de el 90% de los antibióticos conocidos son producidos por actinomicetos, estos son también importantes por su producción de pigmentos, enzimas exocelulares, y de compuestos terpenoides que dan a la tierra su característica de olor.

La diversidad morfológica de actinomicetos se debe a su estrategia reproductiva la cual concluye con la formación de una variedad de esporas. Cross (59), determino que el tipo de esporas corresponde generalmente a la especie de la que proviene, ej: elementos cocoides en Streptomyces, esporas endógenas en Thermo-

actinomyces y las zoosporas móviles de varios miembros de la familia Actinoplanaceae.

Este desarrollo tan inusual en cuanto a diversidad de formas y funciones de estos organismos, es debido a que ellos se han adaptado a la vida primaria en la Tierra. Uno de los mas fuertes ejemplos de evolución convergente es la similitud en estilo de vida de actinomicetos y el reino fungi.

La presente revisión esta restringida a esporas de Streptomyces, Thermoactinomyces, Actinoplana y Dactylosporangium, porque unicamente las esporas de estos actinomicetos son estudiadas con suficiente detalle.

a) ESPORAS DE STREPTOMYCES

Una apreciación general de el ciclo de vida de Streptomyces es obtenida de un estudio en microscopía electrónica de colonias de S. coelicolor (26). La colonia joven consiste de una malla de micelio de uniforme apariencia, la hifa aérea se desenvuelve directamente de es sustrato superior micelial, y la esporulación comienza después de que la primera hifa aérea aparece, más tarde la nueva hifa crece sobre la primera zona de esporulación y esporula.

Las diferencias existentes entre hifa aérea y vegetativa van más allá de su localización, pues se ha encontrado que ambas son fisiológicamente diferentes. Cuando un Streptomyces sp. fue crecido en la presencia de monóxido de carbono y bajo condiciones anaerobias únicamente el micelio vegetativo, fue producido, la formación de el micelio aéreo se realizó con el cambio de condiciones anaerobias a aerobias. El estudio con el CO₂ sugiere que la citocromo oxidasa es necesaria para la formación de el micelio aéreo (26).

1) Estructura y composición química

Las esporas de Streptomyces son resistentes al agua, la naturaleza hidrofóbica de las esporas parece ser el resultado del alto contenido de lípidos en su superficie, los cuales son alterados con solventes como acetona, etanol y acetato de etilo.

Estudios en microscopía electrónica claramente demuestran que la hifa aérea joven desarrolla una vaina antes de la esporulación. La vaina confiere una configuración característica a la superficie exterior de las diferentes especies de Streptomyces dando apariencias descritas como tersa, verrugosa, espinosa o vellosa compuesta por una red de material fibroso.

Las esporas de S. viridochromogenes son cubiertas por una capa protuberante con espinas que se levantan de la vaina, existen largas varillas de 12 nm de diámetro que se encuentran entre las espinas. Las espinas son compuestas de 5 a 12 varillas hechas cada una de haces de finas fibrillas. El cloroformo, etanol y xileno no afectan la estructura de las espinas lo que sugiere que no son de naturaleza lípidica. Al parecer las considerables variaciones en las propiedades de la capa de la vaina diferencian a las especies de Streptomyces (26). La capa de la vaina de las esporas de S. venezuelae esta compuesta por diminutas varillas de 10 X 100 nm las cuales son removidas por xileno y etanol pero no por agua o CCl_4 .

Las vainas de S. griseus fueron separadas por tratamiento ultrasónico (30), seguido de centrifugación diferencial. La separación resultante de varillas y partículas globulares fueron extraídas con varios solventes y el resultado monitoreado con microscopio electrónico, no se encontraron cambios apreciables por tratamiento con benceno, metanol, xileno, metanol-cloroformo o soluciones normales de ácidos inorgánicos y bases, el tratamiento con acetona

causó disolución parcial de las varillas. El análisis de el material de las vainas revela la presencia de pequeñas cantidades de nitrógeno, carbohidratos y alto contenido de fósforo, únicamente se encontraron pequeñas cantidades de lípidos y proteínas.

El análisis de las varillas que se encuentran en las vainas de S. roseoflavus var. roseofungini (30), indicó la presencia de silicón, calcio, magnesio, ácidos grasos y un antibiótico polieno. Las varillas obtenidas después de remover las esporas por un proceso ultrasónico, fueron sometidas a pruebas cualitativas que demostraron la existencia de azúcares y lípidos pero no de aminoácidos. Por otra parte se encontró que los finisimos túbulos que forman en conjunto la estructura de las varillas se disuelven completamente en acetona, asimismo, la evaporación de la acetona seguida de la adición de agua hace que las estructuras tubulares reaparezcan, este resultado sugiere que los túbulos de las varillas son producidos en un proceso de autoensamble.

En las especies de el género Streptomyces la pared de la espora aparentemente difiere de la pared de la hifa, aunque no existen diferencias cualitativas, si existen diferencias en sus componentes péptidoglicanos. La pared del micelio vegetativo es susceptible a la acción de la lisozima mientras que la de las esporas no. La lisozima, sin embargo, afecta la superficie externa de las esporas de algunas especies de Streptomyces y cambia su movilidad electroforética (62).

Un estudio cualitativo de la composición de la pared de espora y micelio vegetativo de siete especies de Streptomyces (26), usando cromatografía de papel de hidrolizados de esa pared revelaron que en general existen las mismas especies de aminoácidos y azúcares en toda la pared del micelio y espora, a excepción del ácido aspártico presente en la pared de la espora pero no en la pa-

red del micelio. El alto contenido de este ácido en las esporas puede explicar la hipótesis de que la movilidad electroforética de las esporas de *Streptomyces* puede ser atribuible a un exceso de grupos carboxílicos libres.

2) Propiedades de las esporas

Las esporas secas de *S. streptomycini* presentan muy baja respiración cuando son medidas por un radioespirómetro convencional. Cuando son mojadas estas mismas esporas se encontró que la respiración se incrementa. El procedimiento sensitivo del radioespirómetro fue usado para demostrar que las esporas de *S. viridochromogenes* cosechadas en la estación seca se encuentran en un estado latente, pero cuando esas esporas son suspendidas en buffer empiezan inmediatamente a respirar aunque a muy bajo nivel, y esta continúa por varios días durante los cuales las esporas no germinan (62).

El habitat natural de los *Streptomyces* es la tierra. Varios estudios (46,62), sugieren que la mayor parte de ellos se encuentran como esporas. Un amplio estudio del comportamiento de *Streptomyces* en tierra (46), revela que la germinación de esporas es escasa en tierra incubada bajo condiciones naturales y es grande en tierras humedecidas e incubadas en el laboratorio, acelerándose esta germinación cuando se adiciona glucosa. Este estudio demuestra que el crecimiento de estos organismos en tierra es lento, su tiempo de generación es expresado en días o semanas.

Las esporas de *Streptomyces* no son muy resistentes cuando son suspendidas en soluciones acuosas. El tiempo de vida media a 55 C para esporas y micelio vegetativo de *S. fradiae* fue reportado como de 30 y 5 minutos respectivamente. Las esporas de cuatro especies de *Streptomyces* murieron cuando se mantuvieron a 70 C por 10 minutos (62).

Aunque las esporas de Streptomyces son latentes ya que su actividad es menor que la de células vegetales, cuentan con algunas enzimas que metabolizan sustratos endógenos y exógenos. Las esporas de S. streptomycini cuentan con varias enzimas relacionadas con el metabolismo central del carbono, nitrógeno y compuestos fosforados (26).

La actividad específica de algunas enzimas que catalizan reacciones de deshidrogenación es mayor en esporas que en micelio vegetativo joven, por ejemplo, la actividad de la catalasa en esporas de S. streptomycini es varias veces mayor que en micelio vegetativo(46).

Las esporas de varios Streptomyces cuentan con citocromos a, b y c pero su cantidad es significativamente menor comparada con la presente en micelio.

3) Esporulación

Los eventos morfológicos asociados con la esporulación de Streptomyces son bien comprendidos debido a un buen número de estudios de microscopía electrónica. Sin embargo es muy poco conocida la regulación de los procesos fisiológicos involucrados.

La esporogénesis en S. venezuelae va acompañada simultáneamente de formación de septos a intervalos regulares en la hifa aérea (63). El mecanismo de formación de septos en la esporulación de Streptomyces es variable. La microfotografía electrónica de secciones de hifa que esporula de siete especies de Streptomyces revelaron tres patrones o modelos: el tipo uno se caracteriza por envoltura anular, el segundo tipo envuelve depósitos de un material amorfo a intervalos regulares en el interior de la pared de la hifa, una doble capa de material mas denso es producida y convertida en septo, los cuales completan el proceso de división y por último el tipo tres envuelve la formación de una capa sencilla y gruesa (30).

El próximo estadio de la esporulación es el desenvolvimiento de la espóra y modificación de el septo, resultando como consecuencia final la definición de discretas esporas unidas. En el mecanismo 1 y 2 de formación de septos, el material septado forma la pared lateral de las esporas y en el tipo 3 la pared lateral de la espóra es sintetizada de nuevo y el espeso material de la capa es lisado durante la maduración de las esporas (30).

La morfología de las esporas no tiene grandes diferencias con respecto a la hifa aérea, se piensa que las esporas son un especial compartimiento de la hifa, pero funcionalmente sin embargo existe una diferencia: las esporas son estructuras latentes.

La formación de el micelio aéreo y su consecuente esporulación puede ser controlada por genes asociados con plásmidos. La evidencia se basa en la observación del crecimiento de varios Streptomyces en la presencia de acridina o de bromuro de etidio, resultando una alta incidencia de muerte del micelio aéreo. Redshaw (63), inoculó esporas de S. alboniger en un medio complejo que contenía bromuro de etidio, el número de mutantes de micelio aéreo fueron con el tiempo creciendo, el máximo aumento de mutantes (20% del total), fue encontrado después de 5 horas de crecimiento en estas condiciones. De estas, 90% fueron mutantes estables que conservaron la habilidad de formar pigmentos, sus características de olor y un factor que estimulaba la formación de micelio aéreo.

La iniciación de la germinación de esporas en Streptomyces es dependiente de los iones calcio. Las esporas pueden iniciar la germinación en la presencia de tirosina y glucosa en un medio definido con iones calcio (46).

Todos los eventos observados en la germinación son absolutamente dependientes de CO_2 . Los requerimientos de bióxido de carbono son menores cuando se agrega al medio ácido oxalacético o una combinación de intermediarios del ciclo de Krebs. Existe la idea de que la función del CO_2 en la germinación se asocia con rutas anapleróticas del ciclo del carbono. La biosíntesis de macromoléculas ocurre en una rápida cantidad durante el estado temprano de la germinación de esporas de Streptomyces, esta biosíntesis requiere exceso de oxalacetato por vía anaplerótica, y fijación de CO_2 para mantener el ciclo.

Un estudio de los eventos comprendidos en la síntesis de macromoléculas fue hecha durante la germinación de esporas de S. cacaoi (26), la incorporación de timidina, uridina, y fenil alanina en ácido tricloroacético fue seguida durante la germinación de esporas en un medio complejo: la síntesis de RNA (incorporación de uridina) empieza inmediatamente, la síntesis de DNA (incorporación de timidina) se inicia después de 60 minutos y continúa rápidamente, la síntesis de proteínas (incorporación de fenil alanina) fue muy lenta en los primeros 300 minutos para incrementarse posteriormente; los primeros túbulos germinativos fueron evidentes a los 180 minutos.

La rifampicina (100 microgramos/ml) y cloramfenicol (90 microgramos/ml) inhiben completamente la síntesis de proteínas cuando se adiciona al empezar la incubación. La observación de que estos antibióticos bloquean la síntesis de proteínas sugiere la posibilidad de que las esporas contienen moléculas de mRNA no estable.

b) ESPORAS DE THERMOACTINOMYCES

Thermoactinomyces vulgaris, fue aislado primeramente en 1899, se ha reportado que crece óptimamente a 56-57 C y que produce esporas que son resistentes al calor (1). El renacimiento de el interés por estos organismos fue el resultado de la demostración de que sus esporas son formadas endógenamente, y de este modo son endosporas verdaderas que son similares en tolerancia al calor y en otros importantes aspectos a endosporas de Bacillus. Posteriormente se encontró que otro actinomiceto termofílico originalmente nombrado Actinobifida dichotomica forma endosporas refráctiles (1).

1) Estructura y composición

Estudios de microscopía electrónica de esporas de Thermoactinomyces revelaron que la morfología es idéntica a endosporas de Bacillus y Clostridium. Además de la similitud estructural de Thermoactinomyces y esporas de Bacillus también existe una semejanza en cuanto a composición química de las mismas, ambos cuentan con iones Ca y Mg y ácido dipicolínico, sin embargo, la cantidad de este ácido es menor en Bacillus.

2) Propiedades de las esporas

Las esporas de Thermoactinomyces vulgaris son latentes, estudios en el respirómetro convencional, no detectaron niveles de metabolismo endógeno. Se determinó que su nivel de latencia es similar al de endosporas de Bacillus. La carencia de respiración de esporas de T. vulgaris puede ser debida en parte a su bajo contenido de citocromo a (26). Las esporas de Thermoactinomyces sobreviven en períodos de ebullición equivalentes a las que so -

breviven las esporas del género Clostridium (1).

3) Esporulación

Estudios detallados de microscopía electrónica de T. vulgaris y T. sacchari han demostrado que las esporas segregan una doble membrana que contiene material nuclear y citoplásmico. La espora madura tiene un delgado esporangio comprendido por bandas de material fibrilar. La secuencia de eventos envueltos en la esporulación de endosporas de los Thermoactinomyces son similares a los que ocurren en Bacillus y Clostridium. Las semejanzas pueden deberse a una mera coincidencia, pero también es posible que estos géneros tengan un ancestro común.

4) Germinación

Es claro que las endosporas de Thermoactinomyces son constituyentes latentes, se conoce además que las esporas frescas no germinan cuando son incubadas en un medio favorable hasta que son activadas de alguna forma. Varios reportes (62,63), indican que las esporas de Thermoactinomyces vulgaris y Thermoactinomyces dichotomica germinan más rápidamente después de un "shock" de calor a 100 C por 10 minutos.

También se ha encontrado que la activación de las esporas de Thermoactinomyces se puede realizar por exposición a temperaturas bajas, esto significa que el rompimiento del período de latencia en esporas de este organismo es un proceso completamente diferente del que ocurre en las endosporas de Bacillus. Refuerza este argumento la observación de que la activación por frío de esporas de T. vulgaris no es reversible mientras que la activación por calor de esporas de Bacillus si lo es.

c) ESPORAS DE ACTINOPLANACEAE

En 1955 Cauch (59), describió un grupo desconocido de bacterias miceliales, la característica mas importante de estos microorganismos era la formación de esporas las cuales en su mayoría son móviles, y se encuentran dentro de un saco esporangial. Cauch clasificó esta bacteria en la familia Actinoplanaceae y describió los géneros. Estos géneros son divididos en dos grupos basados en un criterio morfológico; el grupo uno se caracteriza por poseer un esporangio esférico o cilíndrico que contiene miles de esporas, los géneros Actinoplana, Spirillospora, Streptosporangium, Ampullariaellá y Pilimelia son clasificados en este grupo. En el grupo 2 se clasifican los organismos que producen de 1 a 4 esporas dentro del esporangio, los miembros de este grupo son Planobispora, Dactylosporangium y Kitasotoa.

Se han hecho pocos estudios detallados de el ciclo de vida de la familia Actinoplanaceae, quizá esto es debido a que los organismos crecen muy lentamente o a que muchos microbiólogos no conocen su existencia o la consideran del terreno fungi. Las esporas de los géneros Actinoplana y Dactylosporangium han sido las más estudiadas por lo que son revisadas en el presente capítulo.

1) Actinoplana

En Actinoplana el desarrollo del esporangio es una extensión continua de la vaina, en este se desarrollan las esporas y se acumula un material amorfo entre las esporas, posiblemente originado de alguna manera de la vaina. El mecanismo básico de formación de esporangiosporas en Actinoplana y elementos coccoides de Streptomyces son similares. El esporangio funciona como una estructura que mantiene una masa de esporas como unidades discretas. Las esporas de Actinoplana y muchas de otros géneros de la familia Ac-

tinoplanaceae son móviles por medio de flagelos.

Higgins (62), establece que las esporas móviles sobreviven por un largo tiempo cuando la glucosa es adicionada a la suspensión buffer. Los túbulos germinativos empiezan a aparecer a las 4 horas de incubación a 37 C.

2) DACTYLOSPORANGIUM

Esta bacteria mide de 0.5 a 1 nm, forma micelio vegetativo pero no micelio aéreo. La estructura esporangial forma 4 esporas de 1.0 por 4-6 nm. de tamaño. Cuando las esporas escapan del esporangio se empiezan a activar, y su movilidad se presenta después de 10 a 15 minutos. Las zoosporas poseen un flagelo polar, Dactylosporangium es una bacteria única en su tipo, en donde dos clases de esporas son producidas; las zoosporas que aparecen en la fase temprana de crecimiento, que no son latentes y funcionan como diseminador del organismos y las esporas latentes que pueden sobrevivir durante largos períodos de desecación, otro ejemplo de actinomicetos que formen dos tipos de esporas no ha sido reportado.

II) FISILOGIA DE ACTINOMICETOS

2.1 COMPOSICION QUIMICA DE PARED CELULAR

Avery y Blank en 1954 (63), encontraron que no existe quitina ni celulosa en la pared celular de actinomicetos. Investigaciones posteriores revelaron la presencia de mucopéptidos en su pared celular. Recientes trabajos por Cummins y Harris (16), en purificados de pared celular dieron a conocer ciertos aspectos en cuanto a la composición de la misma, se encontró que especies de el género Actinomyces podían ser divididas en dos grupos: uno de estos grupos representado por A. israelii y otras especies causantes de infecciones en humanos se caracterizaban por la presencia de lisina y la usencia de ácido diamino pimélico (DAP), el otro grupo representado por A. bovis y especies relacionadas, causantes de infecciones en animales presentaban un ensamblaje homogéneo con respecto a la composición de la pared celular y eran diferente a el primer grupo en cuanto a composición.

Asimismo se encontró que el género Streptomyces es caracterizado por la presencia de ácido alfa diamino pimélico como el compuesto predominante en la pared celular o quizá como el único isómero de ácido diamino pimélico presente. En el género Micromonospora se ha detectado DL-ácido diamino pimélico, LL-ácido diamino pimélico y DD-ácido diamino pimélico, ácido murámico, pero no se ha detectado la presencia de lisina en su pared celular.

Estas observaciones permiten establecer que los actinomicetos no exhiben relacion con el reino Phylus en la composición de la pared celular, siendo evidente su relación con las bacterias en este aspecto, ya que existe una similitud marcada en el patrón de aminoácidos y azúcares, en la presencia de ácido diamino pimélico lisina y la presencia de ácido murámico.

La presencia de lípidos es sugerida por Krasilnikov (57), en las paredes celulares de el micelio aéreo en Streptomyces sp. observado por microscopía electrónica. El análisis de aminoácidos libres en el micelio de Streptomyces sp. es reportado por Bekhtereva (4), la proporción relativa de aminoácidos es afectada por la edad del cultivo y por el medio de crecimiento usado en este estudio se determinó la presencia de aminoácidos esenciales para nutrición animal en cepas silvestres de Streptomyces sp.

Clark y Aldridge (16) demostraron la presencia de lípidos en micelio joven de Nocardia corallina que desaparece posteriormente y reaparece en cultivos viejos, su significado metabólico no ha sido determinado. En Nocardia asteroides un nuevo lípido, ácido nocárdico ha sido descrito por Michel (16), y en la misma especie una fracción lipoproteínica se ha aislado, la cual funciona como una pared o membrana constituyente.

2.2 CRECIMIENTO

Cochrane y colaboradores (16), describieron el crecimiento de Streptomyces aureofaciens. Dos fases son distinguibles: una fase de rápido crecimiento, síntesis de proteínas y ácidos nucleicos que se presenta inmediatamente después de que el organismo se ha adaptado a el medio de cultivo y las condiciones imperantes denominada Fase Activa, y una segunda fase de lento crecimiento al final de la cual la cantidad de proteína y RNA decrece presentándose la autólisis denominada Fase de Muerte.

Se determinó que las células de las dos fases de crecimiento son morfológicamente distintas, el micelio en la fase de muerte es extremadamente delgado. El ciclo sin embargo es marcadamente cambiante por suplementación de el medio complejo con fosfato inorgánico.

Aunque la regla general establece que la producción de antibióticos en actinomicetos ocurre al final de la segunda fase de crecimiento, la excepción a esta regla lo constituye Streptomyces purpurascens que lo produce en la primera fase.

El cambio de un medio complejo a otro medio de composición distinta para el crecimiento de actinomicetos puede alterar el número de microorganismos y la duración de las fases mencionadas. Mas específicamente el fosfato tiene varios efectos, en S. griseus fue establecido por Brinberg (16), que el fosfato en altas concentraciones reduce la producción de estreptomicina y acelera la utilización de carbohidratos. El efecto del fosfato en S. rimosus y S. griseus ejerce en primera instancia la supresión de la segunda fase de crecimiento. Parece probable que para ambas especies el agotamiento de fosfato es el que determina el final de la primera fase de crecimiento (Fase Activa), e iniciación de la segunda fase (Fase de Muerte).

Como se ha mencionado anteriormente en cepas de Streptomyces sp. se ha encontrado que la segunda fase de crecimiento termina con la autólisis por la incapacidad del organismo de llevar a cabo la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos. Los estudios realizados por Lapteva (62), revelaron que la adición de calcio, barbital y compuestos relacionados retardan la autólisis, pero su mecanismo no ha sido determinado.

2.3 METABOLISMO DEL CARBONO

Se conoce desde hace tiempo la habilidad de los actinomicetos para crecer en condiciones muy pobres, por eso no es de extrañar que las investigaciones al respecto arrojen resultados sorprendentes. Painter (16), aisló organismos hábiles para crecer aerobícamamente en silica gel con cianuro como unica fuente de carbono.

Kuznetsov (60), describe que hay Streptomyces autotróficos que crecen lentamente en un medio salino con hidrógeno como fuente de energía y dióxido de carbono como la fuente de carbono. Esta propiedad de los actinomicetos de crecer en practicamente nada es debida a la gran carga enzimática que poseen. Kalakutskii (46), encontro que una quitinasa extracelular es producida por Streptomyces sp. en un medio con quitina, la enzima aparece libre en el cultivo fluido después de la hidrolización de la quitina.

1) La respiración en Actinomicetos

Existen estudios no sistemáticos de respiración endógena en actinomicetos, pero algunas observaciones de estos trabajos es importante mencionarlas: Kollar (46), establece una inhibición sustancial de la respiración en Streptomyces griseus por cianuro y arsenato. Pettko (16), establece varios elementos como Cd, Cu, Pb y Zn como inhibidores y Fe, Mn como estimuladores de la respiración de S. aureofasciens. La respiración endógena de Streptomyces griseus es reducida por falta de nutrientes, y S. nitrificans de acuerdo al trabajo de Cahatz (16), es fuertemente afectado por el medio en el cual las células son crecidas.

El género Streptomyces es usualmente asumido como aerobio estricto, aunque Aslanyan (2), describe dos especies como facultativas. Los experimentos con métodos adecuados para una completa anaerobiosis hechos por Aslanyan (2), indican en S. griseus una apreciable fermentación endógena en buffer de bicarbonato.

2) Mecanismo de la Respiración

La aparición de una cantidad relativamente grande de ácido láctico como producto de metabolismo de glucosa en condiciones anaerobias por especies de Actinomyces, sugiere que la degradación de

esta fuente de carbono se lleva a cabo por la ruta de Embden-Meyerhof. Las especies de Streptomyces comunmente forman ácido pirúvico en condiciones aeróbicas, pero se ha encontrado en Streptomyces griseus la formación de una pequeña cantidad de ácido láctico en condiciones de aereación restringida.

Una fuerte evidencia de que algunos actinomicetos obtienen su energía por la ruta metabólica de Embden-Meyerhof, lo constituye el trabajo de Cochrane (16), el cual describió la presencia en S. coelicolor de fosfofructoquinasa, aldolasa, triosafosfatoisomerasa, fosfogliceril quinasa, enolasa y etanol deshidrogenasa. Las enzimas conocidas de la ruta de la oxidación del fosfogluconato se han detectado en S. olivaceus y S. aureofaciens por Kalakutskii (46).

Los estudios realizados en las rutas de Embden-Meyerhof y de las pentosas han determinado que estas son afectadas por el nivel de fosfato, se ha encontrado que una alta concentración de fosfato deprime la conversión de ribosa-5-fosfato a hexosa y heptosa fosfato, se sugiere por lo tanto que la ruta de Embden-Meyerhof es favorecida por fosfato y que la segunda fase de crecimiento en estas especies, en las cuales la clorotetraciclina es formada, es dominada por la ruta de las pentosas.

En la biosíntesis de estreptomina, estudiada por Waksman (113), la cantidad de carbonos marcados de glucosa que ingresan en la formación de la alfa glucosamina sugiere que la ruta de las pentosas es responsable de proporcionar una mayor parte de los intermediarios en la transformación.

Se encontró evidencias del ciclo del ácido tricarbóxico en Streptomyces sp. en estudios de extractos crudos y en experimentos con radioisótopos.

Se ha establecido que los extractos de Streptomyces sp. oxidan

los ácidos presentes en el ciclo; los estudios con isótopos marcados en Streptomyces griseus han contribuido mas directamente a la creencia de que el ciclo del ácido tricarbóxico juega un papel importante en actinomicetos.

