



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

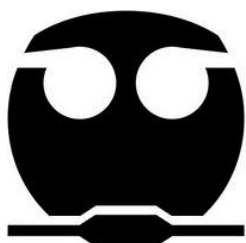
**Perspectivas acerca de las Actinobacterias del
suborden *Corynebacterineae***

Trabajo Monográfico de Actualización

**Que para obtener el título de
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

presenta

Iván Fernando Mendoza Solís



México D. F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesora: María del Carmen Cortés Decuir

VOCAL: Profesora: María Guadalupe Tsuzuki Reyes

SECRETARIO: Profesor: Luis Ángel Maldonado Manjarrez

1er. SUPLENTE: Profesor: Alejandro Camacho Cruz

2° SUPLENTE: Profesora: Ruth Edith Martín Fuentes

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

ASESOR DEL TEMA: Dr. Luis Ángel Maldonado Manjarrez

SUSTENTANTE: Iván Fernando Mendoza Solís

Agradecimientos

Muy especialmente a mis grandes héroes que son mi mamá Araceli y mi papá Fernando y a mis hermanos Sebastián y Estefan quienes son las personas que más amo y por quienes he podido lograr esto y muchas cosas más, con quienes he podido compartir tantas satisfacciones, alegrías, lágrimas, carcajadas y un sinnúmero de experiencias que me han hecho ser la persona que soy hasta el día de hoy.

A mis 4 abuelos y a toda mi familia que siempre han estado pendiente de mí, quienes me han aconsejado y depositado toda su confianza a lo largo de toda la vida.

A mi profesor de Fisiología Microbiana y asesor del trabajo Luis Ángel quien ha sido un gran apoyo en todo momento, quien depositó en todo momento su confianza en mí, quien hizo tantas cosas por mí, a quien le debo tanto y a quien aprecio mucho.

A mis profesores que durante toda la carrera me dieron tantos conocimientos, consejos y aportaron tantas cosas para mi persona y con especial cariño a mi profesor de toxicología y amigo Francisco Sánchez; a mi tutor, profesor de bacteriología y gran consejero Raúl Garza; y a mi profesora de bacteriología y gran persona MariCarmen.

A mis amigos de toda la vida, a mis amigos de todo momento, a mis amigos que formaron parte de alguna etapa de mi vida y ya no están cerca, a mi novia quien en la etapa final de este proyecto me apoyó incondicionalmente en todo momento, a todas aquellas personas que han depositado toda su confianza en mí y de quienes he aprendido y he compartido tantas experiencias de vida tanto en las buenas como en las malas y especialmente a mi otro hermano, Luis Contreras,

quien no sólo me apoyó tan impresionantemente durante este proyecto, sino que me ha apoyado (y aguantado) por más de 10 años.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Química y al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología por haberme aportado tantas cosas como tan excelentes herramientas que contribuyeron a mi formación académica y como el haber conocido a tan valiosos seres humanos tanto profesores como amigos.

A DGAPA PAPIME (Proyecto PE206207) por proporcionar apoyo financiero para aplicar de mejor manera herramientas bioinformáticas y de biología molecular en este trabajo.

¡Muchas gracias!

“There are places I’ll remember, all my life though some have changed, some forever not for better, some have gone and some remain, all these places had their moments with lovers and friends I still can recall, some are dead and some are living, in my life I’ve loved them all...”
-Lennon/McCartney-

Indice

1.- Objetivos...6

2.-Metodología...7

3.- Introducción...8

4.- Desarrollo

4.1. *Corynebacterium*

4.1.1. Generalidades...11

4.1.2. Filogenia y taxonomía...12

4.1.3. Características de la pared celular...13

4.1.4. Hábitat...16

4.1.5. Patogenia...16

4.1.6. Importancia del secuenciamiento de especies del género *Corynebacterium* e importancia en la industria...24

4.2. *Mycobacterium*

4.2.1. Generalidades...28

4.2.2. Filogenia y taxonomía...30

4.2.3. Características de la pared celular...35

4.2.4. Hábitat...38

4.2.5. Patogenia...38

4.2.6. Importancia del secuenciamiento de especies del género *Mycobacterium* e importancia en la industria...48

4.3. *Nocardia*

4.3.1. Generalidades...51

4.3.2. Filogenia y taxonomía...51

4.3.3. Características de la pared celular...53

4.3.4. Hábitat...54

4.3.5. Patogenia...54

4.3.6. Importancia ambiental e industrial...55

4.4. *Rhodococcus*

4.4.1. Generalidades...56

4.4.2. Filogenia y taxonomía...57

4.4.3. Características de la pared celular...58

- 4.4.4. Hábitat...58
- 4.4.5. Patogenia...59
- 4.4.6. Importancia ambiental e industrial...60

4.5. *Gordonia*

- 4.5.1. Generalidades...63
- 4.5.2. Filogenia y taxonomía...63
- 4.5.3. Características de la pared celular...66
- 4.5.4. Hábitat...66
- 4.5.5. Patogenia...66
- 4.5.6. Importancia ambiental e industrial...67

4.6. *Tsukamurella*

- 4.6.1. Generalidades...71
- 4.6.2. Filogenia y taxonomía...71
- 4.6.3. Características de la pared celular...73
- 4.6.4. Hábitat...73
- 4.6.5. Patogenia...73
- 4.6.6. Importancia ambiental e industrial...74

4.7. *Dietzia*

- 4.7.1. Generalidades...75
- 4.7.2. Filogenia y taxonomía...76
- 4.7.3. Características de la pared celular...77
- 4.7.4. Hábitat...77
- 4.7.5. Patogenia...77
- 4.7.6. Importancia ambiental e industrial...78

4.8. *Skermania*

- 4.8.1. Generalidades...80
- 4.8.2. Filogenia y taxonomía...80
- 4.8.3. Características de la pared celular...81
- 4.8.4. Hábitat...82
- 4.8.5. Patogenia...82
- 4.8.6. Importancia ambiental e industrial...82

4.9. *Williamsia*

- 4.9.1. Generalidades...83
- 4.9.2. Filogenia y taxonomía...83
- 4.9.3. Características de la pared celular...84

- 4.9.4. Hábitat...84
- 4.9.5. Patogenia...85
- 4.9.6. Importancia ambiental e industrial...85

4.10. *Segniliparus*

- 4.10.1. Generalidades...86
- 4.10.2. Filogenia y taxonomía...86
- 4.10.3. Características de la pared celular...87
- 4.10.4. Hábitat...88
- 4.10.5. Patogenia...88
- 4.10.6. Importancia ambiental e industrial...88

4.11. *Millisia*

- 4.11.1. Generalidades...89
- 4.11.2. Filogenia y taxonomía...89
- 4.11.3. Características de la pared celular...90
- 4.11.4. Hábitat...91
- 4.11.5. Patogenia...91
- 4.11.6. Importancia ambiental e industrial...91

4.12. *Smaragdicoccus*

- 4.12.1. Generalidades...92
- 4.12.2. Filogenia y taxonomía...92
- 4.12.3. Características de la pared celular...92
- 4.12.4. Hábitat...93
- 4.12.5. Patogenia...94
- 4.12.6. Importancia ambiental e industrial...94

5.- Conclusiones...95

6.- Bibliografía...103

1.- Objetivos.

1.1 General

- Ampliar la visión y el conocimiento de los estudiantes de la carrera QFB acerca de las actinobacterias del suborden *Corynebacterineae* destacando su importancia ambiental e industrial además de la clínica.

1.2 Particulares

- Proporcionar un panorama actual acerca de la clasificación taxonómica de cada uno de los géneros del suborden *Corynebacterineae*.
- Mostrar el panorama ambiental e industrial actual del suborden *Corynebacterineae* en contraste con el panorama clínico revisando de manera general cada uno de los géneros que lo componen.

2.- Metodología

El trabajo se originó con la búsqueda de un tema de interés dentro del área de Microbiología que fuera de utilidad para alumnos, profesores e investigadores. Una vez elegido el tema se plantearon los objetivos que dicho tema cubriría y se estructuró el trabajo de acuerdo a los puntos por abarcarse.

La búsqueda y compilación de información se llevó a cabo mediante el uso de herramientas bibliográficas y electrónicas, incluyendo libros, bases de datos, artículos y revisiones. Una vez analizada y sintetizada la información obtenida se inició con la redacción de cada uno de los puntos a cubrir realizando las discusiones pertinentes de cada punto.

3.- Introducción

Generalidades de la clase *Actinobacteria*

En términos de número y variedad de especies identificadas, la clase *Actinobacteria* representa una de las más grandes unidades taxonómicas entre los 18 mayores linajes actualmente reconocidos del dominio *Bacteria* incluyendo 5 subclases y 14 subórdenes. Este grupo comprende bacterias Gram positivas con un alto contenido de guanina y citosina en su DNA que va desde el 51% en algunas corinebacterias hasta más del 70% en *Streptomyces* y *Frankia*. Una excepción a esto es el genoma del patógeno obligado *Tropheryma whipplei* con menos del 50% en contenido de guanina y citosina (Ventura *et al.*, 2007).

Actinobacteria exhibe una gran variedad de morfologías, desde las cocoides como es el caso de *Micrococcus* o las formas cocobacilares en *Arthrobacter* hasta bacilos filamentosos como *Nocardia* spp. o con micelios ramificados permanentes y altamente diferenciados en *Streptomyces* spp. Algunos géneros presentan varias características de inusual desarrollo como la formación de micelios aéreos esporulantes en especies de *Streptomyces* o el persistente estado de no replicación exhibido por ciertas micobacterias (Wayne & Kubica, 1986; Ventura *et al.*, 2007).

Actinobacteria también exhibe diversas propiedades fisiológicas y metabólicas de interés económico como la producción de enzimas extracelulares y la formación de una gran variedad de metabolitos secundarios. Notablemente, muchos de esos metabolitos secundarios son potentes antibióticos, una característica que ha convertido a las especies de *Streptomyces* en los principales organismos productores de estos compuestos (Berdy, 2005). También establecen distintas interacciones con otros organismos, actuando como patógenos de seres humanos y animales (ej. *Mycobacterium* spp., *Nocardia* spp., *Tropheryma* spp., *Corynebacterium* spp. y *Propionibacterium* spp.) y como mutualistas en el tracto

gastrointestinal de los mismos (*Bifidobacterium* spp.). En el suelo compiten con otros microorganismos (ej. *Streptomyces* spp.) y en las plantas los encontramos como mutualistas fijadores de nitrógeno (ej. *Frankia* spp.) y comensales (ej. *Leifsonia* spp.) (Wayne & Kubica, 1986; Ventura *et al.*, 2007).

La clase *Actinobacteria* está extensamente distribuida en ecosistemas tanto terrestres como acuáticos (incluyendo ecosistemas marinos), aunque es especialmente en el suelo donde juega un papel crucial en el reciclaje de biomateriales refractarios. (Bousfield, 1978; Chun *et al.*, 1997; Arenskötter *et al.*, 2004; Stach & Bull, 2005).

Los genomas de la clase *Actinobacteria* secuenciados hasta el momento pertenecen a organismos relevantes para los seres humanos y para la veterinaria, biotecnología y ecología, y por la heterogeneidad genómica observada se asume que es un reflejo de la biodiversidad de la clase (Ventura *et al.*, 2007).

Dentro de la clase *Actinobacteria* se encuentra el suborden *Corynebacterineae* el cual se distingue de los demás subórdenes porque los géneros que incluye (con algunas excepciones) contienen ácidos micólicos los cuales son ácidos grasos aislados por primera vez de *Mycobacterium tuberculosis* los cuales están compuestos de una cadena corta β hidroxilada y una cadena larga α alquil lateral. Constan de entre 60 y 90 átomos de carbono (Fig. 1), variando el número exacto dependiendo del género y lo que es por tanto un parámetro de identificación a nivel de género (Barry *et al.*, 1998).

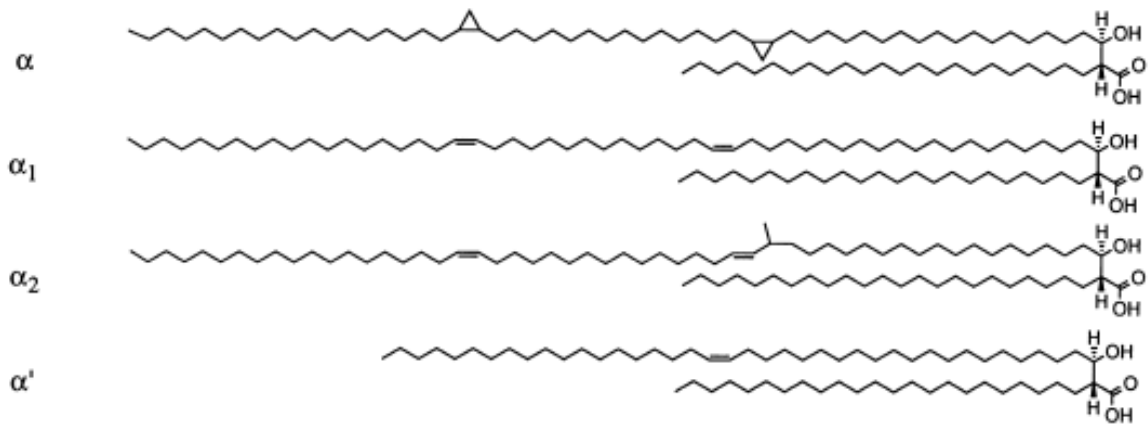


Fig. 1. Estructuras representativas de una selección de ácidos micólicos α . Imagen modificada de Barry *et al.* (1998).

Dicho subórden ha sido muy estudiado desde los inicios de la historia de la humanidad por contener a patógenos que han sido causantes de grandes epidemias como lo son la tuberculosis, la Lepra y la difteria pero actualmente es estudiado no sólo por sus patógenos sino por algunas especies de gran importancia para la industria y el medio ambiente (Bell *et al.*, 1998; Demain, 2000; Liebl, 2006; Goodfellow & Maldonado, 2006; Ventura *et al.*, 2007).