La incorporación de acetato en el glutamato y la aparición relativa de dióxido de carbono a partir de acetato son fuertes evidencias de que esto ocurre.

Cochrane (16) también establece que la incorporación de dióxido de carbono es consistente con la formación de compuestos de 4 carbonos al conjugarse con un compuesto de 3 carbonos tal como ocurre en el ciclo de Krebs, donde la adición del bióxido de carbono a el fosfoenolpiruvato termina con la formación de oxalacetato.

Donets (21) reporta la existencia en varias especies de Streptomyces de citocromos a, b, y c. Las determinaciones espectroscópicas en Streptomyces purpurens indican la presencia de 4 componentes: a_1 , a_3 , b y c. La inhibición de la respiración con cianuro sugiere que el sistema de citocromos forma parte del mecanismo de la respiración terminal.

Por otra parte no ha sido posible establecer la presencia de coenzima Q (ubiquinona) en Streptomyces griseus pero Cochrane (16), estableció la presencia de una gran cantidad de vitamina K, esto sugiere que el transporte de electrones (papel de la coenzima Q en la cadena respiratoria), puede ser suplida en estos organismos por la vitamina K.

2.4 METABOLISMO DE ACIDOS GRASOS

Donets y colaboradores (21), han determinado los ácidos grasos formados por Actinomyces sp. como propionatos y acetatos, en Actinomyces israelii, el ácido en mas altas concentraciones fue el

propionato. Kosheleva (54), ha establecido que el ácido propionico es el principal fermento (producto) de Micromonospora propionici.

Bekhtereva (4), identificó acetato, butirato y valerato por cromatografía de papel de varios Streptomyces aislados. Los estudios hechos por Cochrane (16), sobre oxidación de octanato por Streptomyces aureofaciens sugiere la ruta de la beta oxidación como camino en el metabolismo de ácidos grasos y que ha sido establecida en otras bacterias. Se ha investigado la oxidación de Nocardia opaca donde los ácidos fenil acético, fenilbutírico y fenil caproico son oxidados por extractos de actinomicetos a o-hidroxifenil acético.

La importancia práctica de los esteroides se ha estimulado por una larga serie de trabajos en este campo. Kosheleva (54) en 1981 estudió la habilidad de Streptomyces hydrogenans para reducir 20 cetoesteroides a el correspondiente beta hidroxicompuesto. La reacción es estereoespecífica, el alfa-hidroxi análogo nunca aparece la enzima responsable de esta reacción la beta hidroxí esteroide deshidrogenasa se ha purificado y cristalizado por esta investigadora. Los recientes trabajos han demostrado que los actinomicetos pueden utilizar esteroides como fuente de carbono con degradación completa.

Cochrane y Alexander (16), estudiaron el metabolismo de ácidos grasos halogenados, estos investigadores encontraron que este tipo de ácidos experimentan deshalogenación y oxidación previos a la descomposición.

La acetona aparece como un menor producto metabólico en estudios hechos por Donets (21), en Nocardia salivae la formación de acetona es incrementada por fosfato en altas concentraciones y por arsenito.

2.5 METABOLISMO DEL NITROGENO

Se ha demostrado la fijación de nitrógeno en Nocardia cellulans comparable en cantidad a Azotobacter, también fue encontrada esta fijación en Nocardia calcarea por Fedorov (16), Quispel (16), encontró endomicorrizas fijadoras de nitrógeno en Alnus glutinosa pero no se ha establecido con certeza si este organismo es un actinomiceto.

Nitrificación

En la mayor parte de Streptomyces la nitrificación es muy común. Lechevalier (63), aisló Streptomyces nitrificans que oxida amonio y urea con formación de nitritos, los trabajos subsecuentes establecen que el mismo organismo oxida hidroxilamina a nitritos.

Metabolismo del nitrato

La reducción del nitrato es común pero no universal en los actinomicetos. Se ha encontrado que el nitrito es generalmente tóxico en una concentración apreciable. Fedorov (16), reporta crecimiento anaeróbico lento de Streptomyces sp. en presencia de nitrato y la formación de nitrato, a partir de nitrógeno gaseoso.

Utilización de nitrógeno orgánico

Una de las primeras fuentes de nitrógeno orgánico lo constituye la urea, los trabajos al respecto han mostrado crecimiento con urea como única fuente de nitrógeno en Nocardia asteroides y Streptomyces sp., asimismo se ha detectado la presencia de ureasa en micelio de Streptomyces griseus determinandose como una enzima inducible. 0

Otras fuentes de nitrógeno ampliamente utilizada por actinomicetos incluyen a los aminoácidos, especialmente por especies termofílicas, también son usados el cianuro, ácido húmico y uracilo como fuente de nitrógeno.

El metabolismo de los aminoácidos en la mayor parte de los actinomicetos se lleva a cabo por deaminación, sin embargo, es necesario considerar también la presencia de transaminasas en especies como Nocardia, loberula, Streptomyces sp. y Streptomyces scabies.

2.6 BIOSINTESIS EN ACTINOMICETOS

La búsqueda de nuevos antibióticos ha dado lugar a tomar con creciente importancia al grupo de actinomicetos por su amplia variedad de sustancias de este tipo que producen.

Actinomicinas

La actinomicina producida por varias especies de Streptomyces son péptidos heteroméricos y cuentan con un grupo cromóforo designado como actinocina. Merenhofler (68), sugiere por evidencias químicas que las actinomicinas pueden ser formadas en la naturaleza por condensación oxidativa de dos péptidos, uno de los cuales es el triptófano, el cual es convertido a ácido 3-hidroxi antra-nílico. El papel que juega el triptófano en esta biosíntesis se indica por la observación de que los análogos de este aminoácido inhiben la síntesis de actinomicina y que esta es reversible por la adición de triptófano.

Estreptomicinas

Existen varias especies de Streptomyces productoras de estreptomicinas. Waksman (113), aisló N-metil glucosamina de estreptomi-

cina formada con glucosa-1P y glucosa 6-P, se piensa por este resultado que el proceso de formación de la estreptomycinina envuelve eventos de la ruta oxidativa del fosfogluconato con posterior epimerización pero el mecanismo final no ha sido descrito.

Vitamina B₁₂

La síntesis de vitamina B₁₂ ha sido podido determinarla en muchas especies de Streptomyces, destacando por la producción de esta vitamina S. olivaceus (71), estudios hechos en ésta biosíntesis establece la importancia de la aereación controlada para producir esta vitamina en la cantidad esperada, pues una aereación baja provoca producción de pseudovitamina B₁₂, con propiedades totalmente diferentes a la vitamina natural.

2.7 NUTRICION MINERAL

Al revisar la bibliografía se encontró que de los minerales mas estudiados como factor de crecimiento se encuentran el hierro y el cobre en sus diversas formas, los mejores conocidos son el cuprógeno y los ferricromos. Aristarkhova (1), ha reportado experimentos cuantitativos que establecen los requerimientos de N. opaca para Mn, Fe y Zn. Y se ha encontrado que Streptomyces sp. requiere Fe, Mn y Cu. Cochrane (16) ha concluido que un grupo de antibióticos como la-griseína, albomicina y las ferrimicinas pueden ser clasificadas como sideromicinas los cuales se ha encontrado que juegan un papel importante en el transporte de electrones, las ferrioxaminas y ferricromos se identifican como sideraminas y se caracterizan por su habilidad para dosificar la cantidad de las sideromicinas en las reacciones bioquímicas y evitar su toxicidad.

III) ECOLOGIA DE ACTINOMICETOS

Los actinomicetos son un grupo de bacterias filamentosas gram positivas que como todo ser vivo interaccionan con el medio ambiente donde se desarrollan, y como producto de su actividad, modifican, aportan o enriquecen el ecosistema con acciones que resultan benéficas como por ejemplo, la fijación de nitrógeno en plantas leguminosas, sabores y olores en agua potable, degradación de plantas y animales muertos y reciclización de la materia orgánica. Asimismo debemos citar que los actinomicetos en su relación con el hombre, plantas y animales causan también diversas enfermedades que perjudican y producen pérdidas en el terreno socioeconómico. Por tal razón el presente trabajo tiene la finalidad de explicar las relaciones existentes entre los actinomicetos y el medio ambiente donde se desarrollan.

3.1 CLASIFICACION FISIOLOGICA DE ACTINOMICETOS

Los actinomicetos fueron clasificados durante años de acuerdo a un criterio morfológico, considerandolos usualmente como bacterias con habilidad para formar hifas, pero este atributo no es siempre suficiente para distinguir actinomicetos de algunas otras bacterias gram positivas. En realidad la clasificación exacta y límite del orden Actinomycetales no ha sido posible señalarla, sino que esta sujeta a modificaciones por aplicación de nuevos métodos taxónomicos. El orden Actinomycetales ha sido redefinido en la parte 17 de la octava edición de Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.

Algunos géneros de actinomicetos forman esporas (ver inciso I), las cuales son resistentes a la desecación y calor suave pero no tienen la organización y marcada resistencia de las endos-

poras de bacterias "verdaderas", la mayor parte de ellos son saprófitos, pero algunas formas son parásitas o tienen asociaciones mutualistas con plantas y animales.

Los actinomicetos juegan un papel importante en la reciclización de nutrientes, pero poco se conoce acerca de la distribución, población, dinámica, propiedades degradativas, supervivencia, dispersión y de los factores que gobiernan la germinación. Este estado en el estudio de la Ecología de Actinomicetos es atribuible a sistemas pobres y a carencia de técnicas selectivas de aislamiento. Sin embargo en los últimos años se han hecho progresos en este aspecto con la introducción de nuevos procedimientos selectivos de aislamiento.

Una combinación de morfología, química, características de esporas y relaciones ecológicas fueron usadas por Goodfellow y Williams (38), para realizar la siguiente clasificación.

Clasificación de Actinomicetos

Grupo agregado o total	Características	Género
Actinobacteria	Aerobio, facultativo o anaerobio, crece como bacilos, cocos o forma filamentos que fragmentan en micelio no aéreo composición de pared celular variable.	Actinomyces, Agromyces, Arthrobacter, Brevibacterium, Cellulomonas, Microbacterium, Micrococcus, Oerskovia, Micromonospora
Actinoplanetes	Aerobios, esporas no micelio no aéreo, pared celular quimiotipo II (glicina y meso DAP).	Actinoplana, Pilimelia, Dactylosporangium, Amorphosporangium.

Grupo agregado o total.	Características	Género
Maduromycetes	Aerobios, esporas móviles o no móviles, pared celular que cuenta con madurosa.	Actinomadura, Microbispora, Planobispora, Planomonospora, Streptosporangium.
Micropolispora	Aerobios, presenta senillos y cortos cambios de esporas, pared celular no contiene ácidos micólicos.	Actinopolyspora, Micropolyspora, Pseudonocardia, Sacharopolyspora.
Multiocular	Aerobios o facultativo micelio dividido en todos planos, pared celular tipo III (meso-DAP).	Dermatophilus, Frankia Geodermatophilus.
Nocardioform	Aerobios, pueden ser ácido alcohol resistentes, pared celular tipo IV (meso-DAP), arabinosa y galactosa).	Caseobacter, Corynebacterium, Mycobacterium, Nocardia, Rhodococcus.
Streptomycetes	Aerobio, pared celular tipo I (glicina y L-DAP)	Intrasporangium, Kitasotoa, Nocardioides, Streptomyces.
Thermomonosporas	Aerobio, esporas móvil o no móviles, pared celular tipo III (meso-DAP).	Nocardiosis, Thermomonospora, Actinosinema.

3.2 AISLAMIENTO DE ACTINOMICETOS

Los actinomicetos existen en su habitat natural en estados metabolicamente activos o relativamente inactivos. En algunos géneros este estado puede ser diferenciable con precisión por la diversidad morfológica entre la condición activa e inactiva como ocurre en especies de el género Actinoplana, Maduromyces y Streptomyces en otros generos esta diferenciación no es posible pues no forman micelio ni esporas estables por lo que su aislamiento presenta algunos problemas.

No existe en la actualidad un método lo bastante confiable o selectivo para el aislamiento de actinomicetos, y se ha tenido que recurrir a una serie de técnicas basadas en las características de el (los) género (s) de actinomicetos a aislar. El tratamiento térmico se ha usado para el aislamiento de Actinomadura, Microbispora, Streptomyces y Rhodococcus; la habilidad de las esporas para soportar la desecación se ha usado para aislar Actinoplana; asimismo la membrana de filtración con posterior centrifugación se ha usado para llevar a cabo el aislamiento de actinomicetos en muestras marinas, y la agitación de material seco facilita el aislamiento de actinomicetos termofílicos (38). Por otro lado también es frecuente la utilización de medios de aislamiento selectivos (por control de su composición química y por adición de inhibidores). Muchas formulaciones se han recomendado para el aislamiento de uno o mas géneros de actinomicetos, el medio mas frecuentemente utilizado incluye quitina, sales minerales, caseína y agar, estos compuestos se han seleccionado empíricamente.

La gran mayoría de actinomicetos crecen en un medio con pH cercano a la neutralidad, pero también se han efectuado aislamientos a pH ácidos entre 4-5. Los antibióticos también se han utilizado en medios selectivos, las sustancias antifúngicas no inhiben el crecimiento de los actinomicetos, pero el uso de antibióticos antibacterianos es restringido pues varios de ellos también afectan a los actinomicetos, la temperatura de incubación regularmente usada en el aislamiento es de 25-30 C o de 45-55 C para actinomicetos termofílicos. La mayoría de los géneros desarrolla en 14 días (5 días para termofílicos), sin embargo existen especies de crecimiento lento que han necesitado períodos de incubación de hasta 4-6 meses.

3.3 DISTRIBUCION, CRECIMIENTO Y FUNCIONES DE ACTINOMICETOS EN EL SUELO.

Los actinomicetos forman parte de las poblaciones microbianas de muchos suelos y recuentos de más de un millón de actinomicetos por gramo de suelo son obtenidos comunmente. Por lo anterior es también la mas prolífica fuente de actinomicetos productores de antibióticos y otros metabolitos útiles.

a) Crecimiento

El crecimiento de Streptomyces en tierra se ha estudiado por técnicas microscópicas (constituyen el 90% de actinomicetos presentes en el suelo), en estos análisis se ha observado a estos organismos en largos periodos en forma de esporas, las cuales germinan ocasionalmente en presencia de nutrientes exógenos: particularmente sustratos orgánicos tales como fragmentos de plantas e hifas fúngicas muertas, las cuales son rápidamente colonizadas por el micelio de Streptomyces que produce prontas esporas sobre el sustrato.

Los géneros no esporulados de Actinobacteria tal como Arthro-
bacter probablemente existe por largos períodos como formas
cocoides.

El ciclo de crecimiento de actinomicetos en la tierra es si-
milar al de otros muchos microorganismos que se desarrollan en
este habitat, restringidos por la presencia o ausencia de nutrien-
tes y por factores del medio ambiente que también ejercen su
influencia. La temperatura es uno de los factores más importantes,
muchos actinomicetos se revelan como mesofílicos con rango de
25-30 C, asimismo otro factor determinante en el crecimiento de
actinomicetos es el pH, la gran variedad en el pH de los suelos
ha determinado un rango muy amplio de crecimiento para estos orga-
nismos con límites de 3 a 9.

La arcilla y los coloides húmicos influyen también en la dis-
tribución de los actinomicetos, ejemplo de ellos es que las es-
poras de Streptomyces se adsorben sobre Caolin pero no sobre
montorillonita. La adición de Caolin a cultivos de Streptomyces
Micromonospora y Nocardia estimulan su crecimiento y respiración
(38).

b) Degradación de polímeros

El grupo bacteriano con mas capacidad de degradación de com-
puestos complejos y polímeros que se encuentran en plantas, ba-
sura y tierra son los actinomicetos, los cuales también tienen
la habilidad para degradar compuestos hechos por el hombre que
pueden resultar contaminantes.

Las lignocelulosas son las mayores componentes de residuos
de plantas y los estudios por Williams (38), al respecto han
demostrado el papel de estos organismos en su degradación.

Los actinomicetos, especialmente los Streptomyces se ha encontrado que poseen la capacidad de degradar muchos polímeros presentes en el suelo como son la hemicelulosa, pectina, queratina y quitina.

Los actinomicetos pueden responder también responder al estímulo de compuestos no naturales introducidos a la tierra por el hombre, N. asteroides y Rhodococcus sp. fueron aislados frecuentemente de residuos de petróleo (38) y de las Actinobacterias tales como Arthrobacter se han reportado degradación de hidrocarburos (63).

Los pesticidas y herbicidas tienen diversos efectos en actinomicetos, estos fueron inhibidos en tierra y cultivo por fungicidas halogenados, sin embargo la acción del DDT no causo efectos significativos en estos organismos, por el contrario se encontró que una especie de Nocardia, N. corallina degrada el DDT adicionado al medio de cultivo, utilizandolo como fuente de carbono y nitrógeno.

Otra función importante que realizan los actinomicetos aparte de su capacidad degradativa es la de el control de enfermedades de plantas. Se ha encontrado que algunos Streptomyces pueden proteger raíces de plantas por inhibición de desarrollo de hongos patógenos, lo cual puede debe se a producción de antibióticos antifúngicos.

3.4 CRECIMIENTO DE ACTINOMICETOS EN COMPOSTAS Y MATERIALES RELACIONADOS.

La descomposición de ese rico sustrato conocido como composta es debida a la acción de microorganismos mesofílicos (incluyendo actinomicetos), aunque también las condiciones ideales de calor

proveen la condición necesaria para rápido crecimiento de actinomicetos termofílicos.

Los actinomicetos termofílicos crecen frecuentemente en estiércol, heces de cerdo y pajas, los principales géneros encontrados son Micropolyspora, Thermomonospora y Pseudonocardia. Los actinomicetos mesofílicos se han encontrado en aguas de alcantarilla ejemplo de ellos son Streptomyces y algunas especies de Rhodococcus.

Las esporas de varios actinomicetos se desarrollan en materiales como heno, forraje y granos, y son causantes de enfermedades respiratorias cuando son inhaladas. Se ha encontrado por ejemplo, que de 1.6×10^9 esporas/m³ de heno, 98% de ellas correspondían a actinomicetos, y en cebada húmeda también se han reportado altas concentraciones (38).

3.5 LOS ACTINOMICETOS EN MEDIO AMBIENTE ACUATICO

Los actinomicetos están extensamente distribuidos en habitats acuáticos, pero este hecho no implica que ellos son parte de la microflora nativa o indígena, pues existe la posibilidad de "lavado" de habitats terrestres.

a) Habitats de agua dulce

Los géneros Actinoplana, Micromonospora, Rhodococcus, Streptomyces y endosporas de Thermoactinomyces son fácilmente aislados de depósitos naturales de agua dulce. Organismos pertenecientes al género Actinoplana son comúnmente encontrados en suelo, ríos y lagos y se les asocia con frecuencia a la descomposición vegetal, especialmente de restos de leña.

Una explicación de la presencia de Actinoplana sobre residuos de vegetación en las orillas de lagos y riachuelos fue provista por

Cross (26), cuando estableció que las esporas de estos organismos pueden soportar una desecación prolongada, pero cuando son rehidratadas liberan sus esporas móviles, estas zoosporas requieren una fuente de energía exógena la cual es proporcionada por los restos de vegetación.

El género Micromonospora fue considerado por Wagman (112) como parte de la flora nativa de agua dulce y encontró que los miembros de este género son capaces de degradar celulosa, quitina y lignina en tales ambientes. Varios trabajos posteriores confirman la presencia de Micromonospora en riachuelos, ríos, sedimentos de lagos y ríos.

Algunos investigadores han establecido la existencia de Streptomyces acuáticos y Goodfellow (38), indica la presencia de S. faecalis, Rhodococcus, A. madurae, Microbacterium, Arthrobacter, y Nocardia como habitantes de agua dulce.

Existen evidencias de que los actinomicetos en agua dulce pueden ser activos por la presencia de sustratos y condiciones adecuadas de crecimiento. Los microorganismos del género Actinoplana puede crecer sobre despojos de plantas hallados en ríos, Micromonospora se encuentran en pilas de madera y N. asteroides crece sobre caucho sobrenadante en aguas de río y en aguas de alcantarilla (38).

b) Sabor y Olor en agua potable

Por muchos años Streptomyces y otros actinomicetos han sido sospechosos de ser los principales agentes causales del sabor y olor en tierra que en algunos tiempos se presentan en el agua potable. Muchos de los compuestos volátiles envueltos en este proceso de olor fueron caracterizados y aislados.

Las investigaciones relacionadas con la química y distribución

fueron supervisadas por Goodfellow (38), el cual encontró un compuesto denominado por el mismo "geosmina", el cual imparte un olor de tierra mojada a concentraciones de hasta 0.22 partes por millón (ppm). Este compuesto se ha detectado en cultivos de Streptomyces, Williams (38), enfatiza que tal compuesto puede ser únicamente producido durante o después del crecimiento activo de la hifa, a lo cual se debe los períodos de producción de olor en agua. Además los despojos de plantas y animales en agua proveen los sustratos para crecimiento de actinomicetos y producción de la geosmina.

c) Habitats Marinos

Los actinomicetos son mencionados ocasionalmente en algunos estudios sobre la comunidad microbiana en habitats marinos. La ecología de actinomicetos en el mar y los litorales se ha revisado por Goodfellow (38), el cual establece que los actinomicetos forman una pequeña fracción de la flora bacteriana en habitats marinos y sus recuentos son bajos si se comparan con los recuentos obtenidos en habitat terrestre y agua dulce.

Algunos investigadores consideran que los actinomicetos son parte de la microflora marina, mientras otros piensan que son producto de el lavado de componentes terrestres que arrastran a los actinomicetos hacia litorales marinos y que sobreviven como esporas. Esta "aseveración" se basa en la observaciones de que el número de actinomicetos en este medio decrece con el incremento de la distancia hacia la tierra.

Entre las funciones conocidas que realizan los actinomicetos en este lugar se encuentra la degradación de agar, alginatos, celulosa, quitina, petróleo y otros hidrocarburos.

3.6 LOS ACTINOMICETOS PATOGENOS

a) Fitopatógenos

Las bacterias fitopatógenas son generalmente gram negativas pero un número significativo de enfermedades de plantas son causados por actinomicetos, principalmente las especies de los géneros Actinobacteria, Streptomyces y otros actinomicetos que son ocasionalmente implicados como agentes etiológicos.

Entre las enfermedades de plantas causadas por actinomicetos se encuentran la roya de hierba mate causada por Arthrobacter ilicis, la roya común de la papa que tiene como agentes causales a Streptomyces aureofaciens y Streptomyces griseus, la roya de la papa dulce por Streptomyces ipomoeae y la roya de la remolacha azucarera causada por Streptomyces scabies (38).

b) Actinomicetos patógenos de humanos y animales

Los actinomicetos son considerados como agentes causales de diversas infecciones en humanos y animales, entreslas que se encuentran enfermedades tan intensamente estudiadas como tuberculosis y lepra. Pero también existen otras enfermedades causadas por estos organismos que aunque son menos frecuentes no por ello son menos importantes, como la nocardiosis, micetoma y actinomicosis. Además en los últimos años se ha encontrado con mayor frecuencia la evidencia de que los actinomicetos son encontrados en la etiología de caries y enfermedades periodontales. La acción patógena de estas bacterias sera tratada con mayor detalle en un capítulo posterior.

IV) CLASIFICACION DE ACTINOMICETOS POR SU
COMPOSICION QUIMICA.

Es evidente que la mayoría de las clasificaciones realizadas para organismos superiores y microorganismos tienen como puntos de apoyo fundamental a la composición química, pues esta interviene en las funciones y manifestaciones de crecimiento y desarrollo de los organismos en cuestión, por ejemplo, si se optara por el color como un criterio taxonómico para la clasificación de actinomicetos se debe citar que esta propiedad es debido a la expresión de los pigmentos producidos por estos organismos, también si se realiza una clasificación con base a la morfología se debe tomar en cuenta que esta es consecuencia de la composición química de los polímeros que son formados. Por lo tanto en este inciso se ha planeado considerar la clasificación de actinomicetos basados en la presencia o ausencia de compuestos específicos, sean ellos constituyentes de metabolitos secundarios o de moléculas fundamentales

Por otra parte es importante señalar que la taxonomía dada de un grupo de organismos es un reflejo de el estado de conocimiento acerca de esto en un tiempo dado, y los cambios frecuentes en las clasificaciones de la actualidad obedezca a mejoramiento en los sistemas taxonómicos. Muchos taxonomistas han establecido que estos cambios no deben basarse en criterios simples, sino que es necesario basarse prioritariamente en que algunos aspectos son más importantes que otros en la clasificación, por ejemplo, la presencia o ausencia de núcleo verdadero de una célula tiene más importancia que la presencia o ausencia de una enzima específica, especialmente cuando la enzima puede ser encontrada en organismo tan disímiles como bacterias y hombres.

En el caso de los actinomicetos es posible considerar para su clasificación diversas propiedades, como son: la producción de pigmentos, la producción de antibióticos, tipos de bases en DNA, composición de pared celular y la presencia de azúcares y lípidos, todos estos aspectos son revisados a continuación.

4.1 LOS PIGMENTOS COMO CRITERIO PARA LA CLASIFICACION DE ACTINOMICETOS.

Es un hecho comprobado que los actinomicetos que poseen características parecidas tienden a tener un color semejante, esto es aplicable principalmente en la clasificación de Streptomyces entre los que se puede reconocer:

- 1) La producción de pigmentos difusibles
- 2) El color de el micelio aéreo
- 3) El color de el micelio vegetativo

Sin embargo otros géneros de actinomicetos pueden diferir en color como resultado de una variación natural o como punto final de irradiación con luz ultravioleta.

El color es poco significativo como criterio básico para la sistematización de actinomicetos, a pesar de esto es de considerable importancia en la identificación presuntiva de muchas especies de actinomicetos, por ejemplo, las especies de S. griseus son frecuentemente verdosas, las de S. fradiae y Microbispora son usualmente rosas y las de Micromonospora rhodocrous son regularmente de color salmón.

Se han realizado grandes esfuerzos para tratar de estandarizar la detección y la nomenclatura de color de actinomicetos (Gresner y Backus 1963, Prauser 1974, Pridhan 1975 y Oliver 1980) (64), sin embargo sus resultados no han sido lo satisfactorio que se hubiera pretendido.

El esclarecimiento de la naturaleza química de los pigmentos producidos por los actinomicetos pueden ayudar en forma mas racional en la sistematización de su clasificación. La estructura de pigmentos actinomiceticos con actividad antibiótica tales como la actinomicina roja y la tetraciclina amarilla se han investigado intensamente (64), pero poco se conoce acerca de la química de sustancias que se han estudiado unicamente como pigmentos. Los pigmentos de varias especies de Microbispora fueron investigados por Lechevalier (63, 64), algunos miembros de este género como M. aerata, M. amethystogenes y M. parva, depositan en el medio cristales que tienen brillo metálico, los cuales fueron identificados como ionidinas (1,6 fenzinadiol-5 dióxido), la ionidina es un pigmento rojo insoluble en medio acuoso. Las variedades de M. aerata producen también pigmentos cafés y amarillos, de entre estos fueron aislados un pigmento café y uno amarillo, identificandose como Questiomycina R (2 aminofenozin-3-ona), el pigmento café que también es producido por especies de Streptomyces y el pigmento amarillo fue identificado como 1,6 fenazinadiol que es un producto reducido de la ionidina, el cual también es elaborado por S. thioluteus y otras bacterias no filamentosas, los cultivos de M. aerata contienen también un pigmento naranja el cual fue aislado por Lechevalier (64), y conocido como 2-acetamidofenoxazin-3-ona. Los tres compuestos anteriormente descritos no unicamente se encontraron en estos actinomicetos sino también en S. thioluteus, S. iodinum, Actinomadura dassonvillei y Streptosporangium amethystogenes.

La prodigiosina es otro pigmento rojo fuerte característico de Serratia marcescens, que también se ha encontrado y aislado de Streptomyces longisporus, Actinomadura madurae y A. pelletieri.

4.2 LOS ANTIBIOTICOS COMO CRITERIO PARA LA CLASIFICACION DE ACTINOMICETOS.

Los actinomicetos constituyen el grupo más prolífico de productores de antibióticos, se ha encontrado que los actinomicetos semejantes tienden a producir familias similares de antibióticos. Esta propiedad se pensó que podría ser usada como un buen criterio para la clasificación de estas bacterias, pero existen dificultades muy difíciles de superar, como es el hecho de que los actinomicetos producen varios cientos de antibióticos en varias mezclas o combinaciones.

Por otra parte se pensó realizar la clasificación de los actinomicetos productores de antibióticos asumiendo como realidad que "un organismo es siempre resistente a el antibiótico que produce" lo cual no es siempre una realidad absoluta, además esta latente la posibilidad de sensibilidad cruzada entre los organismos en cuestión, por estas razones el valor de este criterio químico es pequeño utilizado individualmente y únicamente se tiene una real dimensión de su importancia si se correlaciona con otros criterios como la producción de pigmentos y la composición química de la pared celular.

4.3 COMPOSICION DE BASES EN DNA COMO CRITERIO PARA LA CLASIFICACION DE ACTINOMICETOS.

El ácido desoxirribonucleico (DNA) cuenta con cantidades equimolares de guanina (G) y citosina (C), y de adenina (A) y timina (T). Mientras las especies de organismos altamente organizados tales como varias especies de vertebrados, cuentan con DNA que tiene aproximadamente el mismo porcentaje de G+C; las bacterias varían desde porcentajes tan bajos como 26% para algunos Clostri-

dium a porcentajes tan altos de 75% para algunos actinomicetos.

Young (117) analizó preparaciones de DNA de actinomicetos con morfología diversa, sus resultados establecen porcentajes de G+C en un rango de 67.5 a 74.5%. El estudio mas completo para la clasificación de actinomicetos más comunes con base a su DNA fue realizado por Lechevalier (63), el que relaciono la temperatura óptima de los actinomicetos con la composición de bases (%G+C), tal como se observa en la siguiente tabla:

Temperatura óptima (C)	Organismos	G+C (%)
20 a 35	<i>Streptosporangium albus</i>	76.1
	<i>Streptomyces argenteolus</i>	76.6
	<i>Streptoverticillum verticillatum.</i>	79.8
	<i>Microbispora rose</i>	73.7
	<i>Micromonospora chalcea</i>	79.8
	<i>Nocardia blackwelli</i>	79.1
40 a 50	<i>Pseudonocardia thermophila</i>	79.3
	<i>Thermomonospora viridis</i>	73.9
	<i>Streptomyces rectus</i>	79.5
	<i>Actinomadura sp.</i>	77.4
	<i>Micropolyspora sp.</i>	74.1
	<i>Streptomyces thermoviolaceus</i>	79.8
50 a 50	<i>Thermoactinomyces vulgaris</i>	53.4
	<i>Streptosporangium thermophilus</i>	53.7

En resumen se puede establecer que la composición de bases en DNA es de valor relativo como un criterio taxónomico, y que es

aplicable generalmente a la identificación de especies pero no de género.

4.4 COMPOSICION DE PARED CELULAR COMO CRITERIO PARA LA CLASIFICACION DE ACTINOMICETOS.

La pared celular de los actinomicetos al igual que la de otras bacterias contienen una capa de mucopéptidos. Los estudios realizados han permitido distinguir nueve grupos de paredes celulares. El reconocimiento de las paredes celulares del tipo I al IV en las cuales se encuentran clasificados la mayor cantidad de actinomicetos aeróbicos, esta basado en el estudio de Becker y Young (117):

Constituyentes mayores en pared celular de Actinomicetos

<u>Tipo de pared celular</u>	<u>Constituyentes predominantes</u>
Streptomyces o Tipo I	L-DAP, glicina
Micromonospora o Tipo II	meso-DAP, glicina
Actinomadura o Tipo III	meso-DAP
Nocardia o Tipo IV	meso-DAP, arabinosa
Oerskovia o tipo V	lisina, ácido aspártico, galactosa
Actinomyces bovis o tipo VI	Lisina, ácido aspártico
A. israelii o tipo VII	lisina, ornitina
Agromyces o tipo VIII	DAB, glicina
Mycoplana o tipo IX	DAP, numerosos aminoácidos

Boone y Pine (64), propusieron un método rápido para caracterización de actinomicetos por medio de la composición de la pared celular. Estos estudios revelaron que en muchos casos no es necesario preparar o analizar extractos de pared celular para determinar su tipo. Esto es especialmente útil en diferenciar paredes celulares tipos II, III, y IV las cuales son características de la mayoría de los actinomicetos aerobicos, exceptuando a Streptomyces (pared celular tipo I). Esta identificación presuntiva de pared celular puede hacerse determinando el patrón de azúcares en la célula, la correspondencia entre tipos de pared celular y azúcares totales esta dada en la siguiente tabla:

TIPO DE PARED CELULAR Y PATRON DE AZUCARES TOTALES DE ACTINOMICETOS AEROBICOS QUE CONTIENEN meso-DAP

Pared celular		Patrón de azúcares
Tipo	Constituyente	Azúcares presentes
II	Glicina	Xilosa, arabinosa
III	-	Madurosa
IV	Arabinosa, galactosa	Arabinosa, galactosa

Madurosa = 3-metil-D-galactosa.

El análisis de los tipos de pared celular y patrón de azúcares, no son difíciles de determinar y son caracteres estables de una especie dada y han permitido resolver algunos problemas taxonómicos. La composición de la pared celular parecer ser un criterio taxonómico práctico únicamente si los constituyentes mayores son tomados en cuenta, sin embargo, se ha encontrado que organismos diferentes pueden tener el mismo componente mayor en su pared celular, por ejemplo, A. madurae y Dermatophilus congolensis tienen pared celular tipo III.

4.5 COMPOSICION DE LIPIDOS COMO CRITERIO PARA LA CLASIFICACION DE ACTINOMICETOS.

Los patrones de lípidos pueden ser usados para diferenciar especies de los géneros Streptomyces y Nocardia confirmando esta separación con base a el isómero del ácido diamino pimérico (DAP presente en la pared celular). Asimismo fue encontrado por Lechevalier (63), que bacterial de el complejo Nocardia-Mycobacterium-Corynebacterium contienen cadenas de ácidos grasos beta hidroxilados llamados colectivamente ácidos micólicos, los cuales estan asociados con la pared celular. Los estudios posteriores confirmaron la existencia de 3 tipos distintos de ácidos micólicos.

- a) Aquellos con esqueletos de carbono de aproximadamente 86 atomos asociados con especies de Mycobacterium.
- b) Acidos nocardomicólicos que tienen cadenas de 50 carbonos presentes en especies de Nocardia.
- c) Acidos corinomicólicos, que tienen cadenas pequeñas de aproximadamente 30 carbonos asociados con especies de Corynebacterium.

En los estudios de Lechevalier se utilizaron procedimientos clásicos para aislamiento de estos compuestos, en donde, fracciones que contienen micolatos metilados son inyectados en un cromatógrafo de gases, cuando estos son pirolizados quedan como una molécula de ester y una molécula de aldehído. Una diferenciación puede hacerse entre corinomicolatos y nocardomicolatos considerando la molécula de aldehído formado durante la pirólisis. Los aldehídos de nocardomicolatos provenientes de cadena larga de $C_{31}-C_{38}$ son elucidados con mayor esfuerzo.

4.6 CLASIFICACION TENTATIVA DE ACTINOMICETOS

En 1965 fue propuesto que los actinomicetos fueron clasificados en base a su morfología y composición química. Este concepto que fue revisado ampliamente fue desarrollado por Lechevalier (64), el cual propuso dos esquemas de clasificación basado en la morfología y composición química de estos organismos.

Existen graves dificultades en separar a los actinomicetos en grupos por su morfología, esto se refleja en la siguiente tabla donde el resultado no es totalmente satisfactorio, pues miembros de el mismo género pueden aparecer en más de un grupo:

Clasificación morfológica de los actinomicetos mas importantes

MORFOLOGIA	GENEROS ASIGNADOS
I. No forman esporangia	
1) Micelio dividido en mas de un plano.	Dermatophilus, Geodermatophilus.
2) Micelio dividido unicamente perpendicularmente.	
a) Unicamente forma micelio aéreo	Sporichthya
b) Unicamente forma micelio vegetativo	Mycobacterium, Actinomyces, Agromyces, Nocardioides, Nocardia.
No forma conidias, pero si elementos móviles.	Oerskovia, Mycoplana
Forma conidias sencillas	Micromonospora.
c) Forma ambos micelios	
No forma esporas	Mycobacterium, Nocardioides, Nocardia
Esporas sencillas en micelio aéreo.	Thermomonospora
Esporas sencillas en ambos micelios.	Thermoactinomyces

MORFOLOGIA	GENEROS ASIGNADOS
<p>Parejas de esporas en micelio aéreo.</p> <p>Cortos cambios de conidias en micelio aéreo</p> <p>Cortos cambios de conidias en ambos micelios</p> <p>Largos cambios de conidias en micelio aéreo</p>	<p>Microbispora</p> <p>Actinomadura, Streptomyces, Nocardia</p> <p>Micropolyspora, Nocardia</p> <p>Streptomyces, Streptovercillium, Nocardia, Actinomadura, Pseudonocardia.</p>
<p>II Forman esporangia</p> <p>Cada esporangia con una espóra sencilla.</p> <p>Cada esporangia con un par de esporas.</p> <p>b) Esporangia con un cambio sencillo de esporas</p> <p> Esporangiosporas no móviles</p> <p> Esporangiosporas móviles</p> <p>c) Esporangia con muchas esporas</p> <p> Esporangia globosa con esporas no móviles</p> <p> Esporangia globosa con esporas móviles</p>	<p>Planomonospora</p> <p>Planobispora</p> <p>Microellobosporia</p> <p>Dactylosporangium</p> <p>Actinoplana, Amor- phosporangium, Ampullariella, Spi- rillospora.</p> <p>Streptosporangium</p>

Lechevalier (64), llevó a cabo una clasificación general de actinomicetos basados en dos criterios principales como son la morfología y la composición de la pared celular:

CLASIFICACION GENERAL DE ACTINOMICETOS

A) Micelio dividido en todos planos. Pared celular tipo III

a) Maduraosa presente. Patógeno de animales

DERMATOPHILUS

b) Maduraosa ausente. Presente en suelo

GEODERMATOPHILUS

B) Micelio dividido unicamente en forma perpendicular

AA. No forma micelio vegetativo. Pared celular tipo I

SPORICHTHYA

B. Forma micelio vegetativo

a) Pared celular con mayor cantidad de ácido 2.6 diámino pimélico (DAP).

aa) Forma esporangia, pared celular tipo II

1. Esporangia globosa con numerosas esporas móviles

ACTINOPLANA

2. Esporangia con una sola espora móvil

DACTYLOSPORANGIUM

bb. Forma esporangia, pared celular tipo III

1. Una espora sencilla móvil por cada esporangia

PLANOSPORA

2. Dos esporas móviles por esporangia

PLANOBISFORA

3. Numerosas esporangiosporas móviles

SPIRILLOSPORA

4. Numerosas esporangiosporas no móviles

STREPTOSPORANGIUM

Continuación de la tabla

cc. Forma esporangia. Pared celular tipo I. Una espora sencilla por esporangia.

MICROELLOBOSPORIA

dd. No forma esporangia. Pared celular tipo I

1. Usualmente abundante micelio aéreo, no fragmentado

AA. Esporas no fragmentadas

STREPTOMYCES

BB. Esporas fragmentadas

STREPTOVERTICILLIUM

2. Forma micelio aéreo, fragmentado

NOCARDIOIDES

ee. No forma esporangia. Pared celular tipo II. Esporas simples formadas unicamente en el micelio vegetativo.

MICROMONOSFORA

ff. No forma esporangia, micelio rudimentario, elementos no móviles

MYCOPLANA

gg. No forma esporangia. Pared celular tipo III

1) Forma esporas simples. No contiene madurosa

THERMOACTINOMYCES

2) Forma pared de esporas. Contiene madurosa

MICROBISFORA

3) Cambios continuos de esporas

a) Madurosa presente

ACTINOMADURA especie madurae

b) Madurosa ausente

ACTINOMADURA especie dassonvillei

hh. No forma esporangia. Pared celular tipo IV

1. Forma esporas simples unicamente en micelio aéreo

THERMOMONOSFORA

Continuación de la tabla

2. Forma esporas en micelio vegetativo y aéreo

MICROPOLYS PORA

3. Forma conidias cilíndricas en ambos micelios

PSEUDONOCARDIA

4. Morfología muy variable, micelio aéreo puede estar ausente, la esporulación puede ocurrir, el micelio vegetativo puede fragmentarse. Ácidos nocardomicólicos presentes.

NOCARDIA

5. Micelio vegetativo usualmente fragmentado. No forma micelio aéreo. No forma esporas. Forma ácidos micólicos

MYCOBACTERIUM

- ii. Pared celular que contiene mayor cantidad de ácido 2,4 diamino butírico. No forma micelio aéreo. No forma elementos móviles. Micelio vegetativo fragmentado.

AGROMYCES

- jj. Pared celular con mayor cantidad de lisina

- aa. Micelio vegetativo que forma elementos móviles. No forma micelio aéreo

ORSKOVIA

- bb. No forma micelio aéreo, no forma esporas

ACTINOMYCES

CAPITULO 2

IMPORTANCIA MEDICA DE LOS ACTINOMICETOS.

I) TAXONOMIA MEDICA DE LOS ACTINOMICETOS
(Patógenos para el hombre)

1.1 INTRODUCCION

Los actinomicetos patógenos de humanos se clasifican en el orden Actinomycetales. Este orden incluye algunos organismos productores de enfermedades crónicas como los agentes causales de la tuberculosis y la lepra (enfermedad de Hansen). Por tradición estos dos microorganismos se han estudiado junto con las bacterias. Sin embargo se consideró por muchos años que los demás actinomicetos patógenos eran formas de transición entre bacterias y hongos, y se incluyeron en el campo de estudio de la Micología Médica.

Los agentes etiológicos de la actinomycosis, el actinomycetoma y la nocardiosis muestran algunas características del tipo hongo, como la ramificación del microorganismo en los tejidos, la red de micelios extensa que puede producirse en los cultivos o en los órganos afectados y la cronicidad de la enfermedad. No obstante el análisis de la pared celular muestra la presencia del ácido murámico, típicamente bacteriano, lo cual, junto con la ausencia de un núcleo estructural, dimensiones bacterianas típicas y sensibilidad a los antibióticos antibacterianos, define a estos microorganismos como bacterias y no hongos.

Los actinomicetos crecen en forma de filamentos delgados u ondulados o de hifas de 0.5 a 0.8 micras de diámetro, que muestran ramificación lateral y dicotómica, pudiendo crecer fuera del medio formando un micelio aéreo. En medios sólidos los filamentos constituyen masas enmarañadas, mientras que en medios líquidos hay tendencias a crecimientos en acúmulos o centros.

Entre los actinomicetos es común la formación de pigmento, con coloraciones variables en todo el espectro, y suele hacerse la diferenciación entre la pigmentación del micelio vegetativo y el

micelio aéreo que forma esporas, así como el pigmento que se difunde en el medio. En medios que contienen proteínas con frecuencia se observan pigmentos solubles morados y pardos. Los actinomicetos en especial las formas saprófitas son fisiológicamente activas, utilizan una diversidad de compuestos de carbono y de nitrógeno, y muchos son proteolíticos. Muchas especies producen un olor a tierra o a rancio. La temperatura óptima de crecimiento suele ser de 20 a 30 C, aunque algunas especies patógenas crecen a 37 C, y se conocen como especies termófilas. La gran mayoría de los actinomicetos son aerobios, pero algunas formas patógenas son anaerobias o cuando menos se deben cultivar con tensión de oxígeno baja. La diferenciación de los actinomicetos entre sí se basa en un criterio morfológico y fisiológico incluyendo este último la pigmentación y la actividad proteolítica.

1.2 CLASIFICACION DE LOS PRINCIPALES ACTINOMICETOS PATOGENOS

Los actinomicetos causantes de enfermedades en humanos han sido objeto de diversas clasificaciones para su estudio, sin embargo, es difícil encontrar una taxonomía más completa y lógica que la del Manual of Determinative Bacteriology de Bergey's, que es la más frecuentemente utilizada y aceptada internacionalmente, que a continuación se resume así:

TAXONOMIA MEDICA DE ACTINOMICETOS

CLASE II SQUIZOMICETOS

ORDEN ACTINOMICETALES

Familia I MYCOBACTERIACEAE

a) GENERO MYCOBACTERIUM

Forma filamentos o bastones rectos o curvos con frecuencia de forma irregular y a veces algo ramificados. Son bacterias gram

positivas, aerobios, ácido alcohol resistentes.

Especies más importantes:

- 1) Mycobacterium tuberculosis
- 2) Mycobacterium leprae

Familia II ACTINOMICETACEAE

a) GENERO ACTINOMYCES

Integrado por cinco especies, caracterizados por presentar bacterias de aspecto difteroide o filamentos ramificados muy delgados de hasta 1 micra de diámetro, no forman hifas aéreas, gram positivos, inmóviles, no esporulados, no producen gas en los azúcares atacados, son negativos al indol y la urea, anaerobios, no ácido alcohol resistentes. Contendio de G+C de 60 a 63 moles por 100.

Especies más importantes:

- 1) Actinomyces naeslundii. Causante de actinomycosis en pulmón
- 2) Actinomyces israelii. Produce actinomycosis en el hombre

Sinonimia: Stahenpitz (Wolff e Israel, 1891)

Streptothrix israelii (Kruss, 1896)

Discomyces israelii (Geddoelst, 1902)

Nocardia israelii (Castellani, 1913)

Cohnistreptothrix israelii (Pinov, 1913)

Brevistreptothrix israelii (Lianieres, 1924)

- 3) Actinomyces bovis. Causantes de actinomycosis en ganado bovino

Sinonimia: Cladothrix bovis (Rivolta, 1878)

Nocardia bovis (Blanchard, 1895)

Streptothrix bovis (Chester, 1901)

Spaherotilus bovis (Engler, 1907)

Streptothrix actinomycetoica (Foulerton, 1909)

b) GENERO ARACHNIA

Forma bacilo pñeomorficos de 3 a 5 micras que forman largos filamentos, gram positivos, no son ácido alcohol resistentes, anaerobios facultativos, da colonias parecidas a A. israelii en medios enriquecidos, con esta especie guarda relación antigénica. Contenido de G+C de 63 a 65 moles por 100.

Especies mas importantes:

- 1) Arachnia propionica: Causa actinomicosis en humanos

Familia III NOCARDIACEAE

a) GENERO NOCARDIA

Tiene filamento microsifonado que fragmenta en elementos cocoides o bacilares, tiene la capacidad de formar micelios entre el sustrato o aéreos, gram positivos, parcialmente ácido alcohol resistentes, inmóviles, aerobios, varían en cuanto a la diversidad de pigmentos, su acción proteolítica es totalmente opuesta entre las dos especies mas importantes de este género N. brasiliensis y N. asteroides. Contenido de G+C de 60 a 72 moles por 100. Las paredes celulares de las bacterias nocardioformes contienen ácido diamino pimélico, arabinosa y galactosa.

Especies mas importantes:

- 1) Nocardia brasiliensis: Agente causal del micetoma actinomicótico principalmente en México y América del Sur.

Sinonimia: Discomyces brasiliensis (Lindenberg, 1909)

Actinomyces mexicanus (Boyd 1921)

Nocardia pretoria (Pijper, 1927)

Nocardia mexicanus (Ota, 1928)

- 2) Nocardia asteroides: Produce la nocardiosis y en proporción menor es causante del micetoma actinomicótico especialmente en E. U. y Líbano.

Sinonimia: Actinomyces asteroides (Grutchfield, 1922)

- 3) Nocardia caviae. En algunas regiones geográficas causa micetoma actinomicótico.

Sinonimia: Nocardia otitidis caviarum (Shijders, 1924)

Actinomyces caviae (Erikson, 1935)

b) GENERO ACTINOMADURA

Presentan filamento microsifonado, aerobios, no son ácido alcohol resistentes, no forman micelio aéreo y contiene en su pared celular madurosa.

Especies mas importantes:

- 1) Actinomadura madurae: Causa micetoma actinomicótico principalmente en Europa y Africa.

Sinonimia: Streptothrix madurae (Vincent, 1894)

Nocardia madurae (Blancher, 1896)

Actinomyces madurae (Lechner-Sandoval, 1898)

Nocardia indica (Chalmers, 1915)

Streptomyces madurae (González Ochoa, 1966)

- 2) Actinomadura pelletierii. Frecuente en Africa y Sudamérica, causa micetoma actinomicótico.

Sinonimia: Micrococcus pelletierii (Laveran, 1906)

Nocardia pelletierii (Pinov, 1912)

Nocardia africanus (Pijper, 1927)

Streptomyces pelletierii (Waksman, 1948)

Familia IV STREPTOMYCETACEAEa) GENERO STREPTOMYCES

El número de especies reconocidas pasan de cuatrocientas, entre ellas un gran número de especies son productoras de sustancias antibióticas. Forman micelio aéreo que soporta esporas de diámetro estrecho, gram positivas, aerobios, filamento flexuoso y ramificado no fragmentado que produce elementos cocoides, no son ácido alcohol resistentes, reducen los nitratos, hidrolizan la gelatina, el almidón y la caseína.

Tiene gran variedad de pigmentos, contenido de G + C de 59 a 73 moles por 100. Las paredes celulares de especies de Streptomyces contienen ácido L-diámetro pimélico y glicina. Las esporas que producen son mas resistentes que los filamentos y siguen viviendo a temperaturas de 60 C, pero son menos resistentes que las de las bacterias.

Especies mas importantes:

- 1) Streptomyces somaliensis: Causa micetoma actinomicótico, y es el tipo mas frecuente encontrado en Sudán y Somalia.

Sinonimia: Indiella somaliensis (Brumpt, 1906)

Nocardia somaliensis (Chalmers, 1916)

Streptothrix somaliensis (Miescher, 1917)

Discomyces somaliensis (Lemaire, 1921)

Actinomyces somaliensis (Brumpt, 1927)

- 2) Streptomyces paraguayensis: Produce micetoma actinomicótico es frecuente en Paraguay.

Sinonimia: Actinomyces paraguayensis (Almedia, 1940)

Nocardia paraguayensis (Conant, 1948)

Familia V MICROMONOSPORACEAE

a) GENERO MICROMONOSPORUM

Tienen filamentos flexuosos y ramificados. Todas sus especies son saprofiticas, no se han encontrado especies p-rásitas, son muy activos en descomposición de materia orgánica.

II) CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS Y MICROSCOPICAS
DE LOS ACTINOMICETOS DE IMPORTANCIA CLINICA.