El presente trabajo de actualización se enfocó en destacar aquellas especies de relevancia económica y ambiental así como, por supuesto, clínica por considerarlo de interés para la formación profesional del QFB.

Los géneros reportados hasta el momento en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (**NCBI** por sus siglas en inglés, **National Center for Biotechnology Information**) son *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Gordonia*, *Tsukamurella*, *Dietzia*, *Skermania*, *Williamsia*, *Segniliparus*, *Millisia*, *Smaragdicoccus*, *Hoyosella* y *Tomitella*, sin embargo, los géneros *Hoyosella* y *Tomitella* no serán mencionados por su reciente creación y por que la información acerca de ellos es muy limitada y sin utilidad actual para el panorama que se pretendió abarcar en este trabajo.

4.1 Corynebacterium

Generalidades

Corynebacterium es un género de bacterias baciliformes que presentan una morfología celular irregular (“corineforme”). El nombre *Corynebacterium* proviene del griego *corōnē* (garrote) y *bacterion* (bastoncillo) debido a la apariencia de los arreglos celulares de algunas especies que llevan a cabo una instantánea división binaria donde las células al separarse forman ángulos agudos dando la típica forma de “V” (Fig. 2; NCBI).



Fig. 2. *Corynebacterium* sp. Observado a través de microscopía electrónica. Imagen modificada de NCBI (Instituto de Biotecnología 1, Alemania).

La tinción de Gram de especies de *Corynebacterium* muestra bacilos cortos y medianos Gram positivos con extremos anchos dándoles forma de garrote. Sin embargo algunas especies difieren de esta clásica morfología mostrando bacilos más largos o delgados con extremos más abultados (Liebl, 2006).

El género *Corynebacterium* incluye especies fermentativas y oxidativas así como especies que no fermentan ni oxidan. Todas son catalasa positivas y en cuanto a las especies de relevancia médica e industrial, todas carecen de motilidad. Son especies quimioheterótrofas, hasta el momento se sabe de doce especies que son lipofílicas, esto es, que crecen pobremente a temperaturas de 35-37 °C en 24

horas o más en medios de cultivo estándar pero muestran un mayor crecimiento en 48-72 horas en agar sangre de carnero o caldo BHI enriquecidos ambos con Tween 80 al 0.1-1.0% (aceite hidrogenado poliglicolisado). El lipofilismo mencionado anteriormente se observó perfectamente en la especie *Corynebacterium accolens* cuando incrementó su crecimiento en presencia de *Staphylococcus aureus*, el cual brinda un enriquecimiento exógeno al medio (von Graevenitz & Bernard, 2006).

Actualmente existen más de 50 especies del género *Corynebacterium* de las cuales aproximadamente 30 han sido descritas en los últimos 10 años. Muchas especies del género *Corynebacterium* son consideradas especies de relevancia médica por ser patógenos en humanos, sin embargo, también existen especies que son parte de la microbiota normal del ser humano así como también patógenos de plantas y saprófitos, de estas últimas, hay especies con gran importancia en biotecnología por ser productoras de aminoácidos (NCBI).

Filogenia y Taxonomía

La información obtenida del secuenciamiento del gen 16S rRNA demostró que el género *Corynebacterium* está más cercanamente relacionado a géneros que son ácido-alcohol no resistentes, que son parcialmente ácido-alcohol resistentes y que son ácido-alcohol resistentes de todo el suborden Corynebacterineae. Toda la descripción del género *Corynebacterium* se basa en el entendimiento y análisis del secuenciamiento del gen 16S rRNA para taxones con rasgos morfológicos, fenotípicos y quimiotaxonómicos específicos. Estos rasgos incluyen:

- 1) Contenido de guanina y citosina en el DNA, indicando una amplia diversidad dentro del género.
- 2) La pared celular, la cual contiene ácido mesodiaminopimélico.
- 3) Ácidos micólicos de cadena corta en la pared celular, llamados “corinemicolatos” con cadenas desde 22 hasta 36 carbonos excepto en

Corynebacterium amycolatum y *Corynebacterium kroppenstedtii*. La pared celular de las especies del género *Corynebacterium* también contiene arabinosa y galactosa.

- 4) Ácidos grasos celulares de cadenas rectas saturadas e insaturadas con volúmenes significativos de ácidos palmítico (C16:0), oleico (18:1 cis-9) y esteárico (C18:0) como los principales ácidos tuberculoesteáricos de los ácidos grasos celulares que pueden encontrarse en pequeños volúmenes en especies lipofílicas pero también en especies no lipofílicas como *Corynebacterium minutissimum* y *Corynebacterium confusum*. Además un gran volumen de C16:1 cis-7 se encuentra únicamente en *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium ulcerans* y *Corynebacterium pseudotuberculosis* por lo que podría ser útil como una menaquinona dihidrogenada de rápida identificación con ocho y/o nueve unidades de isopreno. Las uniones lipídicas no covalentes juegan un papel clave en la formación de la permeabilidad y en el plano de fractura durante la división binaria como se menciona más adelante dentro de características de la pared celular (von Graevenitz & Bernard, 2006).

Características de la pared celular

El péptidoglicano de la pared celular está directamente reticulado al ácido meso-diaminopimélico. Un arabinogalactano, el cual está parcialmente esterificado por los ácidos micólicos, está covalentemente unido al péptidoglicano. Los segmentos de arabinano y galactano del arabinogalactano de *Corynebacterium* también contienen cantidades significativas de sustituyentes de manosa y glucosa. Adicionalmente hay glicanos de alto y bajo peso molecular, arabinomananos, lipoglicanos y proteínas de superficie en la pared celular de *Corynebacterium* (Liebl, 2006).

Existen estudios biológicos, bioquímicos y ultraestructurales que muestran que la estructura y función de la pared celular de *Corynebacterium* y géneros

relacionados tiene un gran parecido a la envoltura celular de las bacterias Gram negativas a pesar de que los detalles moleculares sean notablemente distintos. Normalmente las bacterias Gram negativas se caracterizan por poseer una membrana externa que es una bicapa lipídica compuesta por fosfolípidos y lipopolisacáridos. En *Corynebacterium* y géneros relacionados parece que los ácidos micólicos unidos covalentemente junto con los micolatos libres (dicorinemicolatos de trehalosa y monocorinemicolatos de trehalosa) y fosfolípidos, forman una especie de membrana externa que funciona como barrera de difusión (Figs. 3 a y b).

La evidencia de que dicha barrera pudiese representar una bicapa lipídica se obtuvo a partir de técnicas de microscopía electrónica de criofractura que revelaron un plano de fractura dentro de la pared celular de corinebacterias conteniendo corinemicolatos. Por otro lado, en el caso de *Corynebacterium amycolatum* y *Corynebacterium kroppenstedtii* que carecen de corinemicolatos, el plano de fractura se observa únicamente dentro de la membrana plasmática. Las bacterias mutantes con deficiencias en componentes de las proteínas involucradas en el metabolismo lipídico extracitoplásmico, expusieron un decremento en su contenido de micolatos y alteraciones en la permeabilidad de la pared celular, lo cual indica el papel tan importante de los ácidos micólicos en la especie de membrana externa formada. La hipótesis de la bicapa como membrana externa en *Corynebacterium* debe considerar un mecanismo de transporte específico para solutos hidrofílicos como canales en la pared celular que atraviesan la capa con ácidos micólicos que transportan solutos hidrofílicos, algo que también se ha observado en otros géneros del mismo suborden, como *Mycobacterium*. Además se sabe que *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* y géneros relacionados poseen porinas las cuales a diferencia de las típicas porinas triméricas en la membrana externa de las bacterias Gram negativas, las porinas de dichos géneros son péptidos de bajo peso molecular que pueden formar canales iónicos permeables (Puech *et al.* 2001; Liebl, 2006).

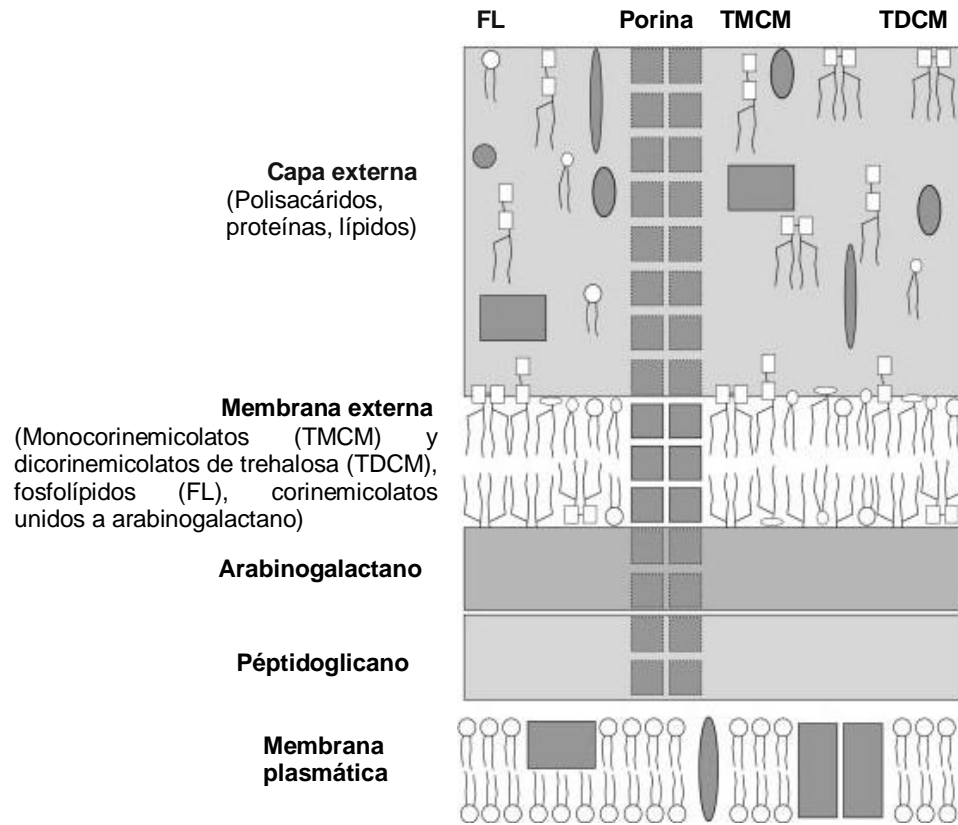


Figura 3a

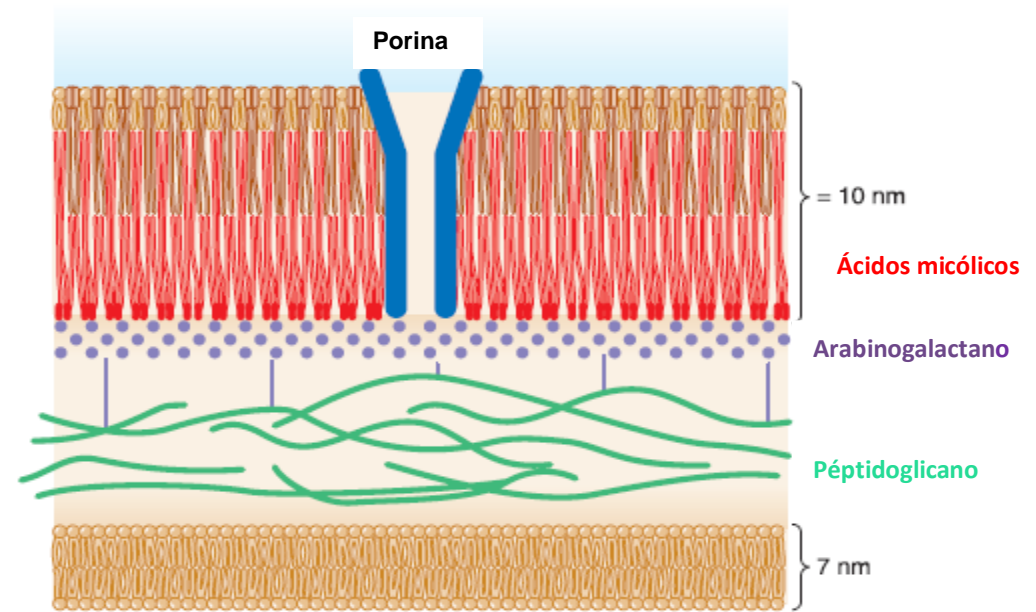


Figura 3b

Fig. 3a y 3b. La fig. 3a muestra el modelo hipotético de la envoltura celular de *Corynebacterium* y géneros relacionados descrito por Puech *et al.* (2001) basado principalmente en especies de *Corynebacterium* y *Mycobacterium*. La naturaleza de la bicapa de la membrana externa y la organización representada de las porinas abarcando todas las capas de la envoltura celular es especulativa. En la fig. 3b se observa la envoltura celular mostrando sus componentes más importantes según Saier (2008). Se menciona anteriormente que en el 2001 la organización de las porinas a través de todas las capas era especulativa. Actualmente se sabe que dichas porinas solo atraviesan la membrana externa sin traspasar la pared celular (ver texto). Figura 3a modificada de Puech *et al.* (2001); Figura 3b modificada de Saier (2008).

Recientemente se determinó que las porinas del género *Corynebacterium* y géneros relacionados atraviesan sólo la membrana externa y no también la pared celular como se creía antes (Saier, 2008). Todos estos hallazgos acerca de la pared celular de *Corynebacterium* tienen grandes implicaciones en el estudio de este género incluyendo la absorción y excreción de solutos, las propiedades de superficie, la susceptibilidad a antibióticos así como la explicación de la relativamente baja secreción de proteínas (Liebl, 2006; Saier, 2008).

Hábitat

Las especies del género *Corynebacterium* están ampliamente distribuidas en la naturaleza y se han aislado de seres humanos como biota habitual y como patógenos, así como también se ha encontrado en animales, plantas, en el suelo e incluso en ambientes acuáticos (Bousfield, 1978; Collins *et al.* 2004; von Graevenitz & Bernard, 2006; NCBI)

Patogenia

Corynebacterium diphtheriae, *Corynebacterium ulcerans* y *Corynebacterium pseudotuberculosis* son especies con la capacidad de producir exotoxinas clasificadas como factores de virulencia. Existen cientos de artículos y reseñas actuales en la base de datos de PubMed acerca de la toxina diftérica. Básicamente los blancos de la toxina son el corazón (miocardio) y tejido nervioso. La toxina diftérica es una proteína que pesa 58-kDa y está conformada por 535 aminoácidos; consta de 3 dominios cuya secuencia se conoce (Fig. 4; von Graevenitz & Bernard, 2006):

- 1) Dominio A N-terminal. Es responsable de la ribosilación del adenosindifosfato (ADP) del factor de elongación EF-2.

- 2) Dominio T central. Es responsable de la inserción de la DT en membranas a pH ácido, así como de la formación de canales y de la translocación del dominio C a través de la membrana del endosoma al citoplasma.
- 3) Dominio B C-terminal. Es responsable de la unión de la toxina diftérica a su receptor en la célula.

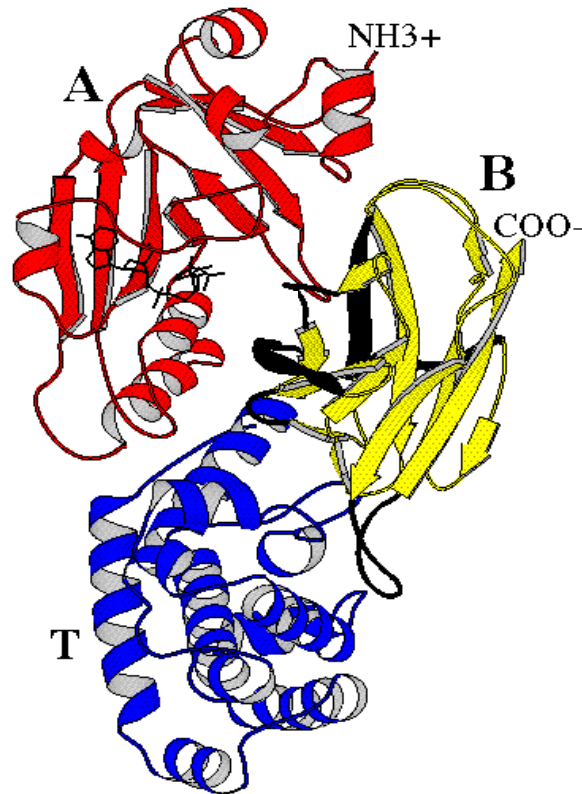


Fig. 4. Estructura cristalográfica de la toxina diftérica. Imagen modificada de <http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/diphtheria.html> (University of Wisconsin-Madison, Department of Bacteriology).

La toxina diftérica consta de las subunidades A (correspondiente al dominio A) y B (correspondiente a los dominios T y B) las cuales permanecen unidas por un puente disulfuro. Luego de la unión a la célula prosigue el proceso de endocitosis regulado por receptores. El pH ácido induce un cambio conformacional en la toxina diftérica lo cual permite al dominio T central insertarse en las membranas y formar un canal por el cual se lleva a cabo la translocación de la subunidad A a través de la membrana del endosoma al citoplasma. Una vez que la subunidad A

se vuelve enzimáticamente activa luego de la reducción del puente disulfuro, se cataliza la transferencia de ADP-ribosa de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) a EF-2 lo que inactiva a este último e inhibe la síntesis de proteínas evitando la elongación de las cadenas en el ribosoma (Fig. 5; Collier, 2001).

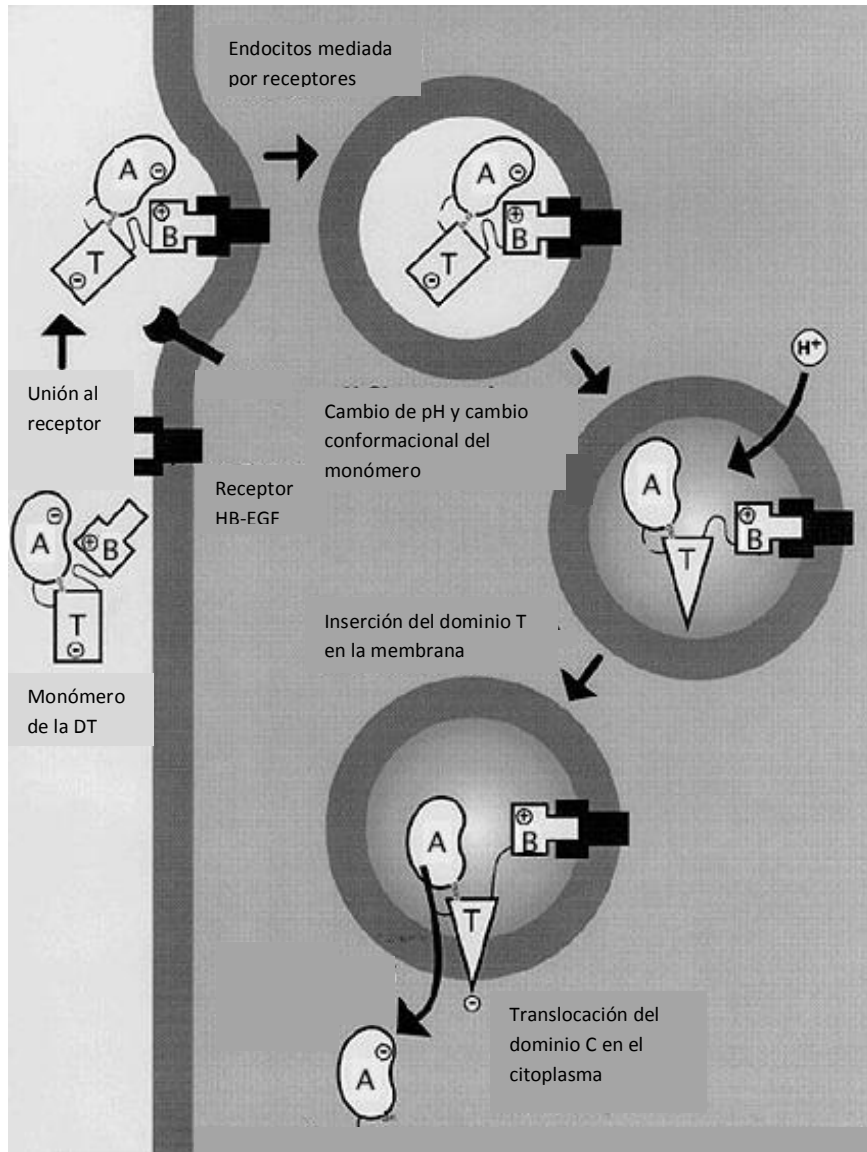


Fig. 5. Mecanismo de acción de la toxina diftérica. Imagen modificada de <http://textbookofbacteriology.net/themicrobialworld/diphtheria.html> (University of Wisconsin-Madison, Department of Bacteriology).

La toxina diftérica inhibe la síntesis de proteínas en extractos celulares de todas las especies animales pero es tóxica sólo en ciertos mamíferos probablemente por la presencia de receptores con alta afinidad a la toxina. La toxina diftérica es sintetizada por cepas que son lisogénicas al bacteriófago β el cual contiene al gen estructural *tox*. De este modo, la toxigenicidad está determinada por la conversión lisogénica, y la determinante *tox* del corinfago β es el gen estructural de la toxina diftérica. Las cepas que no son toxigénicas no tienen secuencias relacionadas a *tox* que sean detectables o si las contienen por una posible mutación, no codifican para una toxina diftérica funcional. Todos los corinfagos relacionados con *tox* (excepto el fago δ) incluyendo a los mutantes, poseen una enorme homología y tienen patrones similares de polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (**RFLP** por sus siglas en inglés, **R**estriction **F**ragment **L**ength **P**olymorphism) con el fago β . Existen dos sitios (*attB* 1 y *attB* 2) localizados en la bacteria donde se une el profago β con su sitio de unión *attP* en el cromosoma. El gen *tox* está localizado adyacente a dicho sitio. Una recombinación específica entre los sitios de unión *attP* y *attB* también puede ocurrir en *Corynebacterium ulcerans* y *Corynebacterium pseudotuberculosis*, lo cual produce después la toxina diftérica (von Graevenitz & Bernard, 2006).

Existe una segunda toxina que solamente se ha reportado en *Corynebacterium ulcerans* y *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Esta toxina, la fosfolipasa D (**PLD** por sus siglas en inglés, *Phospholipase D*), hidroliza las esfingomielinas de las membranas celulares en mamíferos. Los genes y los productos de ambas especies mencionadas muestran un 80% de homología entre sus secuencias de DNA y un 87% de homología entre sus secuencias de aminoácidos respectivamente (von Graevenitz & Bernard, 2006).

Entre otros factores de virulencia encontrados en *Corynebacterium diphtheriae* se destacan principalmente adhesinas como las hemaglutininas; hidrofobinas, residuos de azúcares y enzimas con actividad trans-sialidasa, éstas últimas son

enzimas que hidrolizan los residuos de ácido siálico de los glicoconjugados (glicoproteínas, glicopéptidos, péptidoglucanos, glicolípidos y lipopolisacáridos (von Graevenitz & Bernard, 2006).

- Enfermedad

La difteria es la enfermedad producida por la toxina diftérica. Los síntomas de la difteria se producen habitualmente tras un periodo de incubación de 1 a 5 días. La enfermedad evoluciona de forma relativamente lenta y se caracteriza por fiebre moderada y faringitis exudativa leve. En los casos graves, se forman gradualmente en la garganta las llamadas *pseudomembranas*, reconocibles por su apariencia típica asimétrica de color blanco grisáceo con fuerte adherencia al tejido subyacente. Estas pseudomembranas pueden extenderse a la cavidad nasal y la laringe, obstruyendo las vías respiratorias. La difteria laríngea, que se produce en ocasiones incluso sin afectación de la faringe, es una urgencia médica que con frecuencia exige practicar una traqueotomía (Fig. 6). La exotoxina absorbida a partir de las lesiones de la mucosa o cutáneas puede provocar daños toxicológicos en órganos como el miocardio, los riñones y el sistema nervioso.



Fig. 6. Típica pseudomembrana en la garganta de un paciente con difteria. Imagen tomada de <http://epidemiologiaescobar.blogspot.com/2010/07/difteria-cie-10-a36-epidemiologiaescoba.html>

En la mayoría de los casos, la transmisión de *Corynebacterium diphtheriae* a personas vulnerables no las hace enfermar sino que ocasiona una infección faríngea pasajera que los convierte en portadores de la bacteria. La contaminación de lesiones cutáneas puede ocasionar difteria cutánea; en ocasiones, también puede afectar a mucosas que no pertenecen al aparato respiratorio. Las lesiones cutáneas y de las mucosas son importantes fuentes de infección y pueden ocasionalmente generar difteria sistémica (MacGregor, 2000).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define las siguientes manifestaciones clínicas de la enfermedad, en orden creciente de riesgo de enfermedad sistémica inducida por la toxina:

- i) Forma catarral (eritema de la faringe, sin membranas)
- ii) Forma folicular (manchas de exudados sobre la faringe y las amígdalas)
- iii) Forma extendida (amígdalas y faringe posterior recubiertas por membranas)
- iv) Forma combinada (con afectación de más de un lugar anatómico, por ejemplo garganta y piel)

- Epidemiología

Se han descrito epidemias de difteria devastadoras que han afectado principalmente a los niños en muchos países a lo largo de la historia. En países endémicos, la difteria se manifiesta, en la mayoría de las ocasiones, en casos esporádicos o en pequeños brotes epidémicos. Aunque la mayoría de las infecciones son asintomáticas o su evolución clínica es relativamente leve, muchos enfermos sufren obstrucción de las vías respiratorias causada por laringitis diftérica o miocarditis tóxica y se han notificado tasas de letalidad altas (>10%) incluso en brotes recientes. Durante la gran epidemia de difteria que se produjo en Europa y los Estados Unidos en la década de 1880, se alcanzaron tasas de letalidad de hasta el 50% en algunas zonas. Durante la primera guerra

mundial, las tasas de letalidad habían disminuido en Europa hasta alrededor del 15% principalmente debido al tratamiento común con antitoxinas. También durante la segunda guerra mundial asolaron Europa epidemias de difteria que ocasionaron alrededor de 1 millón de casos y 50 000 muertes en 1943. Se calcula que antes de la década de 1980, en que el toxoide diftérico llegó a ser fácilmente accesible, se producían cada año en los países en desarrollo alrededor de 1 millón de casos de difteria, con entre 50 000 y 60 000 fallecimientos anuales. Incluso en años recientes, se han notificado tasas de letalidad superiores al 10% en zonas endémicas (CDC; OMS).

Las vacunas contra la difteria se basan en el toxoide diftérico, una toxina bacteriana modificada que induce la formación de una antitoxina protectora por la respuesta inmunológica del huésped. El toxoide diftérico combinado con vacunas contra el tétanos y la tosferina (DTP) ha formado parte del Programa Ampliado de Inmunización (PAI) de la OMS desde su concepción en 1974. Durante el periodo 1980–2000, el número de casos de difteria notificados se redujo en más de un 90% (Fig. 7). La duración media de la protección inducida tras la serie de vacunación primaria es de alrededor de 10 años. La inmunidad protectora puede reforzarse mediante la exposición a cepas circulantes de *Corynebacterium diphtheriae* toxigénica. En situaciones en las que no se produce un refuerzo natural, es preciso administrar dosis de refuerzo del toxoide diftérico después del periodo de lactancia y la edad de escolarización primaria para mantener la inmunidad protectora (CDC; OMS).

El ser humano es el único hospedador natural de *Corynebacterium diphtheriae*. La transmisión se produce únicamente por medio de pequeñas gotitas de saliva y por contacto físico cercano. La difteria cutánea, muy contagiosa, es común en algunas zonas de los trópicos. En climas templados, la mayoría de los casos se producen durante la estación fría, mientras que en los climas cálidos la transmisión tiene lugar durante todo el año.