2.1 CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS Y MICROSCOPICAS DE LOS PRINCIPALES ACTINOMICETOS PATOGENOS.

La morfología microscópica y las características macroscópicas encontradas en medios de cultivo selectivos o generales son de suma importancia en la diferenciación e identificación de organismos familiarizados en diversos aspectos y que caen dentro de un mismo grupo taxonómico. Por tal razón en el estudio de actinomicetos patógenos para el hombre y animales son tomadas en cuenta estas propiedades para determinar si una enfermedad dada es causada por actinomicetos, y en caso positivo, encontrar la especie involucrada como agente causal del padecimiento.

A) GENERO MYCOBACTERIUM

1) Mycobacterium tuberculosis

a) Características microscópicas

Los bacilos de la tuberculosis son bastones delgados, algunas veces ligeramente curvos, de 2 a 4 micras de largo y 0.3 a 1.5 micras de ancho. Se presentan aislados, pero a veces se observan en grupos pequeños. Los bacilos de la variedad humana tienden a ser algo mas largos y delgados que los de tipo bovino. En los tejidos suele conservarse la forma bacilar. El bacilo es inmóvil no forma esporas, y produce una sustancia capsular en cultivos artificiales, sobre todo cuando crece en medios con suero. Los bacilos no pueden teñirse con los métodos usuales eficaces con otras bacterias porque hay una resistencia notable a la penetración de colorantes, por la presencia de cantidades relativamente grandes de cera no saponificable. Las células pueden teñirse en dos a tres minutos con fucsina fenicada calentada hasta emitir vapores. Una vez teñidos es difícil decolorarlos

resisten a la acción del alcohol y de soluciones diluídas de ácidos minerales, por esta razón se les llama "ácido alcohol resistentes".

b) Características microscópicas

En cultivos en caldo forman una capa de crecimiento grueso, arrugado, que tiende a desparramarse a los lados del recipiente, pueden desprenderse masas de bacilos y caer al fondo en forma de sedimento apelmazado.

La superficie del cultivo en medios sólidos suele ser seca y granular, con zonas nodulares prominentes. La variedad humana del bacilo de la tuberculosis suele producir un cultivo amarillo pálido o amarillo anaranjado sobre medios que contienen suero, y de color crema o blanco en ausencia del mismo.

El desarrollo es relativamente lento, y suelen necesitarse de cuatro a seis semanas para que sea abundante, aunque en 8 a 10 días aparecen colonias minúsculas.

Para aislarlos por primera vez se necesitan medios enriquecidos que por lo general contienen huevo, glicerol y colorantes para inhibir el desarrollo de contaminantes. Los medios que suelen usarse son las modificaciones de Jensen al medio de Lowenstein que contiene huevo, harina de patatas, infusión de médula oséa, citrato, glicerol, asparagina y verde de malaquita, el medio de patata con yema de huevo, y el medio de Petraghani(11).

2) Mycobacterium leprae

a) Características microscópicas

Los bacilos de la lepra semejan morfológicamente a los de la tuberculosis. Son bastones largos (6 micras), delgadas, por lo general rectos, en ocasiones ligeramente curvos o en forma de maza.

Son inmóviles y no forman esporas. Suelen observarse dentro de los espacios linfáticos, su disposición dentro de las células es característica generalmente se agrupan varios bacilos juntándose en manojos como paquete de cigarros. La reacción de tinción de estos microorganismos es muy semejante a la de los bacilos de la tuberculosis. Se tiñen algo más fácilmente que estos, e incluso se decoloran más rápidamente con los ácidos.

b) Características macroscópicas

Durante muchos años los bacteriólogos de todo el mundo intentaron sin éxito cultivar el bacilo de Hansen en medios artificiales, algunos investigadores han informado resultados positivos, pero generalmente se trata de diversos microorganismos como difteroides, otros actinomicetos y bacilos anaérobios. Por lo tanto es necesario recurrir a otros criterios como la presencia de bacilos característicos de la lepra dentro de las células y la sintomatología de la enfermedad para establecerlo como agente etiológico.

B) GENERO ACTINOMYCES

1) Actinomyces naeslundii

a) Características microscópicas

Esta especie es un anaerobio facultativo no patógeno cuando se aísla de la cavidad bucal y esputo del hombre. En frotis de colonias jóvenes teñidas con el método de gram, aparecen bacilos o formas difteroides ramificadas gram positivas.

b) Características macroscópicas

A. naeslundii suele dar colonias lisas en agar, que crecen rápidamente, con aspecto difuso o turbio en caldo. En placas anaeróbicas

robias con infusión de cerebro-corazón, aparecen las colonias a las 24-48 horas como una zona central densa de micelios enmarañados con una franja circundante de hifas. A los 7-10 días, las colonias pueden ser lisas y convexas, con borde completo, elevado, rugoso y con aspecto de guijarro.

2) Actinomyces israelii

a) Características microscópicas

A. israelii es pleomórfico, y puede aparecer en forma de finos filamentos ramificados de 0.5 a 1 micra de diámetro, como bastoncillos de tipo difteroides o como formas cocoides o bacilares. Este microorganismo es gram positivo, no ácido alcohol resistente, no esporulado, no encapsulado e inmóvil.

Cuando crecen en pus, A. israelii forma a menudo filamentos radiantes rodeados de material eosinófilo procedente del huésped.

b) Características macroscópicas

Actinomyces israelii suele ser una colonia rugosa (forma R) que empieza como una masa de filamentos ramificados (colonia en "araña" o colonia granular). Como este microorganismo es anaerobio un buen medio de cultivo es el caldo de tioglicolato en el cual la colonia es dura, granulosa, de bordes vellosos.

Los cultivos sobre medios sólidos, como agar con infusión de cerebro-corazón debe ser incubado en condiciones anaerobias, en este medio aparecen las colonias a las 24-48 horas como crecimiento micelial uniforme en forma de araña y a los 7-10 días las colonias se elevan y arrugan tomando aspecto de dientes molares. El crecimiento de A. israelii comparado con el de muchas bacterias es lento, y las colonias no aparecen hasta después de dos a cinco días de incubación, la temperatura óptima de desarrollo es de

30 a 37 C. Casi invariablemente se encuentran asociadas con Actinomyces israelii otras bacterias anaerobias en las lesiones, en consecuencia los actinomicetos deben ser aislados de cultivos mixtos. A. israelii es difícil de conservar mediante subcultivos repetidos, los antígenos de los microorganismos cultivados pueden diferir de los correspondientes a los microorganismos que crecen "in vivo".

3) Actinomyces bovis

a) Características microscópicas

Existe predominio de bastones largos y cortos, organismos en forma de S o de espirales, formas cocoides también se presentan, suele ofrecer una coloración irregular, no son móviles, no forma esporas, son gram positivos, no son ácido alcohol resistentes, es muy similar a A. israelii diferenciándose de este en que no suele producir filamentos con aspecto difteroide.

b) Características macroscópicas

Actinomyces bovis suele ser una forma lisa (S) en la cual las colonias al principio aparecen en forma de gota de rocío y más tarde son lisas, convexas con bordes continuos.

En placas anaerobias con infusión de cerebro-corazón, aparecen las colonias a las 24-48 horas como pequeñas formaciones circulares, lisas, ligeramente convexas con borde ininterrumpido. A los 7-10 días las colonias son planas o convexas opacas a la luz transmitida, con bordes lisos o de aspecto de guijarro.

En cultivos en caldo, anaeróticamente a 37 C, la germinación es pobre o moderada, depósito de granulaciones compactas y blancas, en forma de frambuesa, de superficie nodular, a menudo adheridas unas a otras, no se desintegran al agitar el tubo, no presentan

enturbiamiento, ni germinación en la superficie.

En suero Loeffler después de 7 días, a 37 C, y en condiciones anaerobias, las colonias son elevadas, convexas, de color gris blancuzco, de unos 0.5 milímetros de diámetro, no hay licuefacción.

C) GENERO NOCARDIA

1) Nocardia brasiliensis

a) Características microscópicas

Nocardia brasiliensis forma filamentos finos de 1 micra de diámetro y se fragmentan en formas bacilares, son parcialmente ácido alcohol resistentes, gram positivos, no esporulados e inmóviles.

b) Características macroscópicas

El microorganismo crece bien, pero lentamente en todos los medios de laboratorio, y no suele morir con el método de digestión utilizado en el esputo para cultivar bacilos tuberculosos.

La colonia clásica es glabra, rugosa, formando pliegues y de color anaranjado brillante, su consistencia es dura, en ocasiones posee vello blanco.

En medio de agar glucosa de Sabouraud en condiciones aerobias aparecen colonias plegadas, con aspecto cerebriforme de color amarillo o anaranjado con superficie dura, se advierte en estos cultivos olor a tierra mojada.

En agar de Czapek, la colonia es exuberante, finamente plegada y amarilla u ocre anaranjada con superficie rugosa.

2) Nocardia asteroides

a) Características microscópicas

Nocardia asteroides forma hifas ramificadas y filamentosas, con menos de una micra de diámetro, que se fragmentan en elementos cocoides con facilidad, son parcialmente ácido alcohol resistentes, inmóviles, no esporulados, gram positivos.

b) Características macroscópicas

N. asteroides crece bien en agar glucosa de Sabouraud, agar sangre, medio de Lowenstein-Jensen y otros medios, siempre que no se adicionen agentes antibacterianos. Las colonias crecen lentamente y no llegan a ser visibles hasta después de tres días a una semana de incubación a la temperatura óptima de 30 a 37 C.

La colonia característica es de consistencia a menudo blanda, color amarillo o anaranjada. En ocasiones tiene un vello blanquecino.

En glucosa agar de Sabouraud, la colonia es rala, plegada irregularmente o granulosa y su color puede fluctuar de amarillo a anaranjado intenso, el conjunto de la colonia tiene la forma de una estrella de donde le viene el nombre de asteroides.

En el agar inclinado se observan germinaciones elevadas de color ocre con bordes lisos. En la gelatina, la germinación es muy lenta sin licuefacción.

En el medio de papa, la colonia es elevada, roja, con superficie granulosa y después de cierto tiempo se vuelve arrugada. En medios líquidos aparece una película superficial blanca, que cae al fondo y se renueva varias veces.

3) Nocardia caviae

a) Características microscópicas

Por exámen directo se descubren filamentos finos de 1 micra de diámetro que se fragmentan en formas bacilares, parcialmente ácido alcohol resistente, inmóvil, gram positivo, no esporulado.

b) Características macroscópicas

En agar glucosa de Sabouraud y agar de Czapek, las colonias son parecidas a las de N. asteroides y N. brasiliensis.

D) GENERO ACTINOMADURA

1) Actinomadura madurae

a) Características microscópicas

Forma filamentos finos de 1 micra de diámetro que no se desintegran en fragmentos, gram positivos, no móviles, no esporulados, no son ácido alcohol resistentes.

b) Características macroscópicas

En agar glucosa de Sabouraud, las colonias son lisas, húmedas céreas, de color crema, en ocasiones una cepa puede tomar color rosado con diferentes matices de rojo. El crecimiento es lento a 37 C, en condiciones aeróbias.

En agar de Czapek, la colonia es lisa, cerea y de color crema.

En agar inclinado después de 7 días a 37 C, la germinación es pobre, colonias discretas, blanco amarillentas, opacas, irregularmente apelotonadas, con superficie nodulosa.

En medios líquidos, a 37 C, después de 7 días, la germinación es pobre, cúmulo de pequeñas colonias blanco amarillentas con

aspecto parecido a colonias de hongos, densos en el centro y ligeros en la periferia, a menudo se juntan en grupos de tres a cuatro, no hay enturbiamiento, ni germinación en la superficie ni olor.

En suero Loeffler, a 37 C, 7 días, hay germinación pobre de colonias aisladas, a los 21 días, la germinación es moderada de colonias nodulares amontonadas, no hay licuefacción.

En medio de huevo glicerinado a 37 C, 7 días, la germinación es confluyente en su mayor parte, integrada por colonias en forma de cúpula, con una superficie discretamente nodulosa.

En medio de papa, a 37 C, 7 días, la germinación es discreta, se forman colonias amontonadas, nodulares, color amarillo obscuro, a los 18 días las colonias son secas, color blanco y gris parduzco, más tarde toman una coloración rosada intensa.

2) Actinomadura pelletieri

a) Características microscópicas

Al microscopio se advierten filamentos finos de 1 micra de diámetro que no se desintegra o rompe en fragmentos, gram positivos, inmóvil, no esporulado, no ácido alcohol resistente.

b) Características macroscópicas

En agar glucosa de Sabouraud, las colonias crecen lentamente, son glabras, arrugadas, sin vellosidades, de color rojo coral.

En agar de Czapek, la colonia es pequeña, seca, rugosa y de color rojo coral. El crecimiento generalmente es lento y la temperatura de incubación es de 37 C.

E) GENERO STREPTOMYCES

a) Características microscópicas

Se observan, filamentos finos de una micra de diámetro, ramificados, que no se fragmentan, gram positivos, inmóviles, no esporulados, no ácido alcohol resistentes.

b) Características macroscópicas

En agar glucosa e Sabouraud, la colonia es de crecimiento lento, temperatura óptima es de 30 C, el crecimiento es abundante, rugoso, sin vello, al principio las colonias son blancas, pero rápidamente se tornan pardas o negras.

2) Streptomyces naraguayensis

a) Características microscópicas

Se observan filamentos finos de 1 micra de diámetro que no se desintegran en fragmentos, gram positivos, inmóvil, no ácido alcohol resistente.

b) Características macroscópicas

En agar glucosa de Sabouraud las colonias carecen de prolongaciones vellosas, son húmedas y de color crema obscuro.

En agar de Czapek, son también húmedas, lisas y de color parduzco.

III) PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA LA DIFERENCIACION
DE ACTINOMICETOS DE IMPORTANCIA MEDICA.

La elaboración de un perfil fisiológico, es decir, un conjunto de pruebas bioquímicas para determinar la acción proteolítica, sacarolítica e hidrolítica de los microorganismos es de gran utilidad para diferenciar género y especie de organismos como los actinomicetos, que poseen una gran similitud en su morfología microscópica, y cuando el aspecto de las colonias que desarrollan en los medios de cultivo no es suficiente para establecer una diferenciación de especie, es necesario para recurrir a este tipo de pruebas.

El alto grado de confiabilidad y precisión que poseen los exámenes de la actividad fisiológica de los microorganismos han permitido el desarrollo de un gran número de pruebas para medir esos procesos, que en el caso de los actinomicetos permite la caracterización de especie, y generalmente diferenciar actinomicetos patógenos y saprófitos.

3.1 PRUEBAS BIOQUIMICAS PARA DIFERENCIACION DE ACTINOMICETOS PATOGENOS.

Los actinomicetos patógenos se clasifican en dos grandes grupos fisiológicos: actinomicetos anaerobios y actinomicetos aerobios. En la tabla I se encuentran el perfil fisiológico de los actinomicetos anaerobios patógenos representados por el género *Actinomyces*, comparando su actividad bioquímica con los difteroides anaeróbicos que son muy semejantes en su estructura microscópica a los actinomicetos, diferenciándose de estos en su poder enzimático. De dicha tabla se pueden sacar las siguientes conclusiones, que resultan útiles en el momento de determinar el agente etiológico de la enfermedad estudiada.

a) El género *Actinomyces* se caracteriza como tal, pues todas sus especies son catalasa e indol negativas y no hidrolizan la gelatina.

- b) Actinomyces israelii tiene gran acción sacarolítica (con producción de ácido pero no de gas), no hidroliza el almidón, mientras que Actinomyces bovis si lo hidroliza, lo cual establece una diferencia muy útil considerando que ambos son los principales causantes de la Actinomicosis.
- c) Actinomyces bovis puede diferenciarse de las otras especies de el género Actinomyces pues estas son negativas a la hidrólisis del almidón (excepto A. eriksonii)
- d) Actinomyces eriksonii y Actinomyces bovis (los dos hidrolizan el almidón), pueden diferenciarse por su acción enzimática sobre manitol, xilosa y arabinosa que resultan positivas para A. eriksonii, mientras que A. bovis no tiene acción sobre estos azúcares.
- e) Los difteroides anaerobicos (representados en la tabla por Propionibacterium acnes), muy similares a los actinomicetos en su morfología microscópica pero que son rara vez patógenos para el hombre, se diferencian de ellos por su casi nula actividad sacarolítica.

En la tabla II se encuentran representadas las características fisiológicas de los actinomicetos aeróbiospatógenos de los géneros Nocardia, Actinomadura y Streptomyces, de su estudio, se pudieron extraer las siguientes conclusiones útiles para su identificación.

- a) Las especies patógenas del género Nocardia poseen la enzima ureasa, condición que los diferencia de las especies de el género Actinomadura y de S. somaliensis que no la tienen.
- b) Nocardia asteroides carece de poder proteolítico, por el contrario Nocardia brasiliensis si ejerce acción proteolítica,

característica que es frecuentemente utilizada para diferenciar ambas especies.

- c) Actinomadura madurae y Actinomadura pelletieri tienen un perfil fisiológico casi idéntico, pero que sin embargo se diferencian por su acción sobre el almidón y crecimiento sobre 0.4% de gelatina que es positivo para A. madurae y negativo para A. pelletieri
- d) Streptomyces somaliensis y Streptomyces paraguayensis basan su diferenciación en la presencia de la enzima ureasa, presente en el primero y ausente en este último.

TABLA I

CARACTERISTICAS FISIOLÓGICAS DE ACTINOMICETOS ANAEROBIOS PATÓGENOS Y DIFTEROIDES ANAEROBIOS

Especie	Catalasa	Indol	Esculina	Glucosa	Manitol	Xilosa	Almidón
<i>Actinomyces israelii</i>	-	-	+	+ (A)	+	+	-
<i>Actinomyces bovis</i>	-	-	+	+ (A)	-	-	+
<i>Actinomyces naeslundii</i>	-	-	+	+ (A)	-	-	-
<i>Actinomyces propionicus</i>	-	-	-	+ (A)	+	-	-
<i>Bifidobacterium eriksonii</i> (<i>Actinomyces eriksonii</i>)	-	-	+	+ (A)	+	+	+
Difteroides anaerobios (<i>Propionibacterium acnes</i>)	+	+	-	+ (A)	+	-	-

+++ Referencias (12), (19), (20), (34), (45), (44)

+ = Acción enzimática

- = No hay acción enzimática

(A) = Producción de ácido

Continuación de la tabla I

Especie	Glicerol	Lactosa	Sucrosa	Maltosa	Arabinosa	Manosa	Nitrato (Reducción)	Gelatina (Hidrolisis)
<i>Actinomyces israelii</i>	-	+	+	+	+	+	+	-
<i>Actinomyces bovis</i>	+	+	+	+	-	-	+	-
<i>Actinomyces naeslundii</i>	+	+	+	+	-	+	+	-
<i>Actinomyces propionicus</i>	-	+	+	+	-	+	+	-
<i>Actinomyces eriksonii</i>	-	+	+	+	+	+	-	-
<i>Difteroides anaerobicos</i> (<i>Propionibacterium acnes</i>)	+	-	-	-	-	-	+	+

++Referencias (17), (19), (20), (44), (117)

+ = Acción enzimática

- = No hay acción enzimática

TABLA II

CARACTERISTICAS FISIOLOGICAS DE LOS ACTINOMICETOS PATOGENOS DE LOS GENEROS NOCARDIA, ACTINOMADURA Y STREPTOMYCES.

Especie	Caseína	Tirosina	Xantina	Almidón	Gelatina (Hidrólisis)	Leche	Urea
<i>N. asteroides</i>	-	-	-	+/-	-	-	+
<i>N. brasiliensis</i>	+	+	-	+/-	+	+	+
<i>N. caviae</i>	-	-	+	+/-	-	+	+
<i>A. pelletieri</i>	+	+	-	-	+	+	-
<i>A. madurae</i>	+	+	-	+	+	+	-
<i>S. somaliensis</i>	+	+	-	+/-	+	+	-
<i>S. paraguayensis</i>	+	+	+	-	+	+	+
<i>Streptomyces</i> sp.	+	+	-	+	+	+	+

+++ Referencias (10), (11), (12), (15), (19), (20), y (45)

+ = Acción enzimática o bioquímica

- = No hay acción enzimática

+/- = Algunas variedades de la especie tienen poder enzimático pero otras no la poseen.

CONTINUACION DE LA TABLA II

Especie	Lactosa	Xilosa	Tipo de pared Celular.	Crecimiento en 0.4% gelatina	Utilización de parafina	Reducción de nitrato.
N. asteroides	-	-	IV	-	-	+
N. brasiliensis	-	-	IV	+	-	+
N. caviae	-	-	IV	-	-	+
A. pelletieri	55%+	-	III	-	-	+
A. madurae	+	-	III	+	-	+
S. somaliensis	-	-	I	-	-	+
S. paraguayensis	-	-	I	+	-	+
Streptomyces sp.	+	+	I	-	-	+

+++Referencias (11), (12), (17), (19), (34), (45), (90)

I = Pared celular que posee ácido L- diamino pimérico y glicina
 III = " " " " " meso- " " y madurosa
 IV = " " " " " " " " , arabinosa y galactosa

+ = Acción enzimática

- = No hay acción enzimática.

IV) ENFERMEDADES CAUSADAS POR
ACTINOMICETOS.

En años recientes el estudio de las enfermedades causadas por actinomicetos se ha incrementado, ya no se reconoce únicamente a estos organismos como productores de diversos antibióticos y recicladores de la materia orgánica, sino que su papel como patógeno de hombres y animales ha despertado un creciente interés, pues con mayor frecuencia se reportan infecciones debidas a los actinomicetos, quizá porque las técnicas actuales para su detección como agente etiológico se han perfeccionado.

Entre las enfermedades causadas por actinomicetos que ocupan especial relevancia se encuentran la tuberculosis y la lepra causadas por Mycobacterium tuberculosis y Mycobacterium leprae respectivamente, ambos padecimientos han sido objeto de múltiples estudios en libros de Bacteriología Médica y otras publicaciones, por lo que no se revisan en el presente capítulo pues no es el objeto ser repetitivo, considerando que existen otras enfermedades producidas por actinomicetos patógenos (ver tabla I), que son igualmente importantes a las ya mencionadas.

En particular en este capítulo se hace mención de tres padecimientos causados por estos organismos que son el micetoma actinomicótico, Actinomicosis y Nocardiosis los cuales por su frecuencia en regiones bien localizadas es importante conocerlos en su sintomatología y patología para establecer la relación clásica: agente etiológico-medio ambiente-huésped, la cual cuando se rompe su equilibrio conduce a la enfermedad.

TABLA I

ALGUNAS ENFERMEDADES CAUSADAS POR ACTINOMICETOS PATOGENOS

(En Humanos y Animales).

Enfermedad	Agente etiológico	Región afectada
Actinomicosis	Actinomyces bovis Actinomyces israelii Arachnia propionica	Cervicofacial, Torácica y Abdominal
Enfermedad del riñon en peces (Salmonid fishes).	Renibacterium salmoninarium	Riñón y otros órganos internos
Muermo bovino	Mycobacterium farcinogenes, M. senegalense	Sistema linfático
Dermatophilosis	Dermatophilus congolensis	Piel
Endocarditis	Oerskovia turbata Rothia dentocariosa	Endocardio
Actinomicetoma	Actinomadura madurae, A. pelletieri, Nocardia asteroides, Nocardia brasiliensis, S. somaliensis, S. paraguayensis.	Pies, piernas, extremidades superiores y otros sitios
Pneumonitis equina	Micropolyspora faeni, Thermoactinomyces vulgaris.	Pulmón
Lepra	Mycobacterium leprae	Piel
Mycobacteriosis	Varias especies de Mycobacterium	Pulmón, nódulos linfáticos, piel

CONTINUACION DE LA TABLA I

Enfermedad	Agente etiológico	Región afectada
Nocardiosis pulmonar	Nocardia asteroides, raramente N. brasiliensis	Pulmón
Nocardiosis sistémica	Nocardia asteroides, raramente N. brasiliensis	Pulmón, Sistema Nervioso Central, riñón y otros sitios
Nocardiosis	Nocardia asteroides, N. brasiliensis, posiblemente N. dassonvillei	Especialmente las extremidades
Tuberculosis	Mycobacterium tuberculosis	Pulmón

Referencias (38), (45), (63).

4.1 ACTINOMICOSIS

a) Definición

La actinomicosis es una enfermedad granulomatosa crónica, supurativa, cuyos abscesos drenan por fístulas o senos múltiples. En las lesiones, paredes de los senos, o secreciones se encuentran los "gránulos de azufre" característicos, o pequeñas masas, enmarañadas de filamentos ramificados grampositivos.

b) Distribución geográfica y fuente de infección

La actinomicosis se encuentra ampliamente distribuida el mundo. Esta infección es causada por actinomicetos anaerobios del género *Actinomyces*, entre los que destacan *Actinomyces israelii* que es un anaerobio residente normal de la cavidad bucal, se encuentra también en los dientes con caries y en las criptas amigdalinas. No se ha aislado de substratos naturales como plantas u otros residuos del suelo. (Thompson y Lovstedt (17), han demostrado la presencia de *A. israelii* patígeno, así como del anaerobio facultativo *A. naeslundii* en la boca y saliva consideradas normales, lo cual indica que la fuente de infección en la mayor parte de casos de Actinomicosis es endógena.