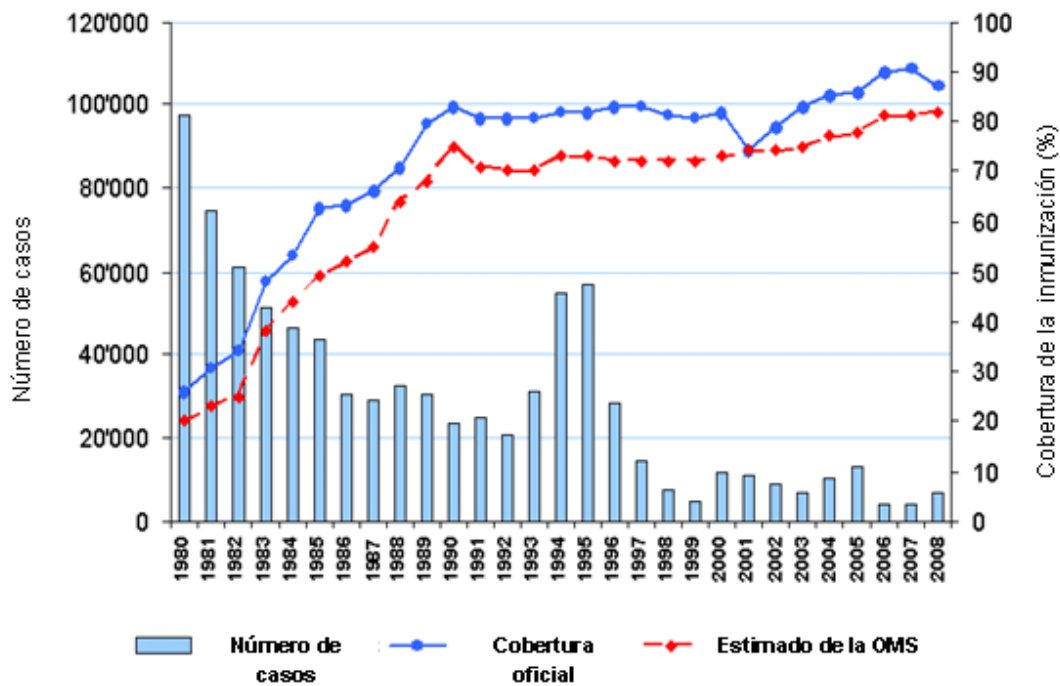


Fig. 7. Casos anuales reportados de difteria y cobertura de la DTP entre 1980-2008. Fuente: OMS

La difteria continúa siendo un problema significativo de salud infantil, sobre todo afectando a niños en edad preescolar y escolar en países con una cobertura deficiente del PAI y por consiguiente de la DTP (Khan *et al.*, 2007; OMS) (Fig. 8).

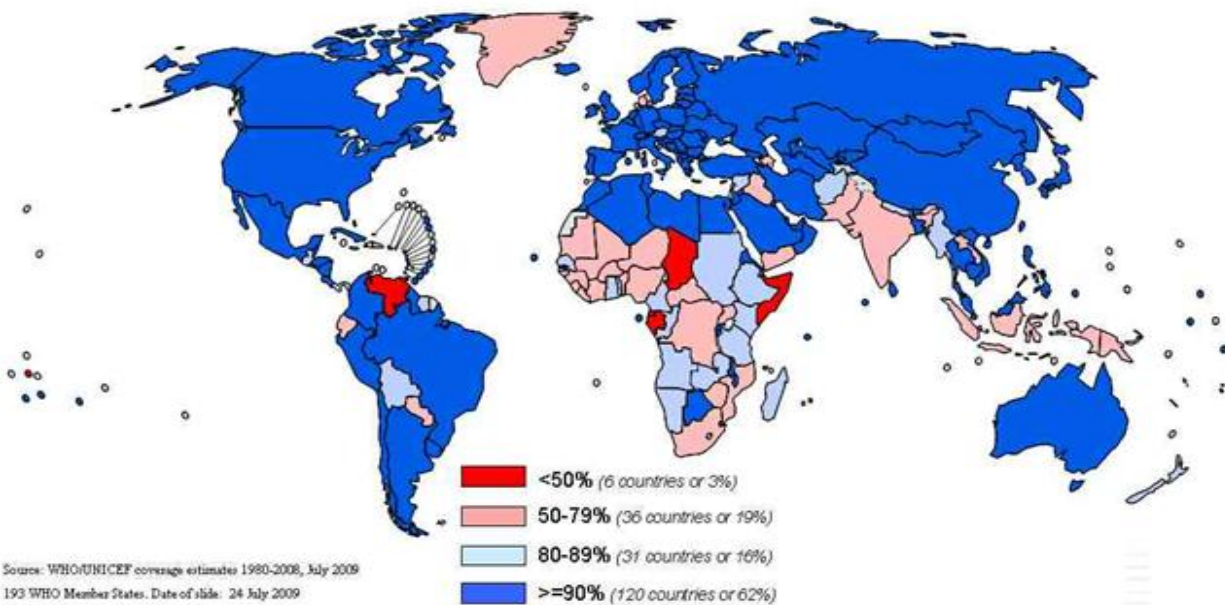


Fig. 8. Cobertura de la DTP en la población mundial de niños en el año 2008. Fuente: OMS

En los países con una cobertura alta del PAI y escaso refuerzo natural, como la mayoría de los países industrializados, una gran proporción de la población adulta se hace gradualmente vulnerable a la difteria al disminuir progresivamente su inmunidad a la enfermedad (Khan *et al.*, 2007; OMS).

Importancia del secuenciamiento de especies del género *Corynebacterium* e importancia en la industria

Actualmente se han secuenciado los genomas completos de 8 especies de *Corynebacterium*: *Corynebacterium aurimucosum*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Corynebacterium efficiens*, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium jeikeium*, *Corynebacterium kroppenstedtii*, *Corynebacterium pseudotuberculosis* y *Corynebacterium urealyticum* incluyendo los plásmidos de éstas y otras especies como por ejemplo de *Corynebacterium callunae*, *Corynebacterium casei*, *Corynebacterium renale*, *Corynebacterium resistens* y *Corynebacterium striatum* (Tabla 1; NCBI).

Se han detectado plásmidos tanto en cepas de interés clínico como en las de interés industrial. Además de algunos plásmidos que confieren resistencia a antibióticos, la mayoría de los plásmidos conocidos de *Corynebacterium* son *crípticos* (se desconoce su función). Sin embargo, una gran cantidad de vectores de clonación para la producción de aminoácidos están contruidos con base en dichos plásmidos. Con respecto a los plásmidos hallados en patógenos, en 6 cepas epidémicas de *Corynebacterium diphtheriae* resistentes a clindamicina y eritromicina, se encontró un único plásmido que contiene al gen *ermCd* el cual codifica para una rRNA metilasa que confiere dicha resistencia. En otras cepas se han encontrado plásmidos asociados a sustancias bactericidas o que proporcionan resistencia a otros antibióticos (Liebl, 2006; von Graevenitz & Bernard, 2006).

Tabla 1. Genomas completos secuenciados de especies del género *Corynebacterium* con sus respectivos plásmidos. ¹ Especies de importancia clínica. ² Especies de importancia industrial. ³ Única especie con genoma secuenciado sin ácidos micólicos del género *Corynebacterium*. Fuente: NCBI. ⁴ Se hace mención ya que las especies del género *Streptomyces* cuentan con genomas y plásmidos lineales.

Cepa y plásmido	Fecha secuenciación (completos)	Tamaño (Kbp)	Tipo de genoma ⁴	Contenido GC
¹ <i>C. aurimucosum</i> ATCC 700975	27-abr-09	2800	Circular	60.00%
<i>pET44827</i> (plásmido)	4-jun-08	29,037	Circular	53.00%
¹ <i>C. diphtheriae</i> NCTC 13129	6-nov-01	2488,63	Circular	53.00%
² <i>C. efficiens</i> YS-314	15-nov-02	3147,09	Circular	63.00%
<i>pCE3</i> (plásmido)	1-oct-02	48,672	Circular	56.00%
<i>pCE2</i> (plásmido)	1-oct-02	23,743	Circular	54.00%
² <i>C. glutamicum</i> ATCC 13032	12-mar-01	3300	Circular	53.00%
² <i>C. glutamicum</i> ATCC 13032	23-ene-04	3300	Circular	53.00%
² <i>C. glutamicum</i> R	17-abr-07	3300	Circular	54.00%
<i>pCGR1</i> (plásmido)	17-abr-07	49,12	Circular	53.00%
¹ <i>C. jeikeium</i> K411	27-jun-05	2462,5	Circular	61.00%
<i>pKW4</i> (plásmido)	22-ago-01	14,3239	Circular	53.00%
³ <i>C. kroppenstedtii</i> DSM 44385	19-may-09	2446,8	Circular	57.00%
¹ <i>C. pseudotuberculosis</i>	19-jul-10	2,337,913	Circular	52.00%
¹ <i>C. urealyticum</i> DSM 7109	1-abr-08	2369,22	Circular	64.00%

Algunas especies del género *Corynebacterium*, pero sobre todo *Corynebacterium glutamicum*, se emplean de forma industrial para la producción de aminoácidos (Demain, 2000). El secuenciamiento de todo el genoma de *Corynebacterium glutamicum* junto con el secuenciamiento de otras especies del género otorga amplias ventajas para el estudio de regiones genómicas específicas que pudieran estar involucradas con la regulación de sitios de producción de metabolitos de interés.

Una comparación que ha sido de gran utilidad es la que se ha hecho con respecto al genoma de *Corynebacterium efficiens* contra el de *Corynebacterium glutamicum* pues ambos genomas difieren en su contenido de guanina y citosina por alrededor del 10% (Tabla 1) a pesar de que las secuencias codificantes para proteínas y el orden de los genes está altamente conservado. Esta presión evolutiva hacia un alto contenido de guanina y citosina ha revelado eficazmente los verdaderos orígenes de los genes así como sitios de unión reguladores y promotores (Wendisch *et al.*, 2006).

El genoma de *Corynebacterium glutamicum* es un cromosoma circular de 3 282 708 pares de bases. Varias regiones de composición inusual sugieren que posiblemente dichas regiones fueron adquiridas por transferencia horizontal de genes. Por ejemplo, se hallaron segmentos de DNA de *Corynebacterium diphtheriae* así como la región de un profago. Se identificaron en total 3002 genes que codifican para proteínas, de los cuales 2489 fueron asociados por homologías a proteínas conocidas. Además la secuencia fue utilizada para reconstruir el flujo metabólico de carbono hacia productos de importancia industrial derivados del aminoácido L-aspartato como lo son: D-ácido pantoténico, L-valina, L-metionina, L-isoleucina, L-treonina y L-lisina. El nombre de *Corynebacterium glutamicum* se debe a su capacidad metabólica para la producción de ácido glutámico en cantidades importantes. Por todos los productos anteriormente mencionados, *Corynebacterium glutamicum* es actualmente imprescindible en la industria alimentaria y además otras especies relacionadas, como por ejemplo

Corynebacterium efficiens, son un importante objeto de estudio por ser especies tan metabólicamente activas (Fig. 9; Demain, 2000; Kalinowski *et al.*, 2003; NCBI).

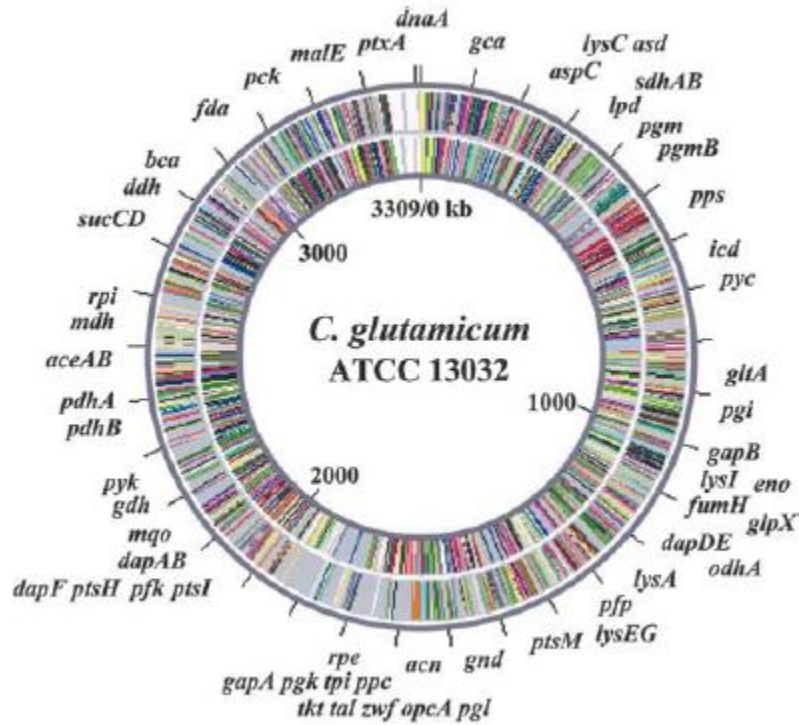


Fig. 9. Mapa genómico de *C. glutamicum*. Todos los genes predichos que constituyen las rutas de biosíntesis de glucosa a L-lisina fueron colocados alrededor del genoma. Los colores indican las funciones del gen como es descrito en el sitio web de donde fue tomada la imagen: http://gib.genes.nig.ac.jp/single/index.php?spid=Cglu_ATCC13032

4.2 Mycobacterium

Generalidades

Las especies del género *Mycobacterium* son bacterias aerobias ácido-alcohol resistentes que usualmente forman bacilos rectos o ligeramente curvos que carecen de motilidad. El crecimiento en forma de micelios y las ramificaciones pueden llevarse a cabo con fragmentación en elementos bacilares y cocoidales, además, no esporulan y no tienen cápsula. Muchas especies forman colonias blanquecinas o de colores crema aunque también existen especies que forman colonias brillantes amarillas o anaranjadas que contienen pigmentos carotenoides. En algunos casos los pigmentos sólo se forman en respuesta a la luz, lo que les da el término de “*especies fotocromógenas*”, pero también pueden formar dichos pigmentos en la oscuridad (“*especies escotocromógenas*”). El contenido de guanina-citocina del DNA de este género oscila entre 66 y 71% (Fig.10; David, 1984; Wayne & Kubica, 1986).



Fig. 10. *Mycobacterium tuberculosis*. Observado a través de microscopía electrónica. Imagen modificada de NCBI (CDC).

Una de las bases taxonómicas del género *Mycobacterium* es su división en dos grandes grupos con base en su velocidad de crecimiento:

- a) Especies de crecimiento rápido [menos de 7 días] y
- b) crecimiento lento [más de siete días]).

Varias especies de crecimiento lento están asociadas o son causantes de enfermedades en seres humanos y animales a diferencia de varias especies de rápido crecimiento que se consideran como “*no patógenos*” y que en ambientes naturales son saprófitas lo que hace a este grupo menos importante desde el punto de vista clínico contra aquellas de lento crecimiento (Fig. 11; Hartmans *et al.*, 2006; Saviola & Bishai, 2006).

Actualmente existen más de 110 especies asignadas al género *Mycobacterium* de las cuales 52 ya habían sido descritas desde 1983. Entre 1984 y 1991 fueron descritas sólo 6 especies más y entre 1992 y 2003 fueron descritas 4 especies más por año. Desde 2004 a la fecha se han sumado a la lista más de 12 nuevas especies. A pesar de la gran variedad de especies que existen dentro de este género, existen pocas especies relevantes para la industria en comparación con la relevancia clínica de *Mycobacterium* por sus especies patógenas, que a lo largo de la historia han cobrado la vida de millones de seres humanos como se menciona un poco mas adelante (ver Epidemiología; Hartmans *et al.*, 2006; NCBI). En este sentido, *Mycobacterium tuberculosis* es el agente infeccioso bacteriano que más vidas ha cobrado en la historia de la humanidad (Cole *et al.*, 2004).

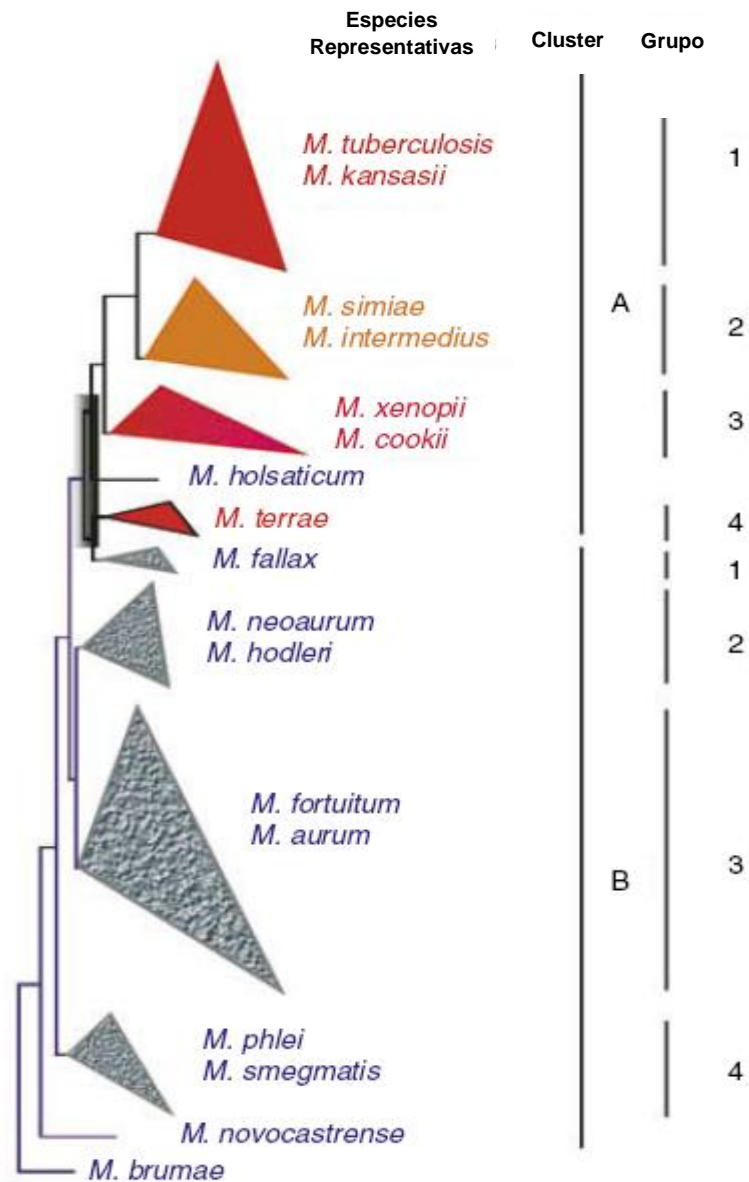


Fig. 11. Esquema gráfico del análisis de las secuencias del gen 16S rRNA de especies de crecimiento lento del género *Mycobacterium*. Los triángulos rojos representan a las especies de crecimiento lento que contienen una hélice larga entre las posiciones 451 y 482; el triángulo amarillo representa a las especies de crecimiento lento que contienen una hélice corta a partir de la posición 451; los triángulos grises representan a las especies de crecimiento rápido. Imagen modificada de Hartmans *et al.*, 2006.

Filogenia y Taxonomía

La relación tan íntima que existe entre todas las especies del género *Mycobacterium* y el hecho de que las especies de crecimiento lento posean una sola copia del operón *rrm* hacen que el gen 16S rRNA sea el blanco ideal para emplearse en la diferenciación de especies. Muchas especies pueden

diferenciarse con base en el secuenciamiento del tramo entre las posiciones 175 y 238. Para las especies que no pueden ser distinguidas con base en el secuenciamiento del gen 16S rRNA, se han empleado otros genes conservados como el gen de la *gyrB*, *hsp65* y el *rpoB*. La presencia de diferencias en las secuencias de otros genes se ha empleado satisfactoriamente para diferenciar a especies altamente relacionadas como *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium bovis* que son parte del complejo “*Mycobacterium tuberculosis*”. Desde 1990 han aparecido reportes acerca de la filogenia de las especies de rápido y lento crecimiento siendo de suma relevancia el hecho de que las especies de crecimiento lento y sobre todo aquellas de interés clínico evolucionaron de las especies de rápido crecimiento.

La distinción genómica entre los dos grupos anteriormente mencionados fue respaldada por una secuencia particular: la mayoría de las cepas de crecimiento lento contienen un inserto, es decir, una hélice larga entre las posiciones de los nucleótidos 451 y 482 del gen 16S rRNA mientras que las de crecimiento rápido contienen únicamente una hélice corta, sin embargo, algunas especies de crecimiento lento como *Mycobacterium simiae* y *Mycobacterium triviale*, carecen de la hélice larga, de esa manera mostrando la firma de sus ancestros de crecimiento rápido (Hartmans *et al.*, 2006).

Los árboles filogenéticos del género *Mycobacterium* (Figs. 12-14) no han cambiado de manera significativa en los últimos años, esto es, que las especies de crecimiento rápido se encuentran profundamente ramificadas (Fig. 11, “cluster” B) y son ancestros de las especies de crecimiento lento (Fig. 11, “cluster” A), sin embargo, cabe mencionar que los puntos donde las especies ramifican unas de otras, no es fijo y podría cambiar dentro del grupo al que pertenecen cuando nuevas secuencias se añadan a la base de datos (Hartmans *et al.*, 2006).

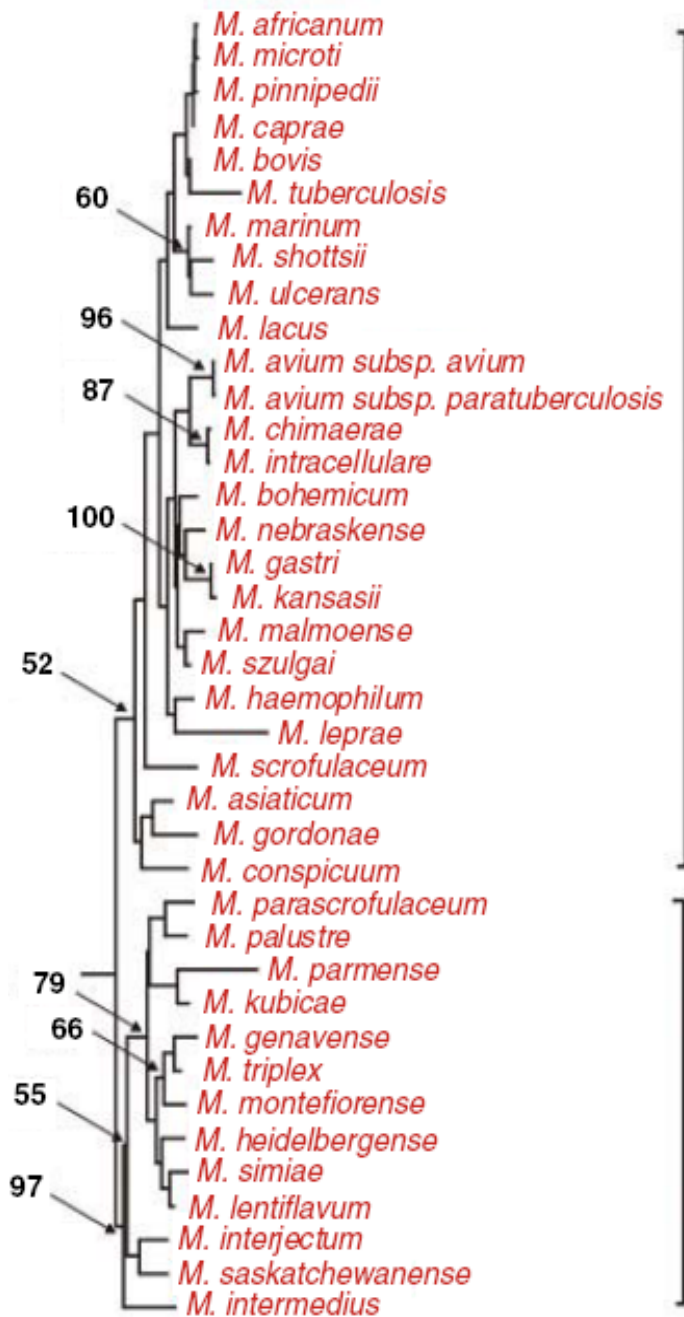


Fig. 12. Árbol filogenético basado en el secuenciamiento del gen 16S rDNA que muestra la posición de las especies de crecimiento lento del género *Mycobacterium*. Hartmans *et al.*, 2006.

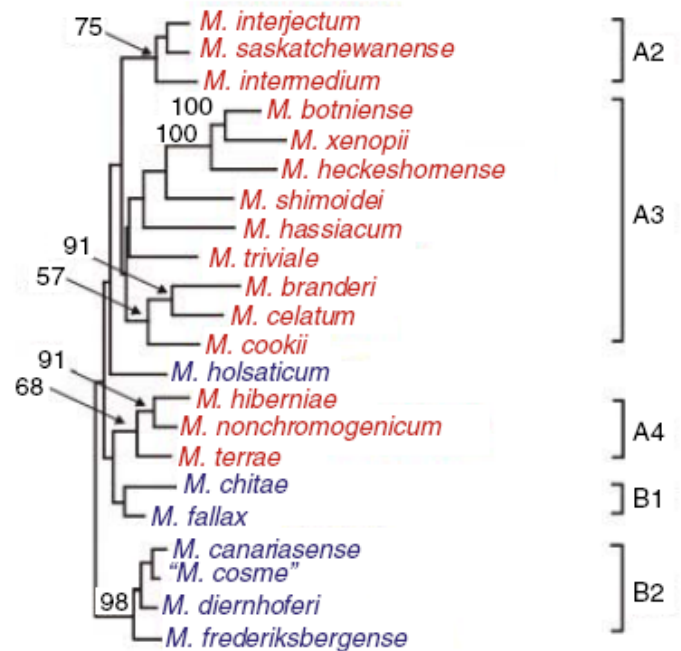


Fig. 13. Árbol filogenético basado en el secuenciamiento del gen 16S rDNA que muestra la posición de especies del género *Mycobacterium* y la evolución de especies de crecimiento lento (en letras rojas) de sus ancestros de crecimiento rápido (en letras azules). Hartmans *et al.*, 2006.