Desde la boca, *Actinomyces* penetra en las mucosas lesionadas, y por contigüidad infecta la cara y cuello para producir la mandíbula hinchada o "aterronada", de este sitio posteriormente pueden aspirarse *Actinomyces* hacia los pulmones y producir Actinomicosis torácica o pulmonar, o bien después de deglución de estos organismos invadir la mucosa intestinal para producir Actinomicosis abdominal. Esta enfermedad no se transmite naturalmente de hombre a hombre. La infección en bovinos, que es causada por *A. bovis* tampoco se transmite de un animal a otro o del

animal al hombre.

c) Frecuencia según la edad, raza, sexo y ocupación

Este padecimiento es poco frecuente en niños menores de 10 años, ya que la mayoría de los casos ocurre entre las edades de 15 a 35 años. Se observa con doble frecuencia esta infección en varones que en mujeres. Todas las razas son igualmente susceptibles.

d) Sintomatología

El cuadro clínico varía con la localización de la enfermedad, lo mismo que el pronóstico. La serie de Cope de 1330 casos (34), reveló que 56.8% de los mismos comenzaron en el cuello, 22.3% en el abdomen, 15 % en el tórax y 5.8% en otras partes del cuerpo. Suele clasificarse la enfermedad clínicamente en actinomicosis cervicofacial, torácica y abdominal, según la localización de la infección inicial.

1) Actinomicosis cervicofacial

Es la forma mas frecuente de la enfermedad, pero la de mejor pronóstico. Los microorganismos penetran primeramente por las mucosas de la boca y faringe, a través de las encías en torno a dientes con caries (14), en ocasiones son invadidas las glándulas salivales y lagrimales por extensión directa a través de sus conductos. Más rara vez comienza la infección en un nivel más inferior, en la faringe, produciendo edema laríngeo (47). Las infecciones que se originan en el maxilar superior pueden propagarse hacia arriba e infectar los huesos del cráneo desencadenando meningitis o absceso cerebral.

Es mas frecuente observar primero la infección en el maxilar inferior, sobre todo en la región de un diente infectado o en el alvéolo que deja una extracción reciente (14), al principio no es característica la inflamación de los tejidos blandos en la cara, pero la piel toma pronto un color rojo oscuro o púrpúreo, surge un tumor duro de tipo leñoso y la superficie aparece hinchada o "aterronada" (69). A medida que progresa la enfermedad se desarrollan abscesos ; aparecen fístulas múltiples, el dolor es mínimo a menos que haya infección secundaria, y el paciente conserva buen estado general si la enfermedad queda localizada en cara y cuello (93).

2) Actinomicosis torácica

La infección primaria del pulmón depende de la aspiración de A. israelii desde la boca, o por vía sanguínea a partir de los vasos relacionados con un foco infeccioso en la región cervicofacial. La infección secundaria de pleura y pulmón puede resultar de la propagación de una actinomicosis abdominal o hepática a través del diafragma (43).

Los síntomas durante las primeras semanas de la forma primaria de la enfermedad corresponden a los de una infección pulmonar subaguda con fiebre irregular moderada, tos y expectoración (91). A medida que progresa la enfermedad y se desarrollan pequeños abscesos en los pulmones, el esputo se torna mucopurulento y puede contener sangre. La participación de la pleura puede producir dolor, aunque algunos pacientes desarrollan derrame pleural, la invasión del actinomiceto es a menudo directa a través de la pared costal dando origen a un gran número de fístulas (102). El paciente pierde peso y fuerza, aparece anemia y puede desarrollar fiebre, sudores nocturnos, disnea u otros

signos de neumopatía grave. En ocasiones se observa disfagia como consecuencia de invasión del mediastino (67), pudiendo extenderse la infección al pericardio (96, 114) y corazón.

Los signos físicos en etapas tempranas recuerdan los de la tuberculosis salvo que los sitivos primarios de infección en actinomicosis pulmonar se encuentran más a menudo en las bases del pulmón. Surgen más tarde áreas masivas de aclaramiento, observandose retracción de la pared torácica y limitación de movimientos. Sugiere el diagnóstico la presencia de abscesos subcutáneos o abiertos que drenan.

Las radiografías del tórax (43), muestran a menudo áreas masivas de aclaramiento, las lesiones son casi siempre bilaterales y ocurren más a menudo en la mitad inferior de los pulmones. En la mayor parte de los casos avanzados se halla afectada la pleura con acúmulos de líquido. Las costillas se hallan afectadas con frecuencia y se notan en las mismas cambios destructivos y proliferativos.

3) Actinomicosis abdominal

La infección puede llegar al abdomen por metástasis o por extensión directa desde el tórax, pero mas frecuentemente se observa el proceso inverso, esto es, la infección se propaga desde el abdomen al tórax (24).

Los primeros síntomas se localizan en la región ileocecal, con producción de un cuadro que sugiere apendicitis aguda o subaguda. Estos síntomas son a menudo mínimos, y el primer signo de infección consiste en el desarrollo de una masa irregular definida en la región ileocecal o en otra parte del abdomen. La infección que comienza en el colon transversal o descendente simula carcinoma (67). A medida que progresa la enfermedad el paciente

pierde peso y fuerzas, aparece fiebre, escalofríos, sudores nocturnos, cólico intestinal y vómito (27). No es rara la aparición de fístulas en la pared abdominal; cuando el hígado participa en el proceso aparece ictericia, y la propagación a las vías urinarias puede casuar cistitis y pielonefritis.

El hallazgo físico mas frecuente es la identificación de una masa palpable dolorosa a la auscultación en la región del apéndice, aunque pueden encontrarse masas en otra parte del abdomen (7).

4) Actinomycosis genital y DIU (Dispositivo Intrauterino)

Diversos estudios realizados por Belur y Prabodh (5), Duguid y Parrat (23), y Duguid y Lomax (22), han demostrado la relación existente cada vez mas frecuente entre el uso del DIU y la actinomycosis en la región genital de mujeres usuarias de este tipo de anticonceptivo.

Duguid y Parrat (23), han realizado el estudio más completo al respecto, ellos examinaron la región cervical de 293 mujeres que utilizan el DIU realizando raspados de esta zona y ejecutando tinción de Gram. De las 128 mujeres que utilizan DIU de plástico, 40 (31.2%) fueron reportadas con principio o avance de actinomycosis causada principalmente por Actinomyces israelii, en contraste únicamente dos mujeres de 165 estudiadas (1.2%) que utilizan el dispositivo intrauterino que contiene cobre resultaron afectadas por este padecimiento, ninguna de 300 mujeres que utilizan anticonceptivos orales resulto infectada. Estos resultados sugieren que el DIU de plástico predispone a la colonización de actinomicetos, particularmente si su uso es prolongado, por otra parte la aparente acción bacteriostática del cobre en los dispositivos que lo contienen parece ser confirmada.

e) Patología

Destacan como características de la actinomicosis la supuración, los trayectos fistulosos y la formación de cicatriz. Las células que reaccionan de inmediato en torno a los gránulos actinomicóticos suelen ser neutrófilos, existen a veces macrófagos en gran número en la perifería de los abscesos.

Biopsia

El tejido para la misma suele extirparse de las fístulas, pero puede obtenerse también de hueso, lengua, ganglios linfáticos o lesiones aisladas.

El aspecto histológico en estas diversas localizaciones es similar. La reacción corresponde a veces a la de una infección purulenta con polimorfonucleares, pero en otras preparaciones tan solo se observan células de inflamación crónica. En otras etapas puede encontrarse tejido de granulación o formación de cicatriz densa. La biopsia procedente de la pared de un absceso o de una fístula puede no contener gránulos, mostrando el corte tan solo inflamación crónica.

Se establece el diagnóstico histológicamente por la identificación del gránulo actinomicótico, aunque puede sugerirlo la presencia de segmentos de micelios grampositivos ramificados y separados. Intercalados entre los filamentos pueden advertirse cuerpos cocoides o bacilares que representan bacterias contaminantes o filamentos fragmentados. El tamaño de los gránulos varía desde aquellos apreciables a simple vista, con 100 a 300 micras de diámetro, a los compuestos tan solo de unos cuantos filamentos. Si los datos clínicos y la respuesta tisular sugieren la posibilidad de actinomicosis, se procede a practicar cortes en parafina a diferentes niveles, pudiéndose encontrar el

gránulo en toda esta serie de cortes. En cortes teñidos con hematoxilina y eosina, es importante proceder a la tinción por el método de Gram, la cual pone de manifiesto el carácter grampositivo del micelio ramificado, que resulta un dato diferencial muy valioso para descartar otras formas de gránulos, causados por otras bacterias.

Necropsia

En ocasiones no se establece el diagnóstico de actinomicosis hasta la necropsia. El aspecto durante el examen necrópsico depende en gran medida de la vía de entrada de el organismo. La actinomicosis del cuello y de la cara, la forma mas frecuente de la enfermedad, se observa rara vez en la autopsia, pero la muerte puede deberse a la propagación del proceso desde la mandíbula hacia arriba a lo largo de la columna cervical hasta el interior de la cavidad craneana, o hacia abajo a la porción superior de la caja torácica. Cuando la infección comienza en el intestino grueso o en el apéndice, pueden identificarse abscesos diminuto de la mucosa o submucosa y a veces grandes úlceras. Es frecuente la propagación al hígado por la vena porta, produciendo múltiples abscesos. La diseminación por vía hematogéna a partir del intestino puede producir infección de los pulmones, cerebro y meninges, por fortuna esta extensión es poco frecuente.

4.2 NOCARDIOSIS

a) Definición

La nocardiosis es una infección pulmonar primaria aguda o crónica supurativa, producida por Nocardia asteroides que puede producir metástasis en el tejido subcutáneo (13), y otros órganos

especialmente cerebro (106), y meninges, con producción de abscesos múltiples en los cuales se identifican filamentos finos, ramificados, parcialmente ácido resistentes o gram positivos en el esputo, líquido cefalorraquídeo, pus de los abscesos subcutáneos o también en los exudados procedentes de las fístulas que drenan.

b) Distribución geográfica y fuente de infección

Se observa esta enfermedad en todos los confines del mundo y puede identificarse cuando se dispone de los medios diagnósticos adecuados. Mientras los actinomicetos anaerobios A. israelii y A. bovis no se encuentran en la naturaleza fuera del hombre. Nocardia asteroides se ha aislado a menudo del suelo. La nocardiosis no se propaga de hombre a hombre ni tampoco de animal al hombre.

c) Frecuencia según sexo, edad, raza y ocupación

Se observa nocardiosis en todos los grupos de edad sin preferencia racial alguna. En 165 casos recopilados por Pecora y Kohl (78), varió la edad desde cuatro meses a 87 años, pero la mayor parte de los sujetos infectados tenían entre 20 y 60 años. Correspondiendo a los hombres el 70% y a las mujeres tan sólo el 30% de los casos registrados.

d) Sintomatología

La nocardiosis generalizada tiene a menudo origen pulmonar, es similar a la neumonía bacteriana bronquial o lobulillar, especialmente la estafilocócica con piemía y abscesos en los órganos internos. Destacan entre los síntomas iniciales debilidad, malestar general, pérdida de peso, sudores nocturnos,

episodios febriles diarios y tos productiva con cantidad moderada de expectoración purulenta (39). Las metástasis tempranas producen abscesos subcutáneos diseminados cuya rotura espontánea da origen a fístulas acompañadas de supuración crónica (92).

Por exámen físico del tórax, se descubren anomalías a la percusión con disminución del murmullo vesicular en la zona afectada; unas veces se perciben estertores y otras no (41). Es frecuente la metástasis cerebral (106), pudiendo observarse como síntomas iniciales los de absceso o tumor del cerebro, con cefalea, náuseas y vómitos. Son raras las lesiones localizadas en las extremidades superiores aunque Klacsmann (51) y Pinsker (81) reprotan 2 casos de artritis producidas por Nocardia. Se ha observado un número creciente de casos de nocardiosis en sujetos con padecimientos crónicos como enfermedad de Hodgkin (66), leucemia y tumores malignos (40), lupus eritematoso (39), y en sujetos tratados con corticoesteroides (36).

Rayos X

No existe signo diagnóstico específico alguno de las radiografías pulmonares con lesiones por Nocardia, pues pueden simular tuberculosis del lóbulo superior, neumonía bronquial o incluso tumores metastásicos. No se ha reconocido en actinomicosis o Nocardiosis lesiones netamente circunscritas como tuberculomas.

e) Patología

La nocardiosis no es una infección tan crónica como la actinomicosis y el tejido cicatrizal no es tan prominente. Nocardia asteroides aparece en los tejidos como un micelio fino con tendencia a expandirse con formación de gránulos, como los que se ven en Actinomicosis y en Actinomicetoma. Las lesiones son supurativas, y los organismos se encuentran con formación de pus y necrosis de tejido.

Biopsia

En las paredes de los absesos se encuentra tejido de granulación e incluso cicatrizal con pus adherido a la superficie interna. En la pared del absesos y en el pus se verán hifas grampositivas ramificadas a menudo con aspecto arrosariado, las cuales no son visibles en tejidos teñidos con hematoxilina y eosina. Aunque Nocardia asteroides es parcialmente ácido resistente, las hifas en ocasiones no se tiñen con el colorante usual de fucsina fenicada que se utiliza para la identificación de bacilos tuberculosos, por lo que se recurre a una modificación de la técnica para poner de manifiesto la acidorresistencia de N. asteroides en el tejido.

Necropsia

La nocardiosis puede manifestarse como infección pulmonar solamente o como piemia. Se observan lesiones crónicas supurativas en los pulmones, cerebro o peritoneo o diseminadas en otras regiones, como en los músculos y tejido subcutáneo. No pueden diferenciarse el aspecto macroscópico de las lesiones de las correspondientes producidas por bacterias piógenas.

El curso de la neumonía nocardial es menos agudo que el de otras neumonías bacterianas. El aspecto macroscópico corresponde al de una neumonía lobar supurativa, casi siempre con absesos evidentes. Los cortes del pulmón muestran absesos con áreas cercanas de supuración y se advierten en las mismas linfocitos, células gigantes y cantidades variables de tejido cicatrizal. No se observa caseificación ni tubérculos.

Los absesos del cerebro varían en tamaño y pueden ser múltiples a menudo estos contienen pus verdoso espeso y cuando son de larga

duración, su pared es fibrótica con diversas formas de células inflamatorias crónicas. En los cortes teñidos por el método de gram se advierten gran número de filamentos finos ramificados gram positivos.

Los casos generalizados de nocardiosis son reales piemias con formación de nódulos fijos y fluctuantes, que se encuentran debajo de la piel del tronco, brazos y piernas. Estos nódulos contienen exudado verde amarillento, generalmente sin producción de fistulas.

4.3 MICETOMA ACTINOMICOTICO

a) Definición

El micetoma actinomicótico es una enfermedad granulomatosa y supurativa crónica del tejido subcutáneo y huesos producida por actinomicetos aerobios y caracterizada por tumefacción formación de abscesos y fistulas múltiples en las cuales se encuentran granos pigmentados que son también expulsados en el exudado.

b) Distribución geográfica y fuente de infección

Es más frecuente este padecimiento en regiones tropicales y subtropicales que en climas templados. En regiones tropicales domina en áreas con precipitación pluvial moderada a intensa más que en zonas semiáridas y desérticas. Se observa más a menudo el micetoma en América Central y del Sur, India, África Tropical.

Las diversas especies causantes del micetoma actinomicótico cambian de un país a otro. Streptomyces somaliensis que produce granos amarillos, fue le tipo mas frecuente encontrado en Sudán y Somalia, Actinomadura pelletieri productor de granos rojos se observó mas a menudo en Senegal y Mauritania.

Actinomadura madurae que elabora grános blancos amarillentos o blancos se identificó en Europa y Africa, Nocardia asteroides productor de granos amarillentos o blancos, es raro, pero se han reportado casos en E. U. y Líbano, Nocardia brasiliensis productor de granos blanco amarillentos se halla más a menudo en México y América Central y del Sur; y Streptomyces paraguayensis con grános nêgros es frecuente en Paraguay.

Los actinomicetos aérobios patógenos residen generalmente en el suelo, y causan infecciones en el hombre cuando penetran en los tejidos. No existe transmisión de esta enfermedad de hombre a hombre o de animal a hombre.

c) Frecuencia según el sexo, edad, raza y ocupación

Ocurre más a menudo micetoma en sujetos de edad mediana, entre 20 y 50 años, y es de tres a cinco veces más frecuente en hombres que en mujeres; todas las razas son afectadas en forma idéntica. Esta enfermedad es característica de los trabajadores agrícolas que realizan su trabajo descalzos en las regiones tropicales y subtropicales del mundo.

d) Sintomatología

El cuadro clínico del micetoma actinomicótico es idéntico al de la maduromicosis cuando la infección se localiza en el tejido subcutáneo de una extremidad. La infección unilateral de las extremidades, casi siempre del pie y la pierna, en ocasiones de la mano y brazo y rara vez del tórax y cuello, sigue de inmediato a la lesión y a la llegada a los tejidos de una especie de Nocardia o Streptomyces aerobio saprófito pero potencialmente patógeno. Al cabo de algunos días o a veces varias semanas o meses después de la lesión original, aparece un nódulo; pústula o masa indurada.

indolora que se abre espontáneamente. Siguen luego períodos de exacerbación durante los cuales aparecen otras pustúlas o nódulos que se abren y excretan exudado seroso o sanguinolento. La infección crónica lentamente progresiva evoluciona en semanas o meses y se caracteriza por formación de abscesos con trayectos fístulosos entrelazados. El proceso supurativo invade los hueso, se propaga a la superficie y desemboca en la piel con secreción de exudado purulento o serosanguinolento en el cual pueden encontrarse grános pigmentados de diversos colores. El edema, fibrosis, y destrucción del hueso causa finalmente grave deformidad en las extremidades infectadas, la cual se hallan cubierta de un gran número de fístulas con bordes granuloso, lobulados (101).

e) Patología

Los grános encontrados en las lesiones de micetoma se hallan asociados con formación de pus y necrosis tisular. Se encuentran casi siempre en el interior de los abscesos, cuyo tamaño varía notablemente según el agente etiológico.

Biopsia

En el tejido extirpado del micetoma se descubren grános en abscesos similares. Si tan solo se nota inflamación crónica y tejido cicatrizal en las paredes de los abscesos y en las fístulas, es necesario practicar nuevos cortes para poner en evidencia los grános característicos (18). Los cortes se tiñen con el método de Gram con objeto de comprobar la masa micelial grampositiva de los actinomicetos.

Los grános del micetoma se encuentran en el interior de cavidades diminutas formadas por neutrófilos, en el pus existe número variable de macrófagos. En ocasiones se observan células

gigantes adheridas a la superficie del grano o en la periferia de los abscesos. Los abscesos tienden a ramificarse, produciendo fístulas hacia la piel y trayectos fístulosos que drenan crónicamente. A menudo se infectan los huesos del pie con producción de periostitis y osteomielitis supurativa (33). En infecciones viejas se forma tejido de granulación y cicatrizal produciendo un verdadero granuloma (masa inflamatoria de aspecto tumoral) (101). La caseificación y el aspecto tuberculoide no son característicos del micetoma.

V) IDENTIFICACION DE ACTINOMICETOS
COMO AGENTE ETIOLOGICO.

5.1 DIAGNOSTICO DE ACTINOMICOSIS

a) Exámen Directo

Se recoge por aspiración pus de las lesiones cerradas utilizando jeringa y aguja estériles, y se examinan las preparaciones frescas en busca de gránulos típicos. Puede obtenerse pus de las fístulas que drenan por colocación de un tubo de ensayo estéril en el borde de la lesión con objeto de que resbale a lo largo de las paredes; estos tubos deben protegerse de la luz y examinarse para identificar la presencia de pequeños gránulos. Si no se descubren gránulos en el pus que mana libremente de los trayectos fístulosos, es necesario proceder al raspado de las paredes y examinar el material obtenido. La imposibilidad en ocasiones de encontrar gránulos en el pus se supera generalmente mediante aplicación de compresas de gasa con solución salina estéril en las fístulas, dejándolas durante toda la noche; a la mañana siguiente pueden verse gránulos sobre la gasa (17).

Los gránulos se examinan al microscopio como preparaciones frescas, por colocación de una asa de material infectado que los contenga sobre un portaobjetos ejerciendo luego una suave presión sobre los mismos con un cubreobjetos. Estos gránulos son cuerpos lobulares compuestos de filamentos entrelazados de 1 micra de diámetro, cuyos extremos se hallan a menudo rodeados de una vaina que brinda a los mismos aspecto de maza (ver inciso IV). Todos los gránulos deben ser sometidos a aplastamiento y teñidos por el método de Gram para demostrar la presencia de filamentos ramificados grampositivos.

En ocasiones no se encuentran gránulos en el pus de abscesos subcutáneos, líquido cefalorraquídeo, muestras broncoscópicas y esputo, de aquí que deben examinarse frotis para determinar la

presencia de filamentos ramificados grampositivos.

b) Cultivo

Los gránulos deben colocarse en un pequeño tubo con agua destilada estéril y lavarse por agitación del mismo cambiando el agua por lo menos tres veces. Después se procede a triturar los gránulos. La mezcla resultante se siembra en estrias sobre placas de agar sangre, almidón con extracto de carne, o de agar con infusión cerebro corazón. Se incuban todos los cultivos a 37 C en condiciones anaerobias por un tiempo de 24 a 48 horas, buscando las colonias características principalmente del género *Actinomyces* (ver inciso II), posteriormente se realizan pruebas bioquímicas para identificación de especie (inciso III).

c) Inoculación animal

Actinomyces israelii posee patogenicidad escasa e irregular para los animales de laboratorio. En ocasiones puede inducirse una enfermedad que cura espontáneamente mediante cultivos puros. Las inoculaciones repetidas por la misma vía o vías distintas o las tentativas para sensibilizar animales antes de la inoculación no han dado origen a infección progresiva, tan solo se ha observado reacción tisular localizada. Sin embargo Unger y Moser (108), han informado en el sentido de que una suspensión de cultivos puros en mucina gástrica de cerdo al 5% indujo enfermedad progresiva en ratones jóvenes inoculados por vía intraperitoneal. Estos mismos investigadores han producido actinomicosis en cuyos por inyección intraperitoneal de cultivos puros.

d) Diagnóstico Diferencial

La actinomicosis adopta tal variedad de cuadros clínicos que debe diferenciarse de tuberculosis, sífilis, neoplasias, muermo, tularemia, granuloma inguinal, osteomielitis, botriomicosis, amibiasis, fiebre tifoidea, carcinoma de intestino, absceso hepático, blastomicosis, coccidioidomicosis, criptococosis, y esporotricosis.

5.2 DIAGNOSTICO DE MICETOMA ACTINOMICOTICOa) Exámen Directo

El pus de los abscesos o de las fístulas se examinan en preparación reciente en búsqueda de los gránulos característicos los cuales aparecen como masas lobuladas, entremezcladas de filamentos finos de 1 micra de diámetro, cuyos extremos terminan eventualmente en maza. Se obtienen frotis de estas preparaciones por simple retirada del cubreobjetos y tinción de Gram, se observan en los mismos, filamentos ramificados grampositivos o elementos bacilares cortos (ver inciso II).

Las especies de actinomicetos productores del micetoma poseen características particulares del grano que son muy útiles en su diferenciación:

TABLA I
CARACTERISTICAS DE GRANULOS EN ACTINOMICETOMA

Agente etiológico	Color	Tamaño	Clavas
Nocardia asteroides	Blanco-amarillentas	15-200 micras	+/-
N. brasiliensis	" "	15-200 micras	+/-
N. caviae	" "	15-200 micras	+/-

CONTINUACION DE LA TABLA I

Agente etiológico	Color	Tamaño	Clavas
<i>Actinomadura madurae</i>	Blanco-amari- lento.	2-10 mm.	+
<i>A. pelletieri</i>	R rojo brillante	150 -500 micras	-
<i>S. somaliensis</i>	Amarillento	0.5-2 mm	-
<i>S. paraguayensis</i>	Negro	500 micras	--

b) Cultivo

Los gránulos grandes deben aislarse del pus y lavarse varias veces en agua destilada estéril, después de los cual se someten a aplastamiento para sembrarlos por estría en medios adecuados.

Los gránulos pequeños de *N. asteroides*, *N. brasiliensis* o *N. caviae* quizá no se aprecien macroscópicamente en los exudados por lo que deben sembrarse el pus en estrías en el medio conveniente.

Los actinomicetos aerobios crecen en todos los medios bacteriológicos, se incuban a 37 C y a temperatura ambiente medios a base de agar sangre glucosa de Sabouraud, después de una semana se observan las características de las colonias para determinar especie (ver inciso II).

Si es necesario se procede a realizar pruebas bioquímicas para lograr una identificación total del agente etiológico (ver inciso III).

c) Inoculación animal

Se producen gránulos en los tejidos y exudados de ratones, cobayos y conejos inoculados por vía intraperitoneal, intravenosa o ambas, se encuentran también filamentos aislados en el exudado purulento.

d) Diagnóstico diferencial

La aparición de gránulos actinomicóticos en cortes de tejido y exudados, y la identificación del cultivo obtenido a partir de los mismos permite el diagnóstico de micetoma.