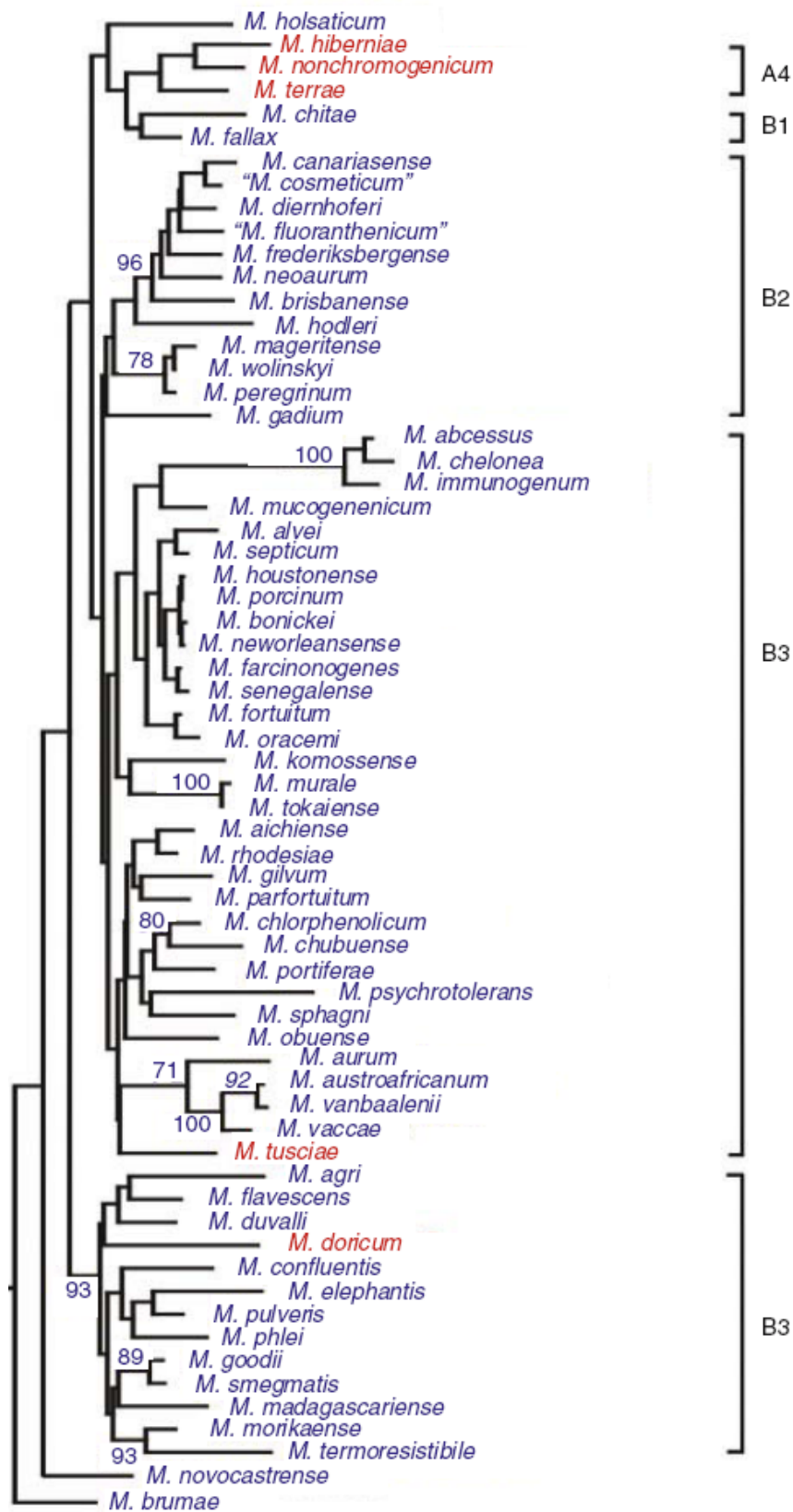


Fig. 14. Árbol filogenético basado en el secuenciamiento del gen 16S rRNA que muestra la posición de las especies de crecimiento rápido del género *Mycobacterium* (en letras azules). En letras rojas se nombran las especies de crecimiento lento que filogenéticamente se agrupan con las de crecimiento rápido Hartmans *et al.*, 2006.

❖ Micobacterias de lento crecimiento

La gran mayoría de las especies de crecimiento lento forman 3 grupos con gran afinidad intragrupal. El grupo A1 contiene a los conocidos patógenos *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium ulcerans*, *Mycobacterium intracellulare* y *Mycobacterium leprae* así como especies relacionadas (Fig. 12). Estos organismos se caracterizan por la hélice larga del gen 16S rRNA mencionada anteriormente.

Los miembros del grupo A2, incluidos *Mycobacterium simiae*, *Mycobacterium gevanense* y especies relacionadas, carecen de inserto (hélice larga). El grupo A3, visto desde un punto de vista evolutivo, es muy interesante pues une a especies de crecimiento lento sin el inserto característico (*Mycobacterium shimoidei* y *Mycobacterium triviale*) con los otros miembros de este grupo que carecen también del inserto mencionado (Fig. 13). El cuarto grupo de las especies de crecimiento lento (denominado grupo A4) posee una posición distintamente aparte pues sus tres especies (*Mycobacterium nonchromogenicum*, *Mycobacterium hiberniae* y *Mycobacterium terrae*) se agrupan muy cerca de algunas especies de crecimiento rápido (grupo B1). En este sentido, dos especies, *Mycobacterium doricum* y *Mycobacterium tusciae*, están definidas como especies de crecimiento lento pero se agrupan dentro de las especies de rápido crecimiento (Fig. 14; Hartmans *et al.*, 2006).

❖ Micobacterias de rápido crecimiento

Estas especies forman cuatro grupos filogenéticos de los cuales tres (junto con dos linajes individuales definidos por *Mycobacterium novocastrense* y *Mycobacterium brumae*) se localizan en la raíz del árbol del género (Figs. 11 y 14). La estructura interna permite definir a cuatro grupos (B1-B4) de los cuales únicamente el grupo B4 está notablemente separado de los demás. Dentro del grupo B3, las tres especies *Mycobacterium abscessus*, *Mycobacterium chelonae* y

Mycobacterium immunogenum se localizan en la punta de una ramificación más larga lo cual puede indicar que estos organismos estén sometidos a un ritmo de evolución distinto. Es de gran interés que las especies *Mycobacterium chitae* y *Mycobacterium fallax* (grupo B1) así como *Mycobacterium holsaticum* muestran estar más íntimamente relacionados con especies de crecimiento lento y por lo tanto podrían servir de “puente evolutivo” entre especies de crecimiento rápido y lento. Varias especies de crecimiento rápido han sido aisladas del medio ambiente y algunas están involucradas en la degradación de hidrocarburos policíclicos aromáticos como por ejemplo *Mycobacterium vanbaalenii*, *Mycobacterium hodleri* y *Mycobacterium frederickbergense*; adicionalmente, *Mycobacterium chlorophenicum* degrada pentaclorofenol. Especies aisladas de heridas infectadas como el caso de *Mycobacterium goodii* y *Mycobacterium wolinskyi* son controversiales ya que su papel como patógenos no ha sido estudiado exhaustivamente, sin embargo, la patogenicidad de otras especies de crecimiento rápido ha sido reportada, así como la de los miembros del grupo B3, es decir, *Mycobacterium fortuitum* y *Mycobacterium septicum* (Hartmans *et al.*, 2006).

Características de la pared celular

La pared celular del género *Mycobacterium* es una de las más complejas que se conocen y que contribuye en gran parte a la enfermedad conocida como Tuberculosis. La pared consiste de una capa interna y una capa externa que rodea a la membrana plasmática con numerosas moléculas adheridas a éstas. La porción externa cuenta con lípidos y proteínas donde los lípidos se encuentran frecuentemente asociados libremente con la porción interna de la pared celular, así como con algunos ácidos grasos de cadenas cortas y largas (Fig. 15).

Los lipopolisacáridos asociados con la pared celular externa consisten de lipoarabinomanano (LAM), lipomanano, lípidos con tiocerol como el dimicoserosato tiocerol y la dimicoliltrehalosa (conocido también como “factor cordón”) y difosfatidilinositol manósidas. Adicionalmente, el compartimento interno

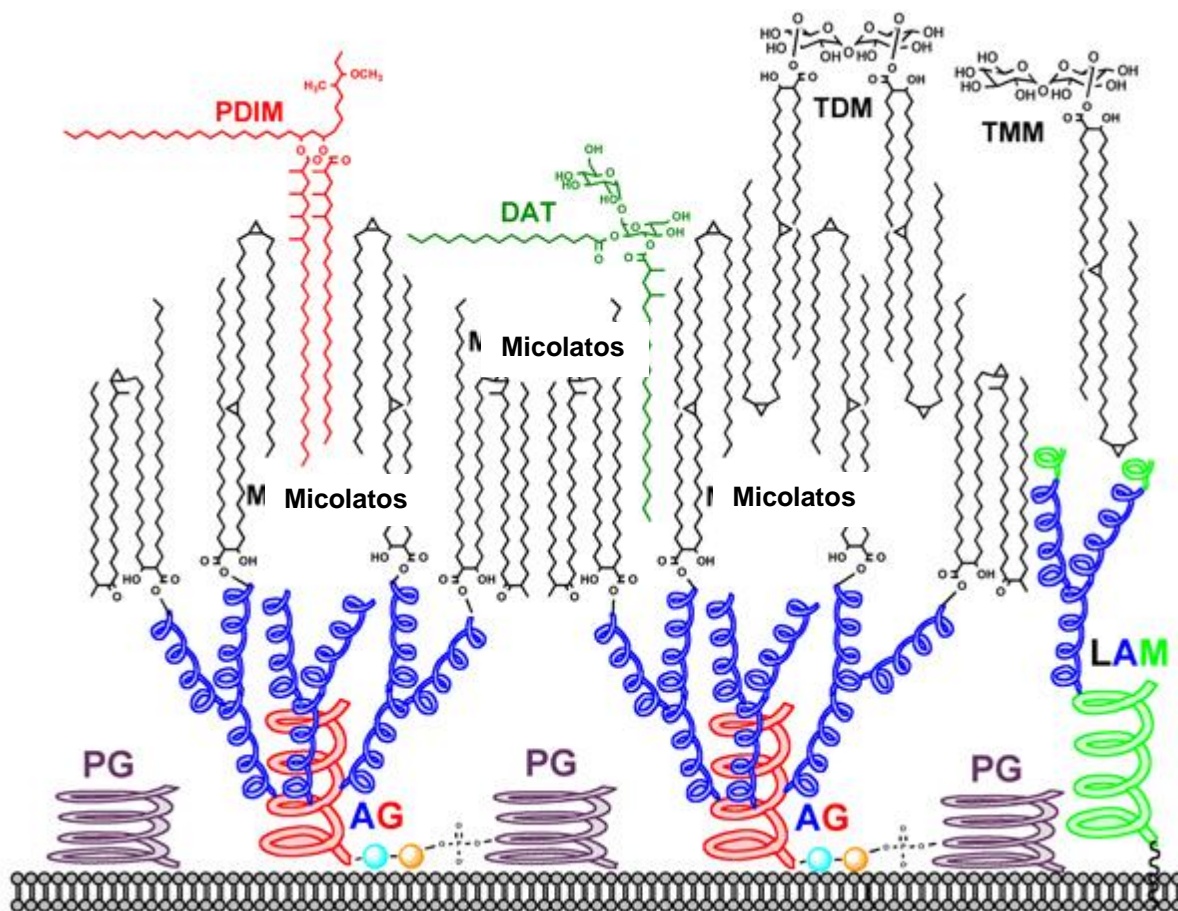


Fig. 15. Estructura de la pared celular de *Mycobacterium tuberculosis*. PG: péptidoglicano; AG: arabinogalactano; LAM: lipoarabinomanano; PDIM: tiocero dimicocerosato; DAT: diacil trehalosa; TDM: dimicolato de trehalosa; TMM: monomicolato de trehalosa. Imagen modificada de "School of Biosciences", Universidad de Birmingham.

consta de péptidoglicano (PG), arabinogalactano (AG) y ácidos micólicos (MA) unidos entre ellos covalentemente formando un complejo MA-AG-PG que se prolonga desde la membrana plasmática hacia afuera en capas, empezando con PG y terminando con ácidos micólicos en un complejo además insoluble (Fig. 15).

De esta estructura tan particular, se desprende el núcleo esencial de la pared celular de *Mycobacterium* o complejo MA-AG-PG pues resulta obvio que numerosos fármacos para el tratamiento de afecciones por estos microorganismos deben estar dirigidos precisamente contra esta estructura (Hett & Rubin, 2008).

En especies patógenas de crecimiento lento como *Mycobacterium tuberculosis* y *Mycobacterium leprae* (ésta sólo se ha logrado cultivar en animales hospederos), los LAMs están cubiertos en los residuos β -Ara con residuos de manosa y se

conocen como lipoarabinomananos manosilados (ManLaMs) mientras que las especies de crecimiento rápido como *Mycobacterium smegmatis* y *Mycobacterium fortuitum* tienen LAMs cubiertos con fosfoinositol llamados fosfoinositol lipoarabinomananos (PILAMs) así como *Mycobacterium chelonae* que carece de LAMs cubiertos que se conocen como AraLAMs. Todas estas proteínas externas y lípidos son componentes solubles de la pared celular y son reconocidas moléculas efectoras y señalizadoras del género *Mycobacterium* por sus papeles conocidos en la interacción con el sistema inmune (Hett & Rubin, 2008).

El péptidoglicano también conocido como mureína consta de filamentos de péptidos y glicanos. El filamento largo de glicano típicamente consiste de *N*-acetilglucosaminas (NAG) alternadamente unidas al ácido *N*-acetilmurámico (NAM). Dichos filamentos están unidos entre ellos por péptidos atados al grupo láctico del NAM de distintos filamentos de glicano. Estas cadenas peptídicas constan de ácido L-alanil-D-*iso*-glutaminil-*meso*-diaminopimélico (*meso*-DAP) de un único filamento unido al residuo terminal D-alanina de la D-alanina L-alanil-D-*iso*-glutaminil-*meso*-DAP de otro filamento (Hett & Rubin, 2008).

El arabinogalactano es el principal polisacárido de la pared celular de *Mycobacterium* compuesto por arabinano y galactano, ambos en una forma furanosa relativamente inusual. Los residuos de galactosa están organizados en uniones alternadas β -(1-5) y β -(1-6) de 30 residuos con arabinano unido a la posición 5 del galactano en uniones (1-5). Algunos de los polímeros de galactano pueden no tener arabinano unido, por consiguiente, son cadenas no ramificadas de galactano. El arabinogalactano está unido covalentemente a la capa de péptidoglicano por una unión fosforil-N-acetilglucosaminosil-ramnosil la cual se relaciona con la usada por bacterias Gram positivas para unir el ácido teicoico con el péptidoglicano (Hett & Rubin, 2008).

Los ácidos micólicos, los determinantes primarios de la permeabilidad de la pared celular, consisten de una variedad de ácidos grasos de cadena larga α -alquil y cadena corta β -hidroxil entre los 60 y 90 átomos de carbono por cadena. La mayoría de los ácidos micólicos están covalentemente unidos al arabinogalactano por uniones éster y existen como grupos tetramicolil-pentaarabinofuranosil en el arabinogalactano (Hett & Rubin, 2008).

Hábitat

Especies del género *Mycobacterium* han sido aisladas de una enorme variedad de ambientes, desde material biológico de mamíferos y no mamíferos hasta de agua tanto salada como no salada, del suelo y de polvo. A pesar de que muchas especies de *Mycobacterium* se han aislado de diversas muestras ambientales, esto no necesariamente significa que dichas cepas puedan crecer bajo esas condiciones. De hecho, para asignar especies a un ecosistema específico, éstas deben ser capaces de multiplicarse activamente y si las especies carecen de dicha propiedad entonces se les considera como *contaminantes*. Distinguir entre ambas opciones resulta difícil, pues las probabilidades de aislar cepas “*contaminantes*” son altas por la capacidad de las especies de *Mycobacterium* para sobrevivir por largos períodos sin mostrar crecimiento (Kazda, 1983; Collins *et al.*, 1984; Tsukamura, 1984; Saviola & Bishai, 2006).

Patogenia

❖ Complejo *Mycobacterium tuberculosis*

El Complejo *Mycobacterium tuberculosis* es un grupo que abarca a las especies *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium africanum* y *Mycobacterium microtti*, todas ellas agentes etiológicos de la Tuberculosis.

Recientemente, la especie *Mycobacterium canetti* también ha sido agregada al complejo pero algunos autores discuten todavía su inclusión.

El factor “cordón” es de las moléculas más importantes implicadas en los mecanismos de patogenicidad y la virulencia de los miembros del Complejo *Mycobacterium tuberculosis* (Fig. 16). Otros componentes de *Mycobacterium* como adhesinas, sulfolípidos y glucolípidos pueden inducir también respuestas inmunológicas, lo que da origen a un cuadro muy peculiar durante el proceso infeccioso. El factor “cordón” es un lipoarabinomano (6,6'-dimicoliltrehalosa) que impide la migración de polimorfonucleares e impide la fusión de los fagosomas que contienen a la bacteria, con los lisosomas de la célula huésped (Rastogi & David, 1988; Spargo *et al.*, 1991). También induce la secreción del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) asociado directamente con la formación de granulomas (ver Enfermedad; Welsh *et al.*, 2008).

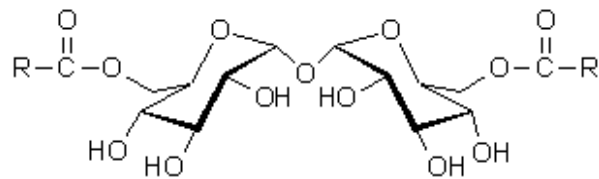


Fig. 16. Estructura del factor “cordón” (6,6'-dimicoliltrehalosa). R: micolil. Imagen modificada del libro Brock Biología de los Microorganismos (Madigan *et al.*, 2010)

Mientras que en *Mycobacterium* el factor “cordón” no es tóxico y le confiere protección de los macrófagos y de los lisosomas, en superficies lipídicas se vuelve antigénico y altamente tóxico. La interacción entre el factor cordón y los lípidos en las células del huésped dan como resultado *necrosis* (muerte del tejido) generando además las cavidades características de la Tuberculosis (Fig. 17; Hunter *et al.*, 2006).



Fig. 17. Del lado izquierdo se muestra una infección tuberculosa inicial, en el centro una placa inicial activa que progresa hacia una cavitación y del lado derecho numerosas cavidades tuberculosas.

- Enfermedad

La principal vía de contagio de la Tuberculosis es de persona a persona por vía aérea al igual que un simple resfriado. Después de la inhalación de las partículas conteniendo al bacilo de la Tuberculosis, éstos alcanzan los bronquiolos terminales y a los alveolos donde son fagocitados por los macrófagos locales (alveolares). Algunos de los bacilos son destruidos por la unión de los fagosomas con los lisosomas, sin embargo, *Mycobacterium tuberculosis* y las especies relacionadas son patógenos intracelulares capaces de inhibir la fusión fagosoma-lisosoma. Los bacilos que sobreviven a estas defensas del huésped crecen dentro del macrófago y son liberados cuando estos mueren o después de inducir la apoptosis. Nuevos macrófagos inactivos provenientes del torrente sanguíneo ahora fagocitan a los recién liberados bacilos los cuales crecen simbióticamente dentro de éstos por aproximadamente 3 semanas. Eventualmente los bacilos lisan los macrófagos y pueden esparcirse en el tejido del huésped. En individuos resistentes hay estímulo de macrófagos y células T por señalización de las células Th1 con interferón gamma (IFN- γ), interleucina 2 (IL-2) e interleucina 12 (IL-12). Finalmente los bacilos y demás restos celulares forman una estructura conocida como “*granuloma caseificante*” y esto permite detener la enfermedad lo que

origina el término “*primoinfección*”. Un huésped puede entonces permanecer por años bajo esta condición de equilibrio. Si este equilibrio se rompe, lo que puede ocurrir bajo condiciones predisponentes como alcoholismo, inmunosupresión, desnutrición, drogadicción o tabaquismo por mencionar algunas, es que más macrófagos sean activados inadecuadamente volviéndose blanco de nuevos bacilos liberados. Las células T citotóxicas comienzan a dañar los propios tejidos del huésped repitiendo un ciclo donde los granulomas se agrandan hasta eventualmente formar cavidades dentro del pulmón con licuefacción de éstos y una característica “*hemóptisis*” (tos con sangre) así como accesos tusígenos que liberan al microorganismo al ambiente (Fig. 18; Kaufmann, 2001; Saviola & Bishai, 2006).

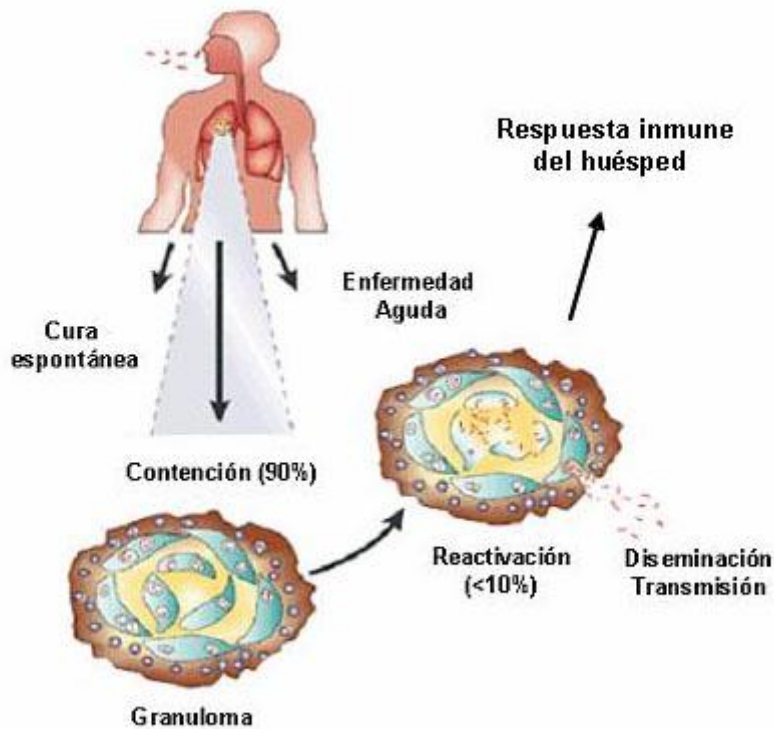


Fig. 18.

Infección por *Mycobacterium tuberculosis* y enfermedad activa. Imagen modificada de Kaufmann, 2001.

El desarrollo de la enfermedad también puede ser extrapulmonar pero por lo regular el primer tejido en ser afectado es el pulmón debido a la vía de transmisión del parásito. Los síntomas incluyen tos, dolor de pecho, una gran producción de esputo, fiebre, sudoraciones por la noche y tos con sangre en las etapas avanzadas de la enfermedad (Kaufmann, 2001; Saviola & Bishai, 2006).

- Epidemiología

Una tercera parte de la población mundial está actualmente infectada por el bacilo de la Tuberculosis y se ha estimado que cada segundo se produce en el mundo una nueva infección que será controlada por el huésped (primoinfección y formación del granuloma). De ese tercio de la población entre un 5 y 10% (no infectadas por VIH) desarrollarán Tuberculosis en alguna etapa de su vida. Es crítico, sin embargo, el hecho de que una persona con Tuberculosis activa no tratada infectará a una media de 10 a 15 personas al año.

En 2008 la Región de Asia Sudoriental registró el mayor número de nuevos casos de Tuberculosis, correspondiéndole el 34% de la incidencia mundial. Sin embargo, la tasa de incidencia estimada en el África subsahariana es casi el doble que en la Región de Asia Sudoriental, más de 350 casos por 100 000 habitantes (Tabla 2). Se calcula que 1,3 millones de personas murieron por Tuberculosis en 2008. El mayor número de muertes se registró en la Región de Asia Sudoriental, mientras que la máxima mortalidad por habitante se dio en la Región de África. En ese mismo año, la incidencia estimada de Tuberculosis por habitante era estable o decreciente en las seis regiones de la OMS. No obstante, esa lenta disminución está contrarrestada por el crecimiento de la población. Como consecuencia, sigue aumentando el número de nuevos casos por año a escala mundial y en las regiones de la OMS de África, el Mediterráneo Oriental y Asia Sudoriental (OMS; CDC).

Tabla 2. Incidencia y prevalencia de Tuberculosis y mortalidad por Tuberculosis en 2008. Fuente: OMS.

Región de la OMS	Incidencia ¹			Prevalencia ²		Tasas de mortalidad	
	número (miles)	% del total mundial	por 100000 habitantes	número (miles)	por 100000 habitantes	número (miles)	por 100000 habitantes
África	2 828	30%	351	3 809	473	385	48
Las Américas	282	3%	31	221	24	29	3
Mediterráneo Oriental	675	7%	115	929	159	115	20
Europa	425	5%	48	322	36	55	6
Asia Sudoriental	3 213	34%	183	3 805	216	477	27
Pacífico Occidental	1 946	21%	109	2 007	112	261	15
Mundo	9 369	100%	139	11 093	164	1 322	20
¹ Incidencia - número de nuevos casos registrados en un periodo determinado ² Prevalencia - número de casos en una población en un momento determinado							

Hasta hace 50 años no existían fármacos que curaran la Tuberculosis, que además ha recibido numerosos sinónimos a lo largo de la historia de la humanidad, entre ellos *Consunción*, *Escrófula*, *Plaga Blanca*, *Tisis*, por mencionar algunos. Sin embargo, la aparición de multirresistencia a alguno de los 5 fármacos del tratamiento de primera línea en todos los países estudiados, es un grave problema que pudiera salirse de control ante la falta de desarrollo de investigación en el campo.

La Tuberculosis farmacorresistente se desarrolla como consecuencia de un tratamiento parcial o anómalo, cuando el paciente incumple el tratamiento al mejorar su sintomatología, las pautas terapéuticas dictadas por el personal sanitario son erróneas o el suministro del fármaco no puede garantizarse. La Tuberculosis multirresistente es una forma especialmente peligrosa de Tuberculosis que se define por la resistencia del bacilo a, como mínimo, la isoniazida y la rifampicina, dos de los tuberculostáticos más potentes. Las tasas

de Tuberculosis multirresistente son altas en algunos países, sobre todo en la antigua Unión Soviética y amenazan las estrategias mundiales de control de la Tuberculosis. Aunque por lo general la Tuberculosis farmacorresistente tiene tratamiento (existen fármacos de segunda línea, por ejemplo), requiere quimioterapia prolongada de hasta dos años con los fármacos correspondientes, además de ser más caros que los de primera elección y con efectos secundarios más graves (Nelson, 2010; OMS).

En 2006, la OMS puso en marcha la nueva estrategia “*Alto a la Tuberculosis*”. El núcleo de esa estrategia es el DOTS (Tratamiento a corto plazo de observación directa por sus siglas en inglés, **D**irect **O**bservation **T**reatment **S**hort course), la propuesta de control de la Tuberculosis iniciada por la OMS en 1995. Desde su creación, se han tratado más de 36 millones de pacientes con principios basados en el DOTS. El éxito se fundamenta en la nueva estrategia de los siguientes seis puntos:

1. Ampliación y perfeccionamiento del tratamiento DOTS de alta calidad.
2. Abordar la Tuberculosis/VIH, la Tuberculosis multirresistente y las necesidades de las poblaciones pobres y vulnerables.
3. Contribuir a fortalecer el sistema de salud sobre la base de la atención primaria.
4. Colaborar con todos los dispensadores de atención.
5. Encargarse de las personas con Tuberculosis y de las comunidades mediante fórmulas de colaboración.
6. Fomentar y promover las investigaciones.

❖ *Mycobacterium leprae*

Mycobacterium leprae o el bacilo de Hansen ha sido descrito desde hace más de 100 años. Comúnmente dicha bacteria es considerada como el agente etiológico de la Lepra a pesar de que aún no se ha podido desarrollar un solo bacilo en

cultivo puro que cause la enfermedad. La mayor limitante es que aún no se ha podido cultivar al bacilo fuera de animales hospederos, sin embargo, la evidencia existente es la siguiente:

1. El bacilo se encuentra en pacientes con lepra y no en pacientes que no tienen Lepra.
2. El bacilo está invariablemente presente en lesiones leprosas
3. Los pacientes con Lepra muestran una respuesta inmune característica ante antígenos de *Mycobacterium leprae*.
4. Los anticuerpos y células T con antígenos o epítomos únicamente expresados por *Mycobacterium leprae* pueden ser aislados de pacientes con Lepra.
5. El glucolípidio fenólico (PGL-I) que únicamente se encuentra en *Mycobacterium leprae* también se encuentra únicamente en lesiones y orina de pacientes que padecen Lepra.
6. Secuencias específicas de nucleótidos de *Mycobacterium leprae* pueden hallarse en lesiones leprosas.
7. La susceptibilidad de *Mycobacterium leprae* en modelos animales a fármacos es la misma que en pacientes.

Las principales características implicadas en los mecanismos de patogenicidad y la virulencia de *Mycobacterium leprae* son las siguientes: *Mycobacterium leprae* posee un tiempo de generación de 11 a 13 días en animales experimentales; dicho crecimiento tan lento podría influir en la duración de la infección, en el desarrollo de la enfermedad (entre 2 y 8 años) y por lo tanto en la naturaleza crónica de la enfermedad.