5.3 DIAGNOSTICO DE NOCARDIOSIS

a) Exámen directo

En nocardiosis generalizada N. asteroides no forma gránulos. El organismo aparece como grampositivo o en forma de filamentos ramificados, finos acidorresistentes en el esputo, pus, líquido cefalorraquídeo u otros exudados procedentes de las lesiones. Deben hacerse frotis de estos exudados y teñirse por el método de Gram para poner de manifiesto formas ramificadas grampositivas, que a veces muestran aspecto arrosariado.

b) Cultivo

Pueden cultivarse todos los materiales en medios ordinarios de laboratorio a la temperatura ambiente y a 37 C. Deben inocularse en forma masiva y en estría, con muestras biológicas que se supone contienen N. asteroides, medios a base de agar glucosa con infusión de carne y agar glucosa de Sabouraud, no procede añadir antibióticos a estos medios ya que el organismos es susceptible a los mismos. Como la temperatura máxima para el desarrollo de N. asteroides es de 45 C pueden evitarse contaminantes incubando los cultivos a temperaturas superiores a 37 C. Después de 3-15 días se observa el crecimiento de las colonias características de Mycobacteria asteroides y en ocasiones podemos encontrar como agente etiológico de la Nocardiosis a Mycobacteria brasiliensis por lo que es necesario realizar pruebas bioquímicas para su diferenciación.

c) Inoculación Animal

N. asteroides es patógena para el cobayo y ratón. Mohapatra y Pine (17), comprobaron la virulencia de este organismo en el ratón mediante inoculación del organismo por vía intravenosa e intraperitoneal. Se identifica el organismo en los tejidos inflamados y en los exudados en forma de filamentos diseminados, finos, grampositivos y parcialmente ácido alcohol resistentes.

d) Diagnóstico diferencial

Es esencialmente el mismo que para la actinomicosis, excepto que en nocardiosis no se encuentran granos, y la enfermedad se confunde mas a menudo con tuberculosis, debido a la presencia de organismos acidoresistentes en las secreciones y en ocasiones por la sintomatología y el aspecto histológico. En la tabla II se presentan las características de N. asteroides y M. tuberculosis que hacen posible su diferenciación.

TABLA II

DIFERENCIACION DE N. asteroides y M. tuberculosis

Enfermedad	Nocardiosis	Tuberculosis
Agente etiológico	N. asteroides y N. brasiliensis	Mycobacterium tuberculosis
Crecimiento	Rápido de 8-15 días ± 28-30 C	Lento de 15-30 días, a 37C
Medios de Cultivo	Agar glucosa de Sabouraud	Lowenstein-Jensen Petraghani
Afinidad tintorial	Parcialmente, ácido alcohol-resistentes	Muy ácido alcohol-resis- tentes.
Morfología	Filamentos microsifo- nados, que fragmentan	Bacilos gram- positivos

6.1 TRATAMIENTO EN ACTINOMICOSIS

a) Inmunidad

Como se ha observado Actinomyces israelii se puede encontrar normalmente en un gran porcentaje de casos y la actinomicosis no es muy frecuente, por lo que debe existir Inmunidad Natural manifiesta. Stewart (102), comprobó la existencia de anticuerpos en los sueros de pacientes con actinomicosis mediante el uso de pruebas de hemaglutinación y fijación del complemento, utilizando antígenos de polisacáridos y de nucleoproteínas derivados de A. israelii. Sin embargo estos antígenos reaccionaron también en estas pruebas con sueros de pacientes afectados de tuberculosis e infecciones estreptocócicas. Basten y colaboradores (102), recurrieron a antígenos solubles en acetona en una prueba de precipitinas en gel de agar para poner en evidencia anticuerpos en la enfermedad generalizada. Sin embargo, no pudieron identificarse tales anticuerpos en actinomicosis localizada, por otra parte, los antígenos usados produjeron bandas de precipitación con sueros procedentes de otras enfermedades, invalidando así su empleo para el diagnóstico de actinomicosis.

b) Tratamiento

Es esencial el drenaje quirúrgico, adecuado en casos agudos, es importante explorar y drenar todos los trayectos fistulosos, así como extirpar los tejidos gravemente lesionados. Las lesiones pleurales requieren drenaje quirúrgico, pero las pulmonares suelen drenar por los bronquios. En casos que no responda a otros tipos de tratamiento, se procede a recurrir a lobectomía o neumonectomía.

En cuanto al tratamiento con antibióticos, la penicilina es sin

VI) TRATAMIENTO DE LAS ENFERMEDADES
CAUSADAS POR ACTINOMICETOS.

duda la droga de elección para la Actinomycosis. El agente etiológico es muy susceptible a este antibiótico, pero la respuesta es lenta, quizá debido a la dificultad para la penetración de la penicilina en las masas granulomatosas densas. La dosis fluctúa de una a cinco millones de unidades diarias, una ayuda en el tratamiento que puede ser utilizada es la administración de yoduro de potasio, este agente actúa sobre el tejido de granulación, puesto que estimula la absorción y facilita la penetración de la penicilina.

En ocasiones en que ha fracasado la penicilina se ha logrado buen éxito con estreptomycina, cloramfenicol y tetraciclina (17, 19, 102). Algunos casos de actinomycosis, especialmente los más crónicos, suelen infectarse secundariamente con una gran variedad de organismos, los cuales pueden controlarse mejor con los antibióticos de amplio espectro que con penicilina. El tratamiento prolongado con antibióticos de amplio espectro produce complicaciones que no suelen observarse cuando se emplea penicilina durante largos períodos. Los fracasos más evidentes del tratamiento con antibióticos depende muy a menudo de incapacidad para descubrir y drenar bolsas purulentas ocultas.

Las sulfamidas (100), curan la mayor parte de actinomycosis si se administran en cantidad suficiente y durante períodos prolongados, es preciso alcanzar un nivel sanguíneo de 5 a 10 mg por 100 ml, esta terapéutica con sulfamidas se debe continuar durante tres a seis meses después de que el paciente se encuentra bien en apariencia, para disminuir las probabilidades de recaída. El tratamiento específico con penicilina ha modificado la trayectoria de la actinomycosis desde un padecimiento crónico con índice elevado de mortalidad, sobre todo en las infecciones torácicas y abdominales, a una enfermedad de muy buen pronóstico.

6.2 TRATAMIENTO EN ACTINOMICETOMA

a) Inmunidad

No se ha reportado inmunidad natural contra el micetoma actinomicótico. Se produce la infección después de la penetración de actinomicetos saprófitos, residentes en el suelo, pero patógenos a través de la piel lesionada.

En los sueros de conejos inmunizados con N. asteroides y N. brasiliensis se comprobó la presencia de aglutininas, precipitinas y anticuerpos fijadores del complemento, sin embargo, en la mayor parte de casos estas pruebas no fueron específicas. Staples (101), ha preparado derivados proteínicos purificados (PPD) llamado "sensitina" a partir de N. asteroides y N. brasiliensis que dió cutireacción específica en sujetos infectados con este organismo. González Ochoa (17), había informado previamente que un extracto de polisacárido produjo reacción cutánea específica en tales pacientes.

b) Tratamiento

Se debe formular diagnóstico temprano antes que la destrucción sea demasiado extensa, e incluso de esta manera es necesario una combinación de tratamiento médico y quirúrgico para lograr una curación rápida y completa. En el tratamiento quirúrgico se exploran los trayectos fistulosos para proporcionar drenaje adecuado y extirpar el tejido enfermo en la cantidad necesaria para limpiar y reparar de la mejor forma posible el área afectada.

La amputación de una extremidad enferma debe posponerse hasta estar plenamente convencidos del fracaso de la extirpación del tejido infectado, del drenaje y del tratamiento médico.

Las sulfamidas junto con la cirugía ofrecen tratamiento eficaz para el micetoma actinomicótico. La terapéutica con sulfadiazina sola o combinada con sulfameracina para obtener concentraciones sanguíneas elevadas (10 a 20 mg/100ml), debe continuarse hasta controlar la enfermedad activa (101). Se persiste con dosis de mantenimiento de sulfamidas durante tres o cuatro meses después de que el paciente parezca ya curado.

El pronóstico de la enfermedad no es muy satisfactorio debido a que los pacientes con micetoma solicitan atención médica meses o años después de la infección original y en consecuencia, la extensión de las lesiones tisulares dificulta el tratamiento y recuperación, esta enfermedad no se disemina pero a menudo es necesaria la amputación del órgano afectado.

6.3 TRATAMIENTO EN NOCARDIOSIS

En ocasiones es necesario una combinación de tratamiento quirúrgico y médico. Se indica la resección pulmonar en pacientes con zona de pulmón muy destruidas, y es esencial para la recuperación en casos de absceso cerebral, el drenaje temprano.

El tratamiento médico es en general el mismo que para la actinomicosis, con la excepción de que Nocardia es mas susceptible a las sulfamidas, en concentraciones sanguíneas de 10 a 20 mg por 100 ml. Aunque se han reportado casos de curación de personas con infección intracranial por N. asteroides con tratamiento a base de antibioticos, como amikacina, y minociclina (49, 115 y 116), la terapeutica de elección en los ultimos años se ha realizado por la combinación de dos medicamentos que actúan sinérgicamente y que han logrado un índice de recuperación en Nocardiosis de aproximadamente 88%, esta droga recibe el nombre de

Trimetoprim,-Sulfametoxazol (TMP-SMZ), el mecanismo de acción de TMP-SMZ se sitúa en la interferencia de dos pasos en la biosíntesis del ácido fólico en Nocardia, la primera interferencia corresponde a una inhibición competitiva de la incorporación del ácido p-aminobenzoico para la formación del dihidrolato, la segunda inhibición de la ruta biosintética ocurre a nivel de la enzima dihidrofolato reductasa que es necesaria para la conversión del ácido dihidrofólico a tetrahidrofolato precursor del ácido fólico.

Los estudios realizados por Smego y colaboradores (98), han demostrado la eficacia de TMP-SMZ como droga de elección para el tratamiento de Nocardiosis, dichos estudios se encuentran sintetizados en la tabla I de este capítulo. Asimismo el tratamiento con trimetoprim-sulfametoxazol en infecciones por Nocardia y el índice de recuperación reportados en la literatura de los últimos cinco años se encuentran plasmados en la tabla II.

TABLA I

INFECCION POR NOCARDIA TRATADA CON SULFAMETOXAZOL-TRIMETOPRIM

#/Edad/Sexo	Enfermedad primaria	Organismo	Sitio afectado	Terapia	Resultado
1/55/F	Diabetes mellitus	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
2/79/M	Leucemia	N. brasiliensis	Pulmón Piel	TMP-SMZ	Curación
3/68/M	-	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
4/61/M	Artritis	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
5/33/F	Alcoholismo	N. asteroides	Meninges	TMP-SMZ	Curación
6/10/F	-	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
7/25/M	Enfermedad granulomatosa crónica	N. brasiliensis	Pulmón Piel Meninges	TMP-SMZ eritromicina	Curación
8/15/M	Enfermedad de Hodgkin's	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
9/55/M	Proteinosis pulmonar	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
10/22/F	-	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
11/22/M	Transplante renal	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
12/60/M	Sarcoidosis	N. asteroides	Cerebro	TMP-SMZ ampicilina	Curación
13/56/F	-	N. brasiliensis	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
14/24/M	Transplante	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Muerte

CONTINUACION DE LA TABLA I

#/Edad/Sexo	Enfermedad primaria	Organismo	Sitio afectado	Terapia	Resultado
15/44/M	Transplante renal	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
16/70/M	Vasculitis	N. asteroides	Cerebro	TMP-SMZ ampicilina y cirugía	Muerte
17/42/M	Transplante renal	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
18/65/L		N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ	Curación
13/15/M	Transplante	N. asteroides	Pulmón	TMP-SMZ amikacina tetraciclina	Curación

TABLA II

TRATAMIENTO DE INFECCIONES POR NOCARDIA CON TMP-SMZ

(Reportados en la literatura de los últimos 5 años)

Autores	Sitio afectado	Organismo	Terapia	Duración	Resultado
Maderazo	Pulmón, cerebro	N. asteroides	TMP-SMZ quirur- gico	12 meses	Curación
Balkie	Pulmón, cerebro piel	N. asteroides	TMP-SMZ	12 meses	Curación
Marcovitch Norman	Pulmón, SNC	N. asteroides	TMP-SMZ	3 meses	Muerte
Pinkhas	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	7 meses	Curación
Cook	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	15 sem.	Curación
Cook	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	6 sem.	Curación
Cook	Pulmón, piel	N. asteroides	TMP-SMZ	6 meses	Curación
Pavillard	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	9 sem.	Curación
Pavillard	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	23 sem.	Curación
Pavillard	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	28 sem.	Curación
Pavillard	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	15 sem.	Curación
Pavillard	Pulmón, SNC	N. asteroides	TMP-SMZ	17 sem.	Curación
Pavillard	Pulmón, piel	N. asteroides	TMP-SMZ	2 días	Muerte
Katz	Meninges	N. asteroides	TMP-SMZ quirur- gico	12 meses	Curación
Smith	Pulmón, meninges	N. asteroides	TMP-SMZ	26 sem.	Curación
Smith	Pulmón, cerebro	N. asteroides	TMP-SMZ	3 meses	Curación

CONTINUACION DE LA TABLA II

Autores	Sitio afectado	Organismo	Terapia	Duración	Resultado
Byrne	Cerebro	N. asteroides	TMP-SMZ	8 meses	Curación
Stamm	Pulmón, cerebro	N. asteroides	TMP-SMZ	15 días	Muerte
Stamm	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	15 sem.	Curación
Stamm	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	12 sem.	Curación
Stamm	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	2 sem.	Muerte
Stewart	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	12 sem.	Curación
Stewart	Pulmón, piel	N. asteroides	TMP-SMZ	11 meses	Curación
Stewart	Diseminada	N. brasiliensis	TMP-SMZ	3 meses	Curación
Sierra	Pulmón	N. asteroides	TMP-SMZ	2 meses	Curación
Lovett	Pulmón, pleura	N. asteroides	TMP-SMZ eritromicina	15 meses	Curación
Lampe	Piel, nódulos linfáticos	N. brasiliensis	TMP-SMZ	5 meses	Curación
Lampe	Piel, linfáticos	N. brasiliensis	TMP-SMZ	4 meses	Curación
Lampe	Piel, linfáticos	N. brasiliensis	TMP-SMZ	3 meses	Curación
Maibach	Micetoma	N. brasiliensis	TMP-SMZ	10 sem.	Curación
Mahgub	Micetoma	N. brasiliensis	TMP-SMZ	22 meses	Curación
May	Micetoma	N. asteroides	TMP-SMZ	9 meses	Curación
Magaña	Micetoma	N. brasiliensis	TMP-SMZ	8 meses	Curación

CONTINUACION DE LA TABLA II

Autores	Sitio afectado	Organismo	Terapia	Duración	Resultado
Evans	Piel, linfáticos	N. caviae	TMP-SMZ	3 meses	Curación
Gettlich	Diseminada	N. asteroides	TMP-SMZ	5 meses	Curación
Sher	Diseminada	N. asteroides	TMP-SMZ	2 meses	Muerte
Cchoa	Micetoma	N. brasiliensis.	TMP-SMZ	14 meses	Curación
Hocken	Fulmón, pleura	N. asteroides	TMP-SMZ	6 meses	Curación

TMP-SMZ = Trimetoprim-Sulfametoxazol

Referencias: (49), (116), (115), (99), (102), (108), (100), (101)

CAPITULO 3

IMPORTANCIA INDUSTRIAL DE LOS ACTINOMICETOS

I) PRODUCCION DE ANTIBIOTICOS
FOR ACTINOMICETOS.

1.1 GENERALIDADES

El término antibiótico fue propuesto por Waksman (113), y definido como un producto del metabolismo microbiano que aún en bajas concentraciones es capaz de inhibir el crecimiento y/o sobrevivencia de de microorganismos, esta definición tiene una aplicación limitada pues excluye a agentes quimioterapéuticos sintéticos, como las sulfas, y a varias sustancias antimicrobianas producidas por organismos superiores como son la quinina y la lisozima.

La industria de la fermentación recibió un gran impulso con el advenimiento y explotación de antibióticos como agentes terapéuticos, en un corto período de aproximadamente 15 años cientos de antibióticos han sido descubiertos y la producción de los mismos se estima que excede a las 100,000 toneladas anuales en el mundo (87).

Los actinomicetos ocupan un lugar preponderante entre las bacterias productoras de antibióticos por la cantidad producida y por la aplicación terapéutica de los mismos, destacando en este aspecto los géneros *Streptomyces*, *Micromonospora* y *Actinoplana*. Muchas bacterias verdaderas producen antibióticos particularmente de el género *Bacillus*, sin embargo, muchas de estas sustancias son de naturaleza polipeptídica y tienden a ser inestables, tóxicas y difíciles en su purificación, los antibióticos producidos por hongos también son tóxicos para uso médico, excepciones obvias lo son la penicilina y cefalosporina de gran aplicación terapéutica.

Los antibióticos en general son selectivos en su acción, cada uno usualmente actúa sobre un número limitado de microorganismos llamado este "espectro de inhibición". La aplicación prioritaria de los antibióticos es su uso en Medicina y Veterinaria, pero también

es frecuente su utilización en tratamiento de enfermedades de plantas, nutrición animal y preservación de alimentos y otros materiales.

La producción industrial de los antibióticos por actinomicetos y otros microorganismos se realiza generalmente por procesos microbiológicos, aunque algunas sustancias como el cloramfenicol primeramente producido por Streptomyces venezuelae actualmente es obtenido por síntesis química, pero la dificultad para obtener la gran mayoría de los antibióticos por este método estriba en la amplia naturaleza química y complejidad de estos metabolitos, por lo que su producción microbiológica es el método de elección.

La fermentación industrial de los antibióticos es similar en muchos aspectos a otros tipos de fermentaciones obtenidas en gran escala. En forma general en una fermentación se tiene un marco de referencia que sirve como base de ésta, iniciándose por la selección primaria de especies que se piense sean productoras del metabolito en cuestión, por medio de la regulación de parámetros como pH, temperatura, medio de cultivo que favorezcan el crecimiento de los organismos productores. Posteriormente se realiza una selección secundaria que tiene como objetivo identificar a las especies que producen en mayor cantidad el metabolito, en el caso de la producción de antibióticos esta selección puede ser empírica pero más comúnmente el organismo es sujeto a tratamiento primario con un agente mutágeno, tal como rayos X, luz ultravioleta, etc. Posteriormente las expresiones fenotípicas como color y apariencia de la colonia se correlacionan con la actividad antibiótica, ejemplo de esto lo constituye la alta producción de tetraciclinas en colonias pigmentadas amarillo-naranja que aparecen después de ser sometidas a radiaciones (3). En la producción de antibióticos esta etapa es de suma importancia pues son rea-

lizadas pruebas "in vivo" e "in vitro" para determinar la toxicidad y actividad antibiótica de la sustancia producida.

Una vez realizados estos pasos y establecida la conveniencia de la fermentación a gran escala del producto, se procede al mantenimiento y propagación del cultivo (preparación del inóculo), en las condiciones óptimas de temperatura y pH. Posteriormente el inóculo es transportado a los toneles de fermentación, bajo condiciones de fermentación estrictamente reguladas en Temperatura, pH, tiempo, aereación y agitación. El último paso es la recuperación del producto, en la fermentación de antibióticos los métodos utilizados se basan en las propiedades fisicoquímicas del antibiótico; consecuentemente el primer paso en el proceso de purificación es la remoción de células microbianas por filtración o centrifugación, el filtrado es sometido a extracción de solventes, adsorción-elución, o precipitación para la recuperación del antibiótico de acuerdo a sus propiedades de solubilidad y de carácter iónico. La identificación final del antibiótico se realiza con una o la combinación de las pruebas siguientes: cromatografía de papel, electroforesis, solubilidad, estabilidad, espectro antimicrobiano, espectrofotometría de masas, rotación óptica y absorción de luz ultravioleta e infrarroja.

1.2 ANTIBIOTICOS PRODUCIDOS POR EL GENERO STREPTOMYCES

El género Streptomyces es ampliamente reconocido como el máximo productor de antibióticos, la literatura reportada al respecto enumera cientos de antibióticos producidos por este género, los cuales en su mayoría tienen aplicación terapéutica y son producidos comercialmente, además existen diversos trabajos de investigación que reportan con admirable frecuencia el descubrimiento de antibióticos producidos por Streptomyces, la siguiente

lista es una revisión selectiva de los antibióticos principales producidas por el género Streptomyces:

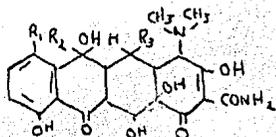
- 1) ACTINOBOLINA, $C_{13}H_{20}N_2O_6$, fue descrito por Haskell (56), es producido por Streptomyces griseoviridus var. atrofaciens, inhiben el crecimiento de ciertas bacterias gram positivas.
- 2) ACTINOSPECTACINA, antibiótico básico producido por Streptomyces spectrabilis, fue descubierto por Mason, su fórmula empírica es $C_{14}H_{20}N_2O_7$. Es activo contra una gran variedad de bacterias gram negativas y gram positivas.
- 3) AMIDINOMICINA, aislado por Nakamura de un cultivo de S. flavochromogenes. Su estructura corresponde a N-2 aminoetil-3- amino ciclopentil carboxamida. Este antibiótico establece parcial inhibición de bacterias formadoras de esporas.
- 4) Antibiótico No. 1415, aislado por Sgarzi de Streptomyces 1415. Este establece un pequeño espectro de actividad contra bacterias gram positivas, es inactivo sobre bacterias gram negativas y estreptococos no hemolíticos.
- 5) Antibiótico 2703 aislado de Actinomyces fluorescens
- 6) Antibiótico antifungal X-5079, activo contra micosis sistémica estudiado por Emmons.
- 7) ASCOMYCINA, antibiótico antifúngico aislado por Arai.
- 8) BANDAMICINA, antibiótico con nitrógeno primario libre, activo contra bacterias gram positivas.
- 9) CARBONICINA, obtenido de Streptomyces halstedii, activo contra bacterias gram positivas, y bacilos acidoresistentes.

(121)

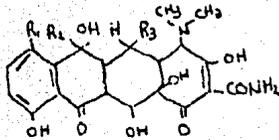
- 10) CAPREOMICINA, antibiótico soluble en agua, activo contra tuberculosis en ratón, producido por Streptomyces capreolus es un antibiótico peptídico.
- 11) DERMOSTATINA, antibiótico antifúngico producido por S. viridogriseus.
- 12) HAMICINA, heptano antifúngico producido por Streptomyces pimprina.
- 13) LANKAMICINA, producido por Streptomyces violaceoriser, activo contra bacterias gram positivas.
- 14) LINCOMICINA, producido por Streptomyces lincolnensis, actúa sobre bacterias gram positivas.
- 15) LUCENSOMICINA, agente antifúngico producido por varias especies de Streptomyces.
- 16) FATHOCIDINA, antibiótico antifúngico, no se descompone arriba de 300 C y su fórmula empírica es de $C_4H_4N_6O$.
- 17) FITOBACTERIOMICINA, efectivo contra bacterias patógenas de plantas, producido por varias especies de Streptomyces.
- 18) RUFOMICINAS A y B, producido por Streptomyces atratus, activo contra bacterias ácido resistentes.
- 19) SEKASINA, efectivo en el tratamiento de septicemia por pneumococo y estafilococos.
- 20) SEMIMICINA, efectivo contra Candida albicans
- 21) STENDOMICINA, activo contra hongos
- 22) TILOSINA, activo contra bacterias gram positivas y ciertas bacterias gram negativas, su fórmula empírica es $C_{45}H_{77}NO_7$.

- 23) UREDOLISINA, aislado de Streptomyces griseus, actúa sobre bacterias gram positivas.
- 24) VENTURICIDINA, aislado de S. griseolus, activo contra patógenos de plantas, Blastomyces dermatitidis y Aspergillus fumigatus. Soluble en solventes orgánicos y su fórmula empírica es $C_{43}H_{71}O_{13}N$.
- 25) VERNAMICINA A y B, aislado de Streptomyces lordensis, activo contra bacterias gram positivas, soluble en solventes orgánicos.
- 26) ZYGOMICINA, producido por Streptomyces pulveraceus, activo contra bacterias gram positivas y gram negativas.
- 27) ACTINOMICETINA, ejerce un efecto parecido a la lisozima sobre bacterias y es producido por algunos cultivos de Streptomyces.
- 28) ANFOTERICINA B, producido por S. nodosus, de naturaleza polienica, tiene actividad antifúngica.
- 29) ACTINOMICINA, descubierta por Waksman (113), fue aislada de Streptomyces antibioticus. Es un pigmento rojo el cual es altamente activo contra organismos gram positivos (68).
- 30) ACTINOHORDINA, antibiótico pigmentado producido por Streptomyces violaceoruber, activo contra hongos
- 31) CLORAMFENICOL, producido actualmente por síntesis química total, producido también por Streptomyces venezuelae, es de amplio espectro contra bacterias gram positivas y negativas, micoplasma, rickettsia, protozoarios y hongos.
- 32) KANAMICINA, producido por S. kanamyceticus, activo contra bacterias gram positivas penicilina resistentes y Proteus sp.

- 33) MITOMICINA, activo contra varias especies de E. coli
- 34) NEOMICINA, antibiótico glicosídico, producido por Streptomyces fradiae, activo contra bacterias gram positivas y negativas.
- 35) NISTATINA, producida por S. noursei, activo en infecciones fúngicas de piel.
- 36) NOVOBIOCINA, antibiotico glicosídico, producido por S. niveus activo contra bacterias gram positivas.
- 37) POLIENOS, grupo de antibióticos antifúngicos. Un estudio de 1000 especies productoras (56), reveló que 58.6% eran heptanos, 34% tetranos y 6.4% pentanos, y entre las principales especies productoras se encontro S. fungicidicus, S. albireticuli, S. viridoflavus y S. abikoensis.
- 38) TETRACILINAS, destacan dentro de este grupo la Oxytetraciclina producida por S. rimosus, tiene este antibiótico un amplio espectro de inhibición. La clortetraciclina producida por S. aureofaciens actúa contra bacterias gram + y gram -. El modo de acción de las tetracilinas es la inhibición de la fosforilación oxidativa.



	R ₁	R ₂	R ₃
Tetraciclina	H	CH ₃	H



	R ₁	R ₂	R ₃
Clorotetraciclina	Cl	CH ₃	H
Oxytetraciclina	H	CH ₃	H

FIG. 1 TETRACICLINAS

39) ERITROMICINA (Fig. 2), producido por Streptomyces erythraeus ha dado excelentes resultados en el tratamiento de infecciones causadas por estafilococos resistentes a otros antibióticos.

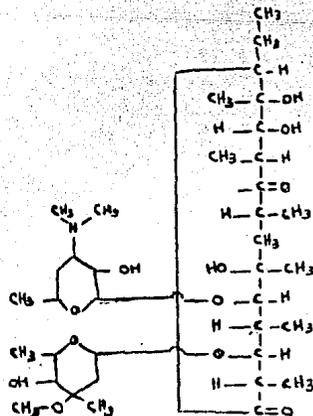


FIG. 2 ERITROMICINA

- 40) VANCOMICINA, producida por S. orientalis, sustancia anfóticamente soluble en agua e insoluble en solventes orgánicos, es activo cobra bacterias gram positivas y bacterias ácido resistentes.
- 41) ESTREPTOMICINA, es producida por Streptomyces griseus, es particularmente activa contra bacterias gram negativas y contra M. tuberculosis, aunque también tiene alguna actividad contra bacterias gram positivas y ha sido usada terapéuticamente en el tratamiento de infecciones causadas por organismos resistentes a la penicilina. En el hombre el tratamiento con estreptomicina en altas dosis puede producir reacciones neurotóxicas, la reducción química de estreptomicina a dehidroestreptomicina baja la neurotoxicidad y por esta razón la estreptomicina producida se reduce a esa forma.

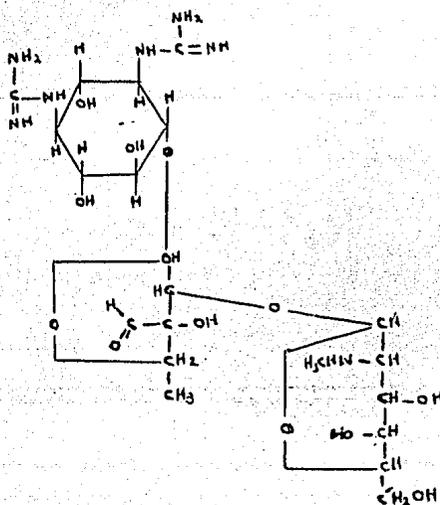


FIG. 3 ESTREPTOMICINA

1.3 ANTIBIOTICOS PRODUCIDOS POR EL GENERO ACTINOPLANA

- 1) TAITOMICINA, antibiótico polipeptídico, producido por Actinoplana taitomyceticus, es activo contra bacterias gram positivas incluyendo anaerobios (concentración mínima inhibitoria CMI = 0.01-2 microgramos/ml), Neisseriae (MIC = 0.01-0.05), leptospira y toxoplasma. La taitomicina ha sido también aislada de S. afghaniensis, Streptomyces griseosporus, Actinoplana coeruleorubidus y A. aurorectus (77). La dosis mínima letal en ratones es mayor a 1000 mg/Kg.
- 2) Antibiótico A/672, es producido por Actinoplana brasiliensis, tiene gran actividad contra bacterias gram +, la CMI es de 20-50 microgramos/ml. La dosis mínima letal (DML) en ratones es de 200 mg/Kg.
- 3) Antibiótico A/477, compuesto clorado producido por Actinoplana sp. NRRL 3884. Es activo contra bacterias gram +, su MIC es de 1-25 microgramos/ml, incluyendo algunos organismos cariogénicos tal como Odontomyces viscosus. La DLM en ratones es de 350 mg/Kg. Su composición química elemental es: C, 53.06%; H, 5.13%; N, 5.79%; O, 31.4% y Cl, 3.39%.
- 4) LIFIARMICINA, antibiótico clorado producido por Actinoplana deccanensis ATCC 21883, en una variedad de medios complejos que contienen glucosa como fuente de carbono y extracto de carne y levadura como fuente de nitrógeno, el NaCl es necesario para la producción del antibiótico, pero no para el crecimiento del microorganismo, el NaBr inhibe la síntesis del antibiótico. La lipiarmicina es activa contra una gran variedad de bacterias gram positivas, es particularmente activa contra Streptococcus mutans agente etiológico de la carie dental humana.

- 5) Antibiótico A-287, de naturaleza polipeptídica, producido por Actinoplana uthaensis NRRL 6514, este antibiótico inhibe el crecimiento de organismos patógenos para animales y plantas y es especialmente activo contra bacterias patógenas gram + MIC = 3-12 microgramos/ml. La LD₅₀ en ratones por vía intra-peritoneal es 1370mg/kg.
- 6) Antibiótico A-2315, es producido por A. philippinensis NRRL 5642, es activo contra bacterias gram positivas MIC = 0.02-0.04 microgramos/ml, bacterias anaerobias MIC = 10-30, mycoplasma (0.01-0.2), bacterias gram negativas y contra hongos fitopatógenos. La LD₅₀ en ratones es 500 mg/kg.
- 7) GARDLMICINA, es producido por A. barbadinensis ATTC 31049 y A. liguarea ATTC 31048, aislados de suelos de India e Italia respectivamente. Este antibiótico es activo contra Streptococcus haemolyticus, Streptococcus viridans y Clostridium perfringens (MIC = 50-100 microgramos/ml), contra S. pneumoniae (MIC= 20-50), Staphylococcus aureus, S. albus y S. faecalis (MIC= 50 microgramos /ml) e inactivo contra bacterias gram negativas, levaduras y hongos.
- 8) PURPUROMICINA, es un antibiótico naftoquinona producido por Actinoplana ranthinogenes ATTC 21884. Es activo contra bacterias gram positivas (MIC = 0.005-0.02 microgramos/ml) y bacterias gram negativas excepto para las especies de Pseudomonas, es activo también contra hongos (MIC= 0.2-0.5 microgramos/ml) y mycoplasma (MIC= 5 microgramos/ml). Su fórmula molecular es C₂₆H₁₈O₃.
- 9) Antibiótico SE-73, es producido por varias especies de Actinoplana, es activo contra bacterias gram positivas y gram negativas y mycoplasma. Su fórmula molecular es C₇₃H₁₁₀O₃₈.

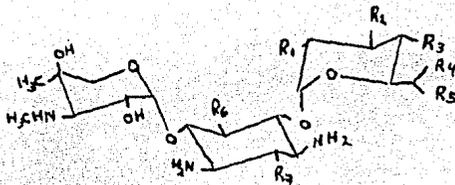
- 10) TEICOMICINA A₁, es un antibiótico glicolípido que contiene fósforo producido por Actinoplana teichomyeticus ATCC 31121. Es activo contra cocos gram positivos (MIC= 0.05-0.5 microgramos/ml), es inactivo contra hongos, levaduras, protozoarios y mycobacterias. La LD₅₀ en ratones es de 275 mg/kg. La fórmula molecular es C₁₄₂H₂₄₅N₁₂O₆₉P.
- 11) TEICOMICINA A₂, es un antibiótico glicopeptídico que contiene cloro, producido por Actinoplana teichomyeticus. Es activo contra bacterias gram positivas (MIC= 0.05 microgramos/ml), es inactivo contra bacterias gram negativas, levaduras y protozoarios. La LD₅₀ en ratones es de 1000 mg/kg, tiene una fórmula molecular de C₄₈H₆₁N₅ClO₂₀.
- 12) ANTIBIOTICO A-7413, de naturaleza péptídica y contiene azufre, producido por Actinoplana sp. NRRL 8112. Es activo contra bacterias gram positivas, Propionibacterium acnes, y Neisseria meningitidis. Su composición química elemental es C 51.9%, H 5.25%, N 9.75% y S 9.6%.
- 13) CUANGINMICINA, es una antibiótico producido por Actinoplana tsinansensis aislado del suelo de Shanlung, provincia de China. Es activo contra S. aureus (MIC= 1-6 microgramos/ml), Haemophilus influenzae (MIC= 3 microgramos/ml), Shigella flexneri (MIC= 0.4 microgramos/ml), Escherichia coli (MIC= 3-6 microgramos/ml) y Aerobacter aerogenes (MIC= 50 microgramos/ml). Su fórmula molecular obtenida por análisis elemental es C₁₂H₁₁NO₂S.
- 14) Antibiotico 67-121, es producido por Actinoplana sp. NRRL 5325. Es activo contra levaduras y hongos (MIC= 0.3-5 microgramos/ml). La LD₅₀ en ratones es de 5-15 mg/kg.

- 15) Antibiótico 41.012, de naturaleza polipeptídica, producido por Actinoplana niuonensis. Es activo contra bacterias gram positivas (MIC= 1-6 microgramos/ml) y Mycobacterias (MIC= 10 microgramos/ml). La fórmula química elemental es C 44.81%, H, 6.56%, N, 9.55% y O 39.08%.
- 16) PLAURACINA, este nombre ha sido dado a una mezcla de cinco diferentes antibióticos CP-36939 y CP-35673 los cuales son lactonas y CP-37277, CP-37932 y CP-40042 los cuales son péptidos. Los cinco metabolitos son producidos por dos especies de Actinoplana, A. auranticolor y A. azureus. La mezcla de estos antibióticos es activo contra bacterias gram positivas y bacterias anaerobias con MIC alrededor de 0.1 microgramos/ml.
- 17) ANTIBIOTICO A-15104, es producido por varias especies de Actinoplana. Es activo contra bacterias gram positivas (MIC= 0.01-1 microgramos/ml), bacterias gram negativas (MIC=1-3 microgramos/ml), hongos (0.02-1 microgramos/ml), protozoarios y bacterias ácido resistentes (50 microgramos/ml). La LD₅₀ en ratones es 5 mg/kg. El análisis elemental demuestra una fórmula molecular de C₁₀H₄Cl₅NO.

1.4 ANTIBIOTICOS DE MICROMONOSPORA

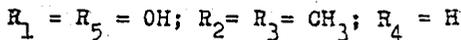
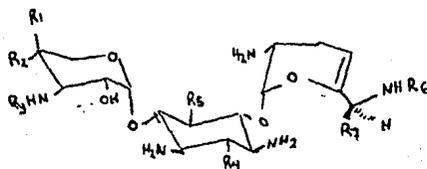
- 1) GENTAMICINAS, es un complejo de antibioticos aminoglicosidos, producidos por Micromonospora purpurea NRRL 2953 y M. echinospora NRRL 2985. Este complejo consiste de 3 componentes C₁, C_{1a}, C₂. Es activo contra bacterias gram positivas y gram negativas, es característica su potencia contra especies del género Pseudomonas y Proteus.

- 2) SISOMICINA, es un antibiótico aminoglicósido parecido a la gentamicina pero difiere en su estereoquímica, es producido por M. inyoensis NRRL 3292. Su espectro de actividad es similar a la gentamicina tanto in vitro como in vivo, aunque es más tóxico que esta.
- 3) VERDAMICINA, en 1975 Veinstein (112), describió un nuevo aminoglicósido nombrado Verdamicina y producido por M. grisea NRRL 3800. Su espectro de actividad es similar al de Sisomicina y Gentamicina, con excepción de Pseudomonas.
- 4) ANTIBIOTICO G-418, es de naturaleza aminoglicosídica, producido por M. rhodorangea NRRL 536. El antibiótico tiene un espectro de actividad antibacteriana similar a la gentamicina y a los otros antibióticos aminoglicosidos previamente descritos, pero es particularmente interesante su actividad sobre parásitos como Trichomonas vaginalis, Entamoeba histolytica, Hymenolepis nana, y especies de Taenia.
- 5) ANTIBIOTICO G-52, es un aminoglicosido producido por M. zionensis, el espectro de actividad es similar al de los anteriores.
- 6) ANTIBIOTICO JI-20, es de naturaleza aminoglicósida producida por M. purpurea, su actividad es contra bacterias gram + y gram -.
- 7) FORTIMICINAS, es producido por M. olivoasterostora ATCC 21819 entre los antibióticos aminoglicósidos es de los más activos contra la familia Enterobacteriaceae.
- 8) NEOMICINA, Wagman en 1976 (112), reporto la producción de este antibiótico por Micromonospora sp, activo contra bacterias gram ++
- 9) ANTIBIOTICO 460, producido por Micromonospora chalcea var. flavida NRRL 3222, es activo contra bacterias gram positivas y gram negativas.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇
Gentamicina C ₁	NH ₂	H	H	NHCH ₃	CH ₃	OH	H
Gentamicina C ₂	NH ₂	H	H	CH ₃	NH ₂	OH	H
Gentamicina C _{1a}	NH ₂	H	H	H	NH ₂	OH	H
Sagamicina	NH ₂	H	H	H	NHCH ₃	OH	H
g-418	NH ₂	OH	OH	CH ₃	OH	OH	H
JI-20A	NH ₂	OH	CH	H	NH ₂	OH	H
JI-20B	NH ₂	OH	CH	CH ₃	NH ₂	OH	H

FIG. 1 ANTIBIOTICOS AMINOGLICOSIDOS PRODUCIDOS POR ESPECIES DEL GENERO MICROMONOSFORA.



	R ₆	R ₇
Sisomicina	H	H
Verdamicina	H	CH ₃
G-52	CH ₃	H

FIG. 2 ANTIBIOTICOS AMINOGLICOSIDOS PRODUCIDOS POR ESPECIES DEL GENERO MICROMONOSFORA.

(132)

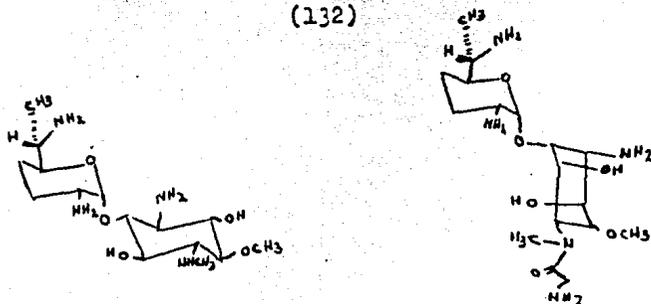
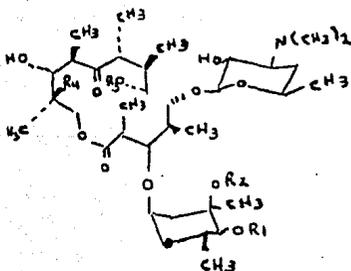


FIG. 3 ESTRUCTURA DE LAS FORTIMICINAS

10) MEGALOMICINAS, antibiótico aislado de M. megalomicea. Existen 4 tipos de megalomicinas conocidas como A, B, C₁ y C₂ cuyas estructuras se encuentran representadas en la fig. 4, es activo contra bacterias gram positivas.



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Megalomicina A	H	H	CH ₃	OH
Megalomicina B	COCH ₃	H	CH ₃	OH
Megalomicina C ₁	COCH ₃	COCH ₃	CH ₃	OH
Megalomicina C ₂	H	CH ₃	CH ₃	OH

FIG. 4 ESTRUCTURA DE MEGALOMICINAS

- 11) ROSARAMICINAS, producido por Micromonospora rosaria NRRL 3178. Las pruebas in vitro han demostrado que este antibiótico es muy activo contra bacterias gram positivas y gonococos, su actividad se acentúa por sinergismo con eritromicina.

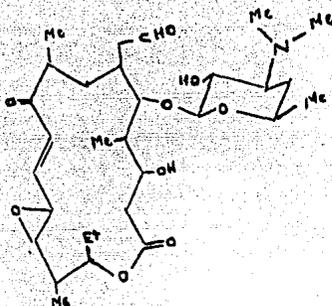
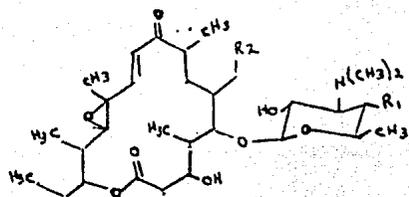
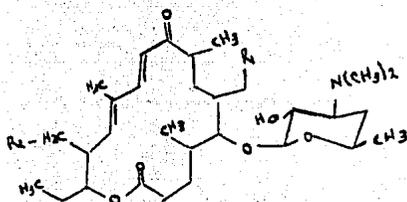


FIG. 5 ESTRUCTURA DE ROSARAMICINA

- 12) JUVENIMICINAS, es producido por Micromonospora chalcea, var. izumensis ATCC 21561, su actividad es elevada contra bacterias gram positivas y gram negativas.
- 13) ANTIBIOTICO M-4365, fue aislado de Micromonospora capillata y es fuertemente activo contra bacterias gram positivas y gram negativas.
- 14) ERITROMICINA B, producido por Micromonospora sp. 1225, es el primer reporte de productor de eritromicina por un organismo fuera del género Streptomyces.



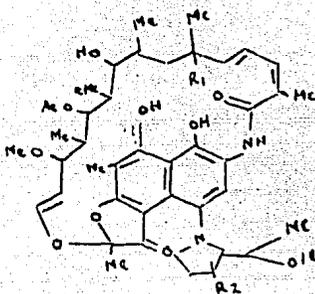
Juvenimicina A ₂	R ₁ = R ₂ = H
Juvenimicina A ₄	R ₁ = H R ₂ = CH ₂ CH
M-4365 A ₁	R ₁ = H R ₂ = CH ₃



Juvenimicina B ₁	R ₁ = CH ₂ OH	R ₂ = H
Juvenimicina B ₃	R ₁ = CH ₂ CH	R ₂ = OH
M-4365 G ₁	R ₁ = CH ₃	R ₂ = H
M-4365 G ₂	R ₁ = CHO	R ₂ = H

FIG. 6 ESTRUCTURAS DE JUVENIMIGINAS Y M-4365

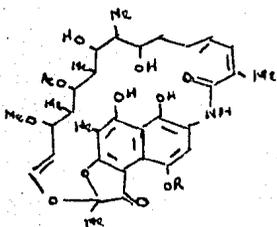
- 15) HALOMICINAS, producido por dos especies de *Micromonospora*, *M. halophytica* NRRL 2898 y *M. halophytica* var. *nigra* NRRL 3097, son activas contra bacterias gram + y *K. tuberculosis* no tiene acción sobre bacterias gram negativas.



<u>Halomicinas</u>	<u>R₁</u>	<u>R₂</u>
A	H	OH
B	H	H
C	OH	H

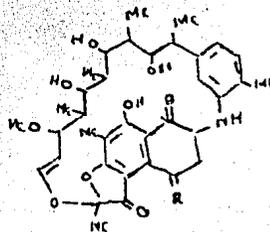
FIG. 7 ESTRUCTURA DE HALOMICINAS

- 16) RIFAMICINAS, son un grupo de antibióticos (B, SV, O, S), producidos por *M. ellipsozora*, *M. rifamycetica* y *M. lacustris*, activos contra bacterias gram positivas.



RIFAMICINA B : R = CH₂CO₂H

RIFAMICINA SV R = H



RIFAMICINA O R = OCH₂COO

RIFAMICINA S R = O

FIG. 8 ESTRUCTURA DE LAS RIFAMICINAS

1.5 MECANISMO DE ACCION DE LOS ANTIBIOTICOS

En forma general, los antibióticos actúan a cuatro niveles; pueden evitar la formación de DNA o RNA, inhibir la síntesis de proteínas, interferir con la formación de pared celular, o romper la integridad de la membrana celular. Para algunos antibióticos el sitio o modo de acción se ha determinado, pero para otros aún es desconocido. De los antibióticos listados anteriormente, a ciertos de ellos se les ha determinado el mecanismo de acción:

a) Interferencia con síntesis de ácidos nucleicos

- 1) Griseofulvina
- 2) Novobiocina
- 3) Rifampicina

b) Impiden la translación de información genética para la síntesis de proteínas.

- 1) Cloramfenicol
- 2) Eritromicina
- 3) Gentamicina
- 4) Kanamicina
- 5) Lincomicina
- 6) Neomicina
- 7) Spectinomina
- 8) Streptomina
- 9) Tetraciclinas

c) Impide la síntesis y función de la pared celular

- 1) Vancomicina

d) Impiden la función de la membrana celular

- 1) Anfotericina B
- 2) Colistina
- 3) Nistatina
- 4) Estreptomicina
- 5) Tetraciclinas.

Del primer grupo de antibióticos se ha encontrado que la novobiocina interfiere con la polimerización del DNA y también inhibe la RNA polimerasa dependiente de DNA como lo hace la rifampicina. El modo de acción de la griseofulvina no se ha precisado aún, al parecer previene el ensamblaje de nucleótidos de purina. Los antibióticos del grupo b, manifiestan sus efectos inhibitorios en el ribosoma. El sitio de acción de la spectinomomicina es la unidad 30 S ribosomal. El cloramfenicol interfiere en el enlace del RNAm a el ribosoma, las tetraciclinas inhiben la formación del complejo necesario entre ribosoma-RNAm-aminoacilsRNA. La estreptomicina, gentamicina y neomicina tienen efectos bactericidas que distorsionan el ribosoma.

La vancomicina perteneciente al grupo c, inhibe la enzima glicopeptidil sintetasa la cual es responsable de la condensación glicopeptídica en la pared celular.

Los antibióticos del grupo d, afectan en forma general la presión osmótica de la membrana celular, causando generalmente su estallamiento.

Los antibióticos producidos por actinomicetos son cada vez mas utilizados como drogas de elección en el tratamiento de diversas enfermedades. En la tabla I se presentan los antibióticos de elección utilizados para diversos padecimientos.

TABLA I

ANTIBIOTICOS DE ELECCION EN EL TRATAMIENTO DE VARIAS ENFERMEDADES

Enfermedad	Agente etiológico	Drogas de elección
Neumonía	<u>Diplococcus pneumoniae</u> <u>Klebsiella pneumoniae</u>	Penicilina, tetraciclina. Estreptomicina cloramfenicol
Meningitis	<u>Diplococcus pneumoniae</u>	Penicilina, eritromicina, tetraciclina
Enf. venereas	<u>Treponema pallidum</u> <u>Neisseria gonorrhoeae</u>	Cloramfenicol, penicilina, tetraciclina Penicilina Tetraciclina
Infecciones por bacilos gram negativos	Salmonella Shigella Brucella	Cloramfenicol tetraciclina Cloramfenicol tetraciclina Tetraciclina Estreptomicina
Micosis	<u>Criptococcus neoformans</u> Tricophyton	Anfotericina B Griseofulvina
<u>Enterocolitis</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	Neomicina Vancomicina
Septicemia	<u>Staphylococcus aureus</u>	Eritromicina Novobiocina
Endocarditis bacteriana	<u>Streptococcus viridans</u> <u>Streptococcus faecalis</u>	Penicilina Estreptomicina Penicilina Estreptomicina Neomicina

II) OTROS METABOLITOS SINTETIZADOS
POR ACTINOMICETOS.

2.1 METABOLITOS SECUNDARIOS SINTETIZADOS POR ACTINOMICETOS

Los antibióticos por su importancia industrial son los productos mejor conocidos de los actinomicetos, pero otros metabolitos tales como pigmentos, enzimas y factores de crecimiento también son importantes, estos son considerados metabolitos secundarios porque al parecer no tienen un papel en el metabolismo celular, como fuente de energía, crecimiento o reproducción.

De estas sustancias generadas por actinomicetos, la producción a gran escala y a nivel industrial solamente se realiza para la obtención de enzimas líticas, pero en la actualidad adquiere cada vez mayor relevancia la producción de otros metabolitos como el triptófano producido por Streptomyces streptomycini LS-1 y Streptomyces aureofaciens LS-16, los cuales producen pequeñas cantidades de triptófano (25-65 mg/l), incrementándose esta producción en presencia de ácido antranílico en el medio de cultivo el cual funge como precursor (32). Asimismo se ha observado a últimas fechas un interés creciente en la biosíntesis de carotenos pigmentados por actinomicetos, siendo el principal productor de este metabolito Streptomyces chrysomallus var. carotenoides. El incremento de esta biosíntesis se observa por la influencia de ácidos orgánicos tales como acético, succínico, málico y cítrico (73, 74, 75).

Por otra parte se ha establecido que los actinomicetos de diferentes grupos tienen la capacidad de acumular lípidos en su micelio, la cantidad de lípidos varía dependiendo de la composición del medio. Entre las especies formadoras se encuentran Streptomyces griseus 70, Streptomyces griseofavillus 31 y Streptomyces canosus (55, 21). La secreción de vitamina B₁₂ también se ha observado en especies de actinomicetos como S. olivaceus, S. griseus y S. violaceus.

En la tabla I y II se encuentran otros metabolitos sintetizados por actinomicetos que son de particular interés.

TABLA I

METABOLITOS PRODUCIDOS POR ACTINOMICETOS INHIBIDORES DE ENZIMAS

Inhibidor	Enzimas sobre las que actua.	Especie productora
Leupeptin	Proteasas	Streptomyces sp.
Plasminostreptin	Proteasas	Streptomyces antifibrinolyticus
Anastatin	Aminopeptidasa	Streptomyces sp.
Elastina	Elastasa	S. noborituensis
Esterastina	Esterasa	S. lavendulae
Neopolioxina	Quitinasa	S. cacaoi

TABLA II

METABOLITOS PRODUCIDOS POR ACTINOMICETOS- ENZIMAS

Enzima	Especie productora
L-asparaginasa	Streptomyces griseus
Celulasas 6666	Streptomyces sp. Micromonospora sp. Termomonospora sp.
Quitinasas	S. kurssanovii
Oxidasa de colesterol	Rhodococcus sp.
Glucosa isomerasa	Streptomyces sp.

1.2 ENZIMAS LÍTICAS PRODUCIDAS POR ACTINOMICETOS

De los metabolitos producidos por actinomicetos, se ha determinado que después de los antibióticos, las enzimas líticas ocupan un papel de suma importancia, lo cual ha permitido su explotación a nivel industrial. En años recientes estas enzimas han sido usadas para el estudio de las estructuras de la pared celular de microorganismos, para el aislamiento de macromoléculas biológicas activas y por su amplio espectro de acción sobre células bacterianas (principalmente gram negativas) y levaduras para lisis de las mismas como agentes terapéuticos (37).

Se ha determinado su acción sobre bacterias gram negativas, como E. coli, Proteus vulgaris, Aerobacter aerogenes, A. cloacae, Pseudomonas fluorescens, Serratia marcescens, y Vibrio costicolus (42), también sobre bacterias gram positivas, como Micrococcus denitrificans, Sarcina lutea, Bacillus megaterium, Bacillus subtilis y Staphylococcus aureus, (111) y acción sobre otros organismos como Mycobacterium album, Mycobacterium phlei, Corynebacterium michiganense, Brevibacterium ammoniagenes, Candida tropicalis y Candida guilliermondi (37). Estas enzimas causan la hidrólisis de la estructura peptidoglicana, responsable de la rigidez de la pared celular. Dependiendo de el sitio sobre el cual actúan en el peptidoglicano, las enzimas líticas se subdividen en tres clases: glicosidasas, amidasas y endopeptidasas. Entre los principales actinomicetos productores de enzimas líticas se encuentran Streptomyces livoris, Streptomyces griseus y Streptomyces thermovulgaris.

La obtención de las enzimas líticas se realiza en cultivo agitado a 200 rpm, en un medio que contiene harina de maíz, extracto de levadura, sulfato de amonio, carbonato de calcio;

por un tiempo de 48 horas, y una temperatura de 45 C. Se ha establecido la zona óptima de pH en que crecen es del rango de 7-9. La inhibición de estas enzimas puede realizarse con permanganato de potasio, iodina o EDTA.

Las enzimas líticas son extraídas por precipitación con sulfato de amonio a 70% de saturación a 4 C por 18 horas. La actividad de estas enzimas se realiza por método turbidimétrico; de acuerdo a la reducción de la densidad óptica de una suspensión de células de los microorganismos probados bajo la acción de esta enzima.

CONCLUSIONES

Los actinomicetos son un grupo heterogéneo de bacterias filamentosas gram positivas que se caracterizan como únicos entre los organismos procarióticos por la diversidad de su morfología y productos metabólicos obtenidos de ellos. Algunos géneros poseen la capacidad de formar esporas las cuales le son útiles como órganos de reproducción en situaciones óptimas de desarrollo, y de latencia si las condiciones no son favorables.

Es posible distinguir entre estos organismos dos grupos fisiológicos, los actinomicetos anaerobios que obtienen la energía para su crecimiento y reproducción siguiendo la ruta de Embden-Meyerhoff, y los actinomicetos aerobios que basan su metabolismo en el ciclo de Krebs y un tipo de respiración primitivo.

Los actinomicetos son organismos ubicuos, pues aunque su habitat principal es el suelo en el cual constituyen uno de los principales grupos bacterianos también se han encontrado en ambientes acuáticos y compostas. En su relación con el medio ambiente realizan actividades como la reciclización de materia orgánica, fijación de nitrógeno, y degradación de plantas y animales muertos que resultan benéficas para el hombre y otros seres vivos, asimismo son capaces de producir una diversidad de enfermedades en el hombre, plantas y animales que repercuten de una forma negativa en el terreno socio-económico.

Entre los actinomicetos de importancia clínica que causan padecimientos en el hombre se encuentran algunos organismos de los géneros *Mycobacterium* (producen tuberculosis y lepra), *Actinomyces* (causan actinomicosis), *Nocardia* (provocan Nocardiosis y micetoma), y *Streptomyces* (producen micetoma). Su

identificación como agente etiológico se basa en una observación macroscópica y microscópica, características morfológicas de las colonias, pruebas bioquímicas, sintomatología y patología de la afección.

El pronóstico de las enfermedades causadas por estos microorganismos es bueno siempre y cuando se realice un adecuado diagnóstico y rápido tratamiento; entre las drogas de elección utilizadas se encuentran las sulfas, antibióticos como la penicilina, eritromicina y ampicilina y únicamente se recurre a tratamiento quirúrgico si las condiciones así lo requieren.

Los actinomicetos son el grupo bacteriano principal en lo que se refiere a la producción de antibióticos por la gran diversidad de sustancias de este tipo que son capaces de producir y por su aplicación terapéutica. Además son capaces de producir otros metabolitos secundarios que en la actualidad empiezan a obtenerse a nivel industrial; entre ellos destacan las enzimas líticas, producción de vitamina B₁₂, carotenos, lípidos y aminoácidos.

BIBLIOGRAFIA

- 1) Aristarkhova V. I., Rodionova E. G. Chemotaxonomic characters of Nocardia-like organisms isolated from compost. Microbiology 1981; Vol. 50: pág (630-33).
- 2) Aslanyan N. S., Kirillova I. P. Thermoresistance of Actinomycetes spores in water, air and hidrocarbons. Microbiology 1981 Vol. 50: pág (251-55).
- 3) Baldacci E. The classification of Actinomycetes in relation to their antibiotic activity. Microbiology 1981; Vol. 50: pag (277-97).
- 4) Bekhtereva M. N., Tarasova N. V. Formación of alcohols and acids from glycerin. Microbiology 1975; Vol 44: pág (669 -76).
- 5) Belur S. B., Prabodh K. Genital actinomycosis and intrauterine contraceptive devices. Hum Pathol 1978; 9/5: pág (567-78).
- 6) Bezborodov A. M., Galynkin V. A. Regulation of the synthesis of metabolites synthesized through acetyl-Co A in a culture of Actinomyces chrysomallus. Microbiology 1982; Vol. 51: pág (210-16).
- 7) Bhagavan S. B., Gupta K. P. Actinomycosis of the common bile duct presenting as chronic cholecystitis. Surgery 1981; 90/1: pág (117-19).
- 8) Bradley S. G., Significance of Nucleic Acid hibridization to sistematics of Actinomycetes. Adv Appl Microbiol 1975; Vol 19: pág (59-70).
- 9) Bradley S. G., Bond J. S. Taxonomic criteria for Micobacteria and Nocardia. Adv Appl Microbiol 1983 ; Vol 27: pág (132-85).
- 10) Bryan Arthur. Bacteriología Médica. Editorial Continental 1980 595 páginas.
- 11) Burdon Kenneth L. Microbiología. Edit. Publicaciones Cultural 7a. Edición; México 1976: 330 páginas.
- 12) Burrows J. C. Tratado de Microbiología. Editorial Interamericana México 1980: 964 páginas.
- 13) Child J. S., Kramer N. Primmary cutaneous Nocardia asteroides infection with dissemination. Am J Med 1981; 70/4: pag (859-63).

- 14) Choromokos E. Actinomyces of infected dental root canales. Oral Surg 1981; 51/6: pág (243-45).
- 15) Christensen Clyde M. Micología. Editorial Interamericana, 10^a. Edición; México 1979: 209 páginas
- 16) Cochrane W. V. Physiology of Actinomycetes. Ann Rev Microbiol 1981; Vol. 36: pág (1-27).
- 17) Connant, Norman F. Micología. Editorial Interamericana; México 1980: 582 páginas.
- 18) Coodley E. L. Actinomycetoma masquerading as an abdominal neoplasm. Dis Colon Rectum 1982; 75/8; pág (1028-38).
- 19) Cowan S. T. Manual para identificación de bacterias de Importancia Médica. Editorial Continental; México 1979: 320 páginas.
- 20) Divo A. Microbiología Médica. Editorial Interamericana; México 1977: 453 páginas.
- 21) Donets A. T., Burtseva S. A. Fatty acid composition of the total lipids and triglycerides of some Actinomycetes. Microbiology 1976; Vol. 45: pág 41-46.
- 22) Duguid L. D., Lomax C. W. Actinomycosis and the IUD. South Med J 1980; 73/5: pág (660-64).
- 23) Duguid L. D., Parratt D. Actinomyces-like organisms in cervical smears from women using intrauterine contraceptive devices. Br Med J 1980; 281/6239: pág (534-37).
- 24) Duncan J. A. Abdominal Actinomycosis. Am J Surg 1985; 110/3: pág (118-23).
- 25) Edson M., Alford H. R. Mandibular osteomyelitis caused by Actinomyces israelii. Oral Surg 1981; 51/3: pág 243-44.
- 26) Ensign J. C. Formation, properties and germination of Actinomycetes spores. Ann Rev Microbiol 1978; Vol 32: pág 185 -221.
- 27) Fanous H., Elist J. Perivesical actinomycosis presenting as an acute abdomen. J Urol 1981; 126/1: pág (117-19).

- 28) Filippova S. N., Poltorak V. A. Luminescence of Actinomycetes producing Actinomycin D. *Microbiology* 1983; Vol 52: pág 790-93.
- 29) Firlit F. C., Lewy P. Immunodifusion studies of some *Nocardia* strains. *J Gen Microbiol* 1981; 123/1: pág (69-74).
- 30) Foerster H., Copper C. Novel Elementary structures of spores in Actinomycetes of the genera *Actinomadura* and *Streptomyces*. *Microbiology* 1979; Vol. 48: pág (68-71).
- 31) Galanina L. A., Agatov P. A. Effect of Hydroaromatic compounds on Streptomycin production by *Actinomyces streptomycini* LS-1. *Microbiology* 1980; Vol. 49: pág (47-50).
- 32) Galanina L. A., Nizova I. M. Biosynthesis of Tryptophan by *Actinomyces enissus*. *Microbiology* 1980; Vol. 49: pág (53-59).
- 33) Gallis A. H. Nocardial vertebral osteomyelitis. *Clin Orthop Relat Res* 1983; Vol. 175: pág (223-26).
- 34) Gebhardt Luis P. *Microbiología*. Editorial Interamericana; México 1972: 380 páginas.
- 35) Ginns M. R. Recent Taxonomic developments and changes in Medical Bacteriology. *Ann Rev Microbiol* 1980; Vol. 34: pág (235-63).
- 36) Ginzler E. D., Kaplan D. Pulmonary Nocardiosis. *South Med J* 1981; 74/8: pág (1007-10).
- 37) Golovina I. G., Loginova L. G. The Lytic enzymes formed by the thermophilic *Actinomyces Micromonospora vulgaris* PA II-4. *Microbiology* 1984; Vol 53: pág (551-57).
- 38) Goodfellow M., Williams S. T. Ecology of Actinomycetes. *Ann Rev Microbiol* 1983; Vol. 37: pág (189-217).
- 39) Gorevic J. B., Katler E. I., Bertrand A. Pulmonary Nocardiosis occurrence in men with sitemic Lupus Erythematosus. *Arch Intern Med* 1980; 140/3: pág (561-63).
- 40) Grossman C. B., Bragg D. G. Pulmonary Nocardiosis presenting as a bronchogenic tumor. *South Med J* 1980; 73/5: pág (660-63).

- 41) Henricks W B., Madson C. E. Human Nocardiosis. A cilinical re-view with selectd case reports. Arch Intern Med 1980; 140/6: pág (818-26).
- 42) Imshenetskii A. A., Nazarova T. S. Descomposition of choles-terol by enzyme preparations from Streptomyces. Microbiology 1982; Vol. 51: pág (324-36).
- 43) Jane J. A., Winn H. R. Thoracic actinomycosis presenting with peripheral skin lesions. Thorax 1984; 33/6: pág (818-820).
- 44) Jawetz E., Melnick J. B., Adelber E. A. Manual de Microbiología Médica. Editorial El Manual Moderno; México 1980: 575 páginas.
- 45) Jungerman P. F. Micología Médica Veterinaria. Editorial Con-tinental; México 1977: 240 páginas.
- 46) Kalakutskii L. V., Nikitina N. I. Spore germination in Actino-mycetes. Microbiology 1980; Vol 49: pág (707-14).
- 47) Kaushik S. P., Wig J. D. Actinomycosis of the larynx. J R Soc Med 1983; 76/3: pág (226-28).
- 48) Khokhlova M. Y., Kalmykova G. Y. The growth substance formed by Actinomyces albobdenitrificans. Microbiology 1981; Vol 50: pág (206-10).
- 49) Kirmani N., Tuazon U. G., Jay A. C. Extensive cerebral nocar-diosis cured with antibiotic therapy alone. J. Neurosurg 1985; 49/6: pág (924-28).
- 50) Kislova L. M., Konova I. V. Fatty Acid composition of Lipids from Actinomycetes. Microbiology 1978; Vol 47: pág (372-78).
- 51) Klacsman P. G., Bulkley B. H. Arthritis in systemic Nocardio-sis. South Med J. 1982; 75/4: pág (507-09).
- 52) Konev Y. E., Shenin D. New Verticillate Actinomycetes forming hexaene antibiotics. Microbiology 1984; Vol. 53: pág (560-66).
- 53) Konova I. V., Kislova L. M. Ultrastructural characterization of Actinomyces olivaceus during culture growth in relation to lipid synthesis. Microbiology 1981; Vol. 50: pág (624-30).

- 54) Kosheleva N. A., Konova I. V. Formation of Keto Acids in culture of *Actinomyces olivaceus*. *Microbiology* 1981; Vol. 50: pág (640-45).
- 55) Kovallchuck L. P., Donets A. T. On the Biosynthesis lipids by Actinomycetes when cultured on different media. *Microbiology* 1983; Vol. 52: pág (567-72).
- 56) Kovev E. Y., Tsyganov V. A. Verticillate Actinomycetes producers of Polyenic Antibiotics. *Microbiology* 1976; Vol. 45: pág (516-26).
- 57) Křasilnikov N. A. A study of the pigments of the red-orange Actinomycetes. *Microbiology* 1976; Vol. 1976: pág (491-95).
- 58) Kulalaeva Z. I. Intrinsic Luminescence of some flavus-group Actinomycetes. *Microbiology* 1984; Vol 53: pág (739-43).
- 59) Kurylowicz W., Gauze G. F., Paszkewicz A. Taxonomy spores of selected general and species of Actinomycetaceae. *Microbiology* 1982; Vol. 51: pág (152-54).
- 60) Kuznetsov V. D., Filippova S. N. Taxonomy of fluorescent Streptomycetes based on a comparative population analysis. *Microbiology* 1982; Vol. 51: pág 663-70.
- 61) Kuznetsov V. D., Yangulova I. V. Taxonomy of a Collection of strains of Actinomycetes producing Antibiotics of the Candidin and Antimycin A a type. *Microbiology* 1982; Vol.51: pág (640-45).
- 62) Lapteva E. A., Kuznetsov V. D., Kalakutskii L. V. Viability of spores of *Actinomyces* sp. when stored under conditions of different relative humidity. *Microbiology* 1982; Vol. 51: pág (749-53).
- 63) Lechevalier A. H., Lechevalier M. P. Biology of Actinomycetes *Ann. Rev Microbiol* 1977; Vol. 31: pág (71-101).
- 64) Lechevalier A. H., Lechevalier M. P. Chemical composition as a criterion in the classification of Actinomycetes. *Adv. Appl Microbiol* 1981; Vol. 24: pág (47-69).

- 65) Lesnikova A. V., Filatova A. D. A comparative study of the composition of Streptothricins produced by the culture *Actinomyces griseus* 15 and its phage-resistant variants. *Microbiology* 1982; Vol. 51: pág (862-865).
- 66) Lissner G. S., Grady M. D. Endogenous intraocular *Nocardia asteroides* in Hodgkin's disease. *Am J Ophthalmol* 1984; 86/3: pág (388-94).
- 67) Mahant T. S., Kohli P. K., Mathur J. M. Actinomycosis caecum. *Digestion* 1983; 27/1: pág (53-56).
- 68) Merenhofler J., Atherton E. Actinomycin structure-activity relationships. *Adv. Appl Microbiol* 1983; Vol. 26: pág (203-291).
- 69) Montgomerie J E., Lewis A. J., Frala M. Cervicofacial actinomycosis in children. *J Pediatric* 1981; 99/4: pág (593-595).
- 70) Myrvik Quentin N. *Bacteriología y Micología Médica*. Editorial Interamericana; México 1977: 500 páginas.
- 71) Nachev L., Konova I. V. Secretion of vitamina B₁₂ by Actinomycetes during growth on solid media of different composition. *Microbiology* 1975; Vol. 44: pág (452-456).
- 72) Nefelova M. V., Natallina V. M. Influence of Sulfamides on the Biosynthesis of the Actinomycin antibiotic of *Actinomyces chrysomallus*. *Microbiology* 1983; Vol. 53: pág (414-417).
- 73) Nefelova M. V., Sverdlova A. N. Activity of some enzymes of an Actinomycete producing carotenes an macrotetrolides. *Microbiology* 1982; Vol. 51: pág (165-169).
- 74) Nefelova M. V., Sverdlova A. N. Carotenoids synthesized by a mutant strain of *Actinomyces*. *Microbiology* 1976; Vol. 45: pág (268-271).
- 75) Nefelova M. V., Sverdlova A. N. Influence of Organic acids on the Biosynthesis of carotenes by the strain *Actinomyces chrysomallus*. *Microbiology* 1978; Vol. 47: pág (169-173).
- 76) Orlova N. V., Adrianova M. B. Biosynthesis of Oxytetracyclina by *Actinomyces rimosus* in media containing different carbohydrates. *Microbiology* 1982; Vol. 51: pág (32-38).

- 77) Parenti F., Coronelli C. Members of the genus *Actinoplanes* and their Antibiotics. *Ann Rev Microbiol* 1980; Vol. 34: pág (389-413).
- 78) Pecora F V., Kohl M. Pediatric nocardiosis. *Pediatrics* 1982; 70/4: pág (560-565).
- 79) Penzikova G. A., Rudaya S. M. Nucleases of *Actinomycetes* producing Oxytetracycline. *Microbiology* 1976; Vol. 45: pág (209-214).
- 80) Pillay V. K., Wilson D. M. Combined pneumocystis carinii and *Nocardia asteroides* pneumonitis in a patient with on ACTH producing carcinoid. *Cancer* 1981; 47/12: pág 2933-35.
- 81) Pinsker I. K., Tiaynor R. Septic arthritis due to *Nocardia asteroides* after successful kidney transplantation. *Arthritis Reum* 1981; 24/1: pág (99-101).
- 82) Poltorak A. V. Luminescence of Actinomycin antibiotics in cultures of producer *Actinomycetes*. *Microbiology* 1982; Vol 51: pág (299-303).
- 83) Poltorak V. A. Nature of the intrinsic red luminescence of *Actinomycetes* that produce carbonyl-conjugated pentaenes. *Microbiology* 1981; Vol 50: pág (314-318).
- 84) Poltorak V. A., Kulivov S. A. Intrinsic luminescence and differentiation of *Actinomyces lucensis* an Etruscomycin producer. *Microbiology* 1975; Vol. 44: pág (412-416).
- 85) Poltorak V. A., Tsvirova I. M. Nature of the intrinsic fluorescence of *Actinomyces enissus*, a producer of Heliomycin. *Microbiology* 1982; Vol. 51: pág (300-304).
- 86) Poltorak V. A. Vinogradova K. A. Nature of the characteristic fluorescence of the Brown *Actinomycetes*. *Microbiology* 1976; Vol. 45: pág (567-571).
- 87) Porter N. J. Prevalence and distribution of Antibiotic producing *Actinomycetes*. *Adv Appl Microbiol* 1981; Vol. 24: pág (73-
- 88) Rautenshtein I. Y. Solovleva N. Y. Lysogeny of a strain of *Streptomyces hygroscopicus* producing the antibiotic Turimycin and some feature of its temperate phage. *Microbiology* 1983 Vol. 52: pág 792-795).

- 89) Raymond R. L., Jamison V. W. Biochemical activities of Nocardia. *Adv Appl Microbiol* 1981; Vol. 24: pág (93-120).
- 90) Roch U. E. *Bacteriología y Virología Médica*. Editorial Porrúa. México 1980: 415 páginas.
- 91) Rosenow E. C., Frazier A. R. Actinomycosis, a cause of pulmonary and mediastinal mass lesion in children. *Am J. Dis Child* 1981; 135/4: pág (336-39).
- 92) Rossett W I., Hodges R. G. Recent experiences with nocardial infections. *Am J Med Sci* 1983; 276/3: pág (279-85).
- 93) Rothman N. I., Kamholz L. S. Actinomycotic cervical abscess. *Chest* 1980; 76/2: pág (228-30).
- 94) Schelkova E. P. Endo N-acetylglucosaminidase formed by *Streptomyces levoris*. *Microbiology* 1981; Vol. 50: pág (314-18).
- 95) Segretain G., Drouhet E., Mariat F. Diagnóstico de laboratorio en *Micología Médica*. Editorial La Prensa Médica Mexicana; México 1979: pág (115).
- 96) Shanley J. D., Snyder M. D. Chronic pericarditis due to a *Streptomyces* species. *Am J Clin Pathol* 1980; 72/1: pág (107-10).
- 97) Shmakova Z. F., Petrov G. I. Lytic enzymes produced by *Actinomyces levoris*. *Microbiology* 1978; Vol. 47: pág (388-93).
- 98) Smego R. A., Moeller M. B. Trimethoprim-Sulfamethoxazole therapy for *Nocardia* infections. *Arch Intern Med* 1983; 143/4: pág (711-18).
- 99) Smith P. W., Steinkraus E. G. CNS Nocardiosis. Response to sulfamethoxazole-trimethoprim. *Arch Neurol* 1980; 37/11: pág (729-31).
- 100) Stamm A. M., Fall D. W., Dismukes W. E. Sulfonamides in the treatment of Nocardiosis. *Arch Intern Med* 1983; 143/2: pág (383-85).
- 101) Staples P. J., Gerding D. N. Actinomycotic granuloma of the gasserian ganglion with primary site in a dental root. *Neurosurg* 1981; Vol 54/4: pág (553-55).

- 102) Stewart G. B., Basten A. Pulmonary actinomycosis. Rapid improvement with isoniazida y rifampin. Arch Intern Med 1981; 141/9: pág (1234-35).
- 103) Tiunova N. A., Pirieva D. A. Formation and properties of chitinase of *Actinomyces kurssanovi*. Microbiology 1980; Vol. 49: pág (543-47)✓
- 104) Toropova E. G., Ivanova I. V. Activity of certain enzymes in *Actinomyces spheroides* and action of Novobiocin on them. Microbiology 1980; vol. 49: pág (410-14).
- 105) Tovarova I. I., Kornistskaya E. Y. Formation of factor A by various actinomycetes. Microbiology 1981; Vol. 50: pág 264-68).
- 106) Tyson G. W., Welsh J. E., Butler A. B. Primary cerebellar nocardiosis. J Neurosur 1979; 51/3: pág (408-14).
- 107) Ukholina R. S., Borisova N. V. Production of Antibiotics closely related to Olivomycine by various *Actinomycetes* species. Microbiology 1981; Vol 50: pág (118-27).
- 108) Unger K. M., Moser F. M. Comparative pathogenicity of *Actinomyces* species in mice. J. Med Microbiol 1982; 15/4: pág (465-73).
- 109) Vinogradova N. A., Vosilleva L. S. Paralall variation in the Heliomycins producer *Actinomyces olivocenerus* and *Actinomyces variabilis*. Microbiology 1984; Vol. 53: pág (916-921).
- 110) Vybornykh S. N., Egorov N. S. Directed biosynthesis of Proteolytic enzymes in *Actinomyces thermovulgaris*. Microbiology 1975; Vol. 44: pág (897-903).
- 111) Vybornykh S. N., Egorov N. S. Induction of the synthesis of extracellular proteases of *Actinomyces thermovulgaris* by Aminoacids. Microbiology 1980; Vol. 49: pág (23-27).
- 112) Wagman H. G., Weinstein J. M. Antibiotics from *Micromonospora* Ann Rev Microbiology 1980; Vol. 34; pág (537-559).
- 113) Waksman A. S. The Actinomycetes and their Antibiotics. Adv Appl Microbiol 1983; Vol. 25: pág (235-93).

- 114) Wilson E., Cope A. Primary actinomycosis of the pericardium. South Med J 1982; 75/8: pág(1028-30).
- 115) Wren M. V., Savage A. M. Apparent cure of intracranial Nocardia asteroides infection by minocycline. Arch Intern Med 1980; 139/2: pág (250-59).
- 116) Yogev R., Greenlade T. Successful treatment of Nocardia asteroides infection by minocycline. Arch Intern Med 1979; 138/2 pág (771-73).
- 117) Young Genevieve G. Microbiología Médica. Editorial Continental México 1980: 774 páginas.
- 118) Zhukova R. A., Prolova M. A. Screening of Actinomycetes with antivirús activiy. Microbiology 1981; vol 50: pág 491-95.
- 119) Zyukova L. A., Vorotilo S. P. Biosynthesis of glucanases and mannanases contained in the complex of lytic enzymes by a thermotolerant strain of Actinomyces griseus 11. Microbiology 1983; Vol. 52: pág (216-21).