Por otro lado *Mycobacterium leprae* se desarrolla mejor a temperaturas de 30° C lo cual puede explicar la afinidad del bacilo por las partes más frías del cuerpo incluyendo piel y la mucosa nasal. *Mycobacterium leprae* infecta a las células de Schwann y es la única bacteria patógena capaz de entrar en nervios periféricos lo

cual es importante en la pérdida de función en el nervio y en la inducción de deformidades atroces. La bacteria puede suprimir la respuesta inmune celular presumiblemente a través de la inducción de supresores de células T e inutilizando a los macrófagos anormales infectados por activación o procesamiento de antígenos lo cual permite al hospedero tolerar las cargas tan grandes de bacterias observadas en pacientes con Lepra lepromatosa (hasta 10^{13} microorganismos). De hecho, el único glicolípido fenólico de *Mycobacterium leprae* (PGL-I) es uno de los componentes principales de su envoltura celular (es el 2% de la masa total de la bacteria) y es capaz de inhibir la respuesta oxidativa de los macrófagos que han fagocitado al bacilo ayudándolo a sobrevivir dentro del macrófago. Otros posibles mecanismos de supervivencia y reproducción de *Mycobacterium leprae* dentro de macrófagos y células de Schwann son que los bacilos son capaces de escapar del fagosoma y de esa manera reproducirse en el citoplasma de la célula infectada. De manera similar a MTB, *Mycobacterium leprae* puede evitar también la fusión del fagosoma con el lisosoma aunque no dentro de las células de Schwann (Shinnick, 2006).

- Enfermedad

La Lepra o enfermedad de Hansen es una patología infecciosa crónica granulomatosa que afecta primariamente al sistema nervioso central periférico, la piel y mucosas, sobre todo la nasal. La Lepra por sí misma no es mortal pero desarrolla grandes deformidades particularmente en manos y pies (Fig. 19). Los mecanismos de contagio a la fecha no han logrado esclarecerse pero existe evidencia que el contagio se lleva a cabo por vía respiratoria aunque no puede descartarse el contagio via piel con piel e incluso por vectores como algunos insectos (Shinnick, 2006).



Fig. 19. Deformidades típicas en manos de un paciente con Lepra. Imagen modificada de <http://maruen87.blogspot.com/2009/01/lepra-enfermedad-de-los-pobres.html>

- Epidemiología

De acuerdo a reportes oficiales de 121 países, la prevalencia global registrada de Lepra a inicios del 2009 era de 213 036 casos mientras que el número de nuevos casos detectados durante el 2008 fue de 249 007 casos. El número de nuevos casos detectados mundialmente se ha reducido por 9126 (4%) durante el 2008 en comparación con el 2007. Aún existen zonas muy endémicas en países como Angola, Brasil, República Central Africana, República Democrática del Congo, India, Madagascar, Mozambique, Nepal y la República Unida de Tanzania. El primer avance importante en el tratamiento de la Lepra se realizó en los años cuarenta con el desarrollo de la dapsona (una sulfa), medicamento que detuvo la enfermedad. No obstante, la larga duración del tratamiento, de años o incluso durante toda la vida, dificultaba su cumplimiento. En los años sesenta, *Mycobacterium leprae* empezó a desarrollar resistencia a la dapsona, el único fármaco contra la Lepra conocido por entonces. A principios de los años sesenta se descubrieron la rifampicina y la clofazimina, los otros dos componentes del Tratamiento Multimedicamentoso (TMM) junto con la dapsona. En 1991, el órgano deliberante de la OMS, la Asamblea Mundial de la Salud, adoptó una resolución

para eliminar la Lepra como problema de salud pública en el año 2000. Por eliminar la Lepra como problema de salud pública se entiende conseguir una tasa de prevalencia de menos de un caso por cada 100 000 personas. La meta se alcanzó a tiempo y el uso generalizado del TMM ha reducido la carga de morbilidad sin que exista a la fecha resistencia al tratamiento (OMS).

Importancia del secuenciamiento de especies del género *Mycobacterium* e importancia en la industria

A la fecha se han secuenciado los genomas completos de más de 15 especies de este género así como una gran cantidad de plásmidos de varias especies (Tabla 3; NCBI). Las aplicaciones del secuenciamiento de especies de *Mycobacterium* son desde luego las relacionadas a la Tuberculosis. Por ejemplo la vacuna BCG (*Bacillus Calmette-Guérin*) se deriva de la cepa *Mycobacterium bovis* BCG y la tuberculina o PPD, usada en el diagnóstico de la enfermedad, se obtiene de varias cepas de *Mycobacterium*. A pesar de su alto impacto en salud humana, el género *Mycobacterium* también tiene aplicaciones que son de relevancia industrial y biotecnológica. Este género es usado principalmente en el área de biocatálisis para llevar a cabo reacciones de transformación específicas. Una de las áreas en biotecnología que tiene un gran número de aplicaciones comerciales usando cepas de *Mycobacterium* es la biotransformación de esteroides.

Este proceso involucra tanto la modificación de los núcleos de esteranos de esteroides naturales o sintéticos como la degradación selectiva de la cadena lateral de esteroides naturales como el colesterol. Los productos obtenidos pueden ser transformados químicamente a esteroides con actividad farmacológica. Una potencial aplicación del género *Mycobacterium* en el campo de biocatálisis es la producción de epóxidos ópticamente activos a partir de alquenos. Posteriormente estos epóxidos son utilizados en la síntesis de fármacos ópticamente activos. La limitación de la producción de epóxidos es la toxicidad, sobre los bacilos, de los

Tabla 3. Genomas completos secuenciados de especies del género *Mycobacterium* con sus respectivos plásmidos. ¹ Especies de importancia clínica ² Especies de importancia industrial ³ Especies de crecimiento rápido ⁴ Especies de crecimiento lento Fuente: NCBI.

Cepa y plásmido	Fecha secuenciación (completos)	Tamaño (Kbp)	Tipo de genoma	Contenido GC
^{1,3} <i>M. abscessus</i>	1-mar-08	5067,17	Circular	64.00%
Plásmido sin nombre	1-mar-08	23	Circular	67.00%
^{1,4} <i>M. avium</i> 104	29-nov-06	5475,49	Circular	68.00%
^{1,4} <i>M. avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> str. K-10	27-dic-01	4829,78	Circular	69.00%
^{1,4} <i>M. bovis</i> AF2122/97	25-ene-01	4345,49	Circular	65.00%
^{1,4} <i>M. bovis</i> BCG str. Pasteur 1173P2	8-ene-07	4374,52	Circular	60.00%
^{1,4} <i>M. bovis</i> BCG str. Tokyo 172	13-mar-09	4371,71	Circular	65.00%
^{2,3} <i>M. gilvum</i> PYR-GCK	13-abr-07	5600	Circular	67.00%
pMFLV01 (plásmido)	13-abr-07	320	Circular	65.00%
pMFLV02 (plásmido)	13-abr-07	25	Circular	64.00%
pMFLV03 (plásmido)	13-abr-07	17	Circular	65.00%
^{1,4} <i>M. leprae</i> Br4923	10-ene-09	3268,07	Circular	57.00%
^{1,4} <i>M. leprae</i> strain TN	2-oct-01	3300	Circular	57.00%
^{1,4} <i>M. marinum</i> strain M	19-abr-08	6636,83	Circular	65.00%
pMM23 (plásmido)	21-abr-08	23	Circular	67.00%
^{1,3} <i>M. smegmatis</i> str. MC2 155	29-nov-06	7000	Circular	67.00%
² <i>M. sp.</i> JLS	1-mar-07	6048,42	Circular	68.00%
² <i>M. sp.</i> MCS	12-jun-06	5705,45	Circular	68.00%
plasmid1 (plásmido)	12-jun-06	215,075	Circular	66.00%
^{1,4} <i>M. tuberculosis</i> CDC1551	2-oct-01	4403,84	Circular	65.00%
^{1,4} <i>M. tuberculosis</i> F11	14-jun-07	4424,43	Circular	65.00%
^{1,4} <i>M. tuberculosis</i> H37Ra	6-jun-07	4400	Circular	65.00%
^{1,4} <i>M. tuberculosis</i> H37Rv	7-sep-01	4400	Circular	65.00%
^{1,4} <i>M. tuberculosis</i> KZN 1435	14-jul-09	4400	Circular	65.00%
^{1,4} <i>M. ulcerans</i> Agy99	4-dic-06	5631,61	Circular	65.00%
pMUM001 (plásmido)	5-feb-04	170	Circular	62.00%
^{2,3} <i>M. vanbaalenii</i> PYR-1	28-dic-06	6500	Circular	67.00%

solventes orgánicos empleados. Por otro lado, en el área de biorremediación también hay posibles aplicaciones de *Mycobacterium* en sedimentos, aumentando la velocidad de mineralización de varios hidrocarburos aromáticos policíclicos como el caso de cepas capaces de degradar pireno (Fig. 20). Cabe destacar que la mayor desventaja del uso biotecnológico, industrial y ecológico de *Mycobacterium* es su velocidad de crecimiento relativamente baja y por consiguiente su baja actividad catalítica (Hartmans *et al.*, 2006; Liang *et al.*, 2006).

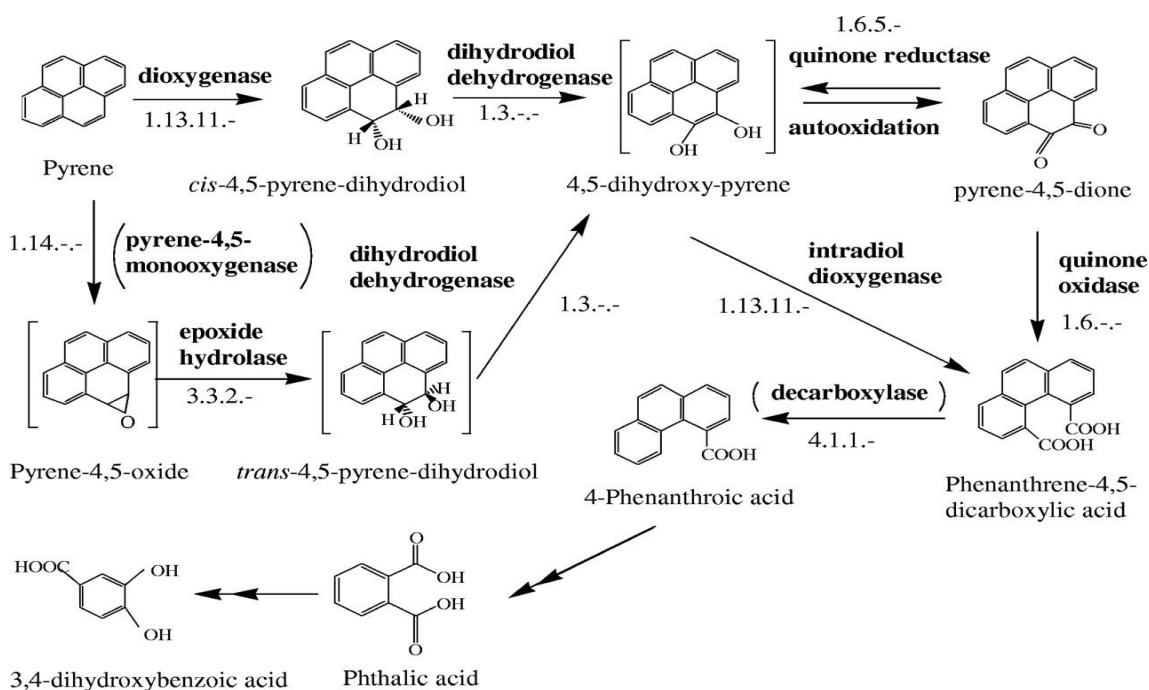


Fig. 20. Ruta propuesta para la degradación de pireno por *Mycobacterium* sp. Cepa KMS. Las flechas sencillas representan un paso y las flechas dobles indican varios pasos. Los intermediarios y enzimas entre paréntesis no están identificados en el estudio. Imagen modificada de Liang *et al.*, 2006.

4.3 Nocardia

Generalidades

Las especies del género *Nocardia* son aerobias, carecen de motilidad, son catalasa positivas y son típicamente ácido-alcohol resistentes en algunas etapas de su ciclo de crecimiento. Poseen un metabolismo oxidativo y son quimioorganotróficas. Forman hifas sobre el sustrato que van de rudimentarias a extensivamente ramificadas, las cuales comúnmente se fragmentan *in situ* o se desorganizan mecánicamente de formas bacilares a formas cocoides. Las hifas aéreas, a veces visibles sólo a través del microscopio, casi siempre están presentes. Cadenas cortas y largas de conidias bien y pobremente diferenciadas pueden encontrarse ocasionalmente en las hifas aéreas y muy rara vez tanto en micelio aéreo como en micelio vegetativo. Algunas especies forman carotenoides que le confieren colores de diversos tonos de anaranjado, amarillo, rosa y rojo a las colonias que se desarrollan en medios de cultivo sólidos. Pigmentos solubles y difusibles tanto cafés como amarillos también pueden producirse. La morfología colonial es muy variable, puede ser suave y granular, irregular o rugosa. La presencia de hifas aéreas le da una apariencia aterciopelada a la superficie de las colonias. El contenido de guanina y citosina de este género está entre 64 y 72% según la especie (Goodfellow & Maldonado, 2006).

Filogenia y taxonomía

Actualmente se han descrito más de 50 especies del género *Nocardia*. La gran mayoría de dichas especies forman un clado bien definido en el árbol filogenético del suborden *Corynebacterineae* construido a partir del secuenciamiento del gen 16S rRNA (Fig. 21). Aproximadamente la mitad de las especies mencionadas anteriormente han sido descritas dentro de los últimos cinco años para clasificar a los microorganismos provenientes tanto de aislados clínicos como de muestras ambientales (Goodfellow & Maldonado, 2006).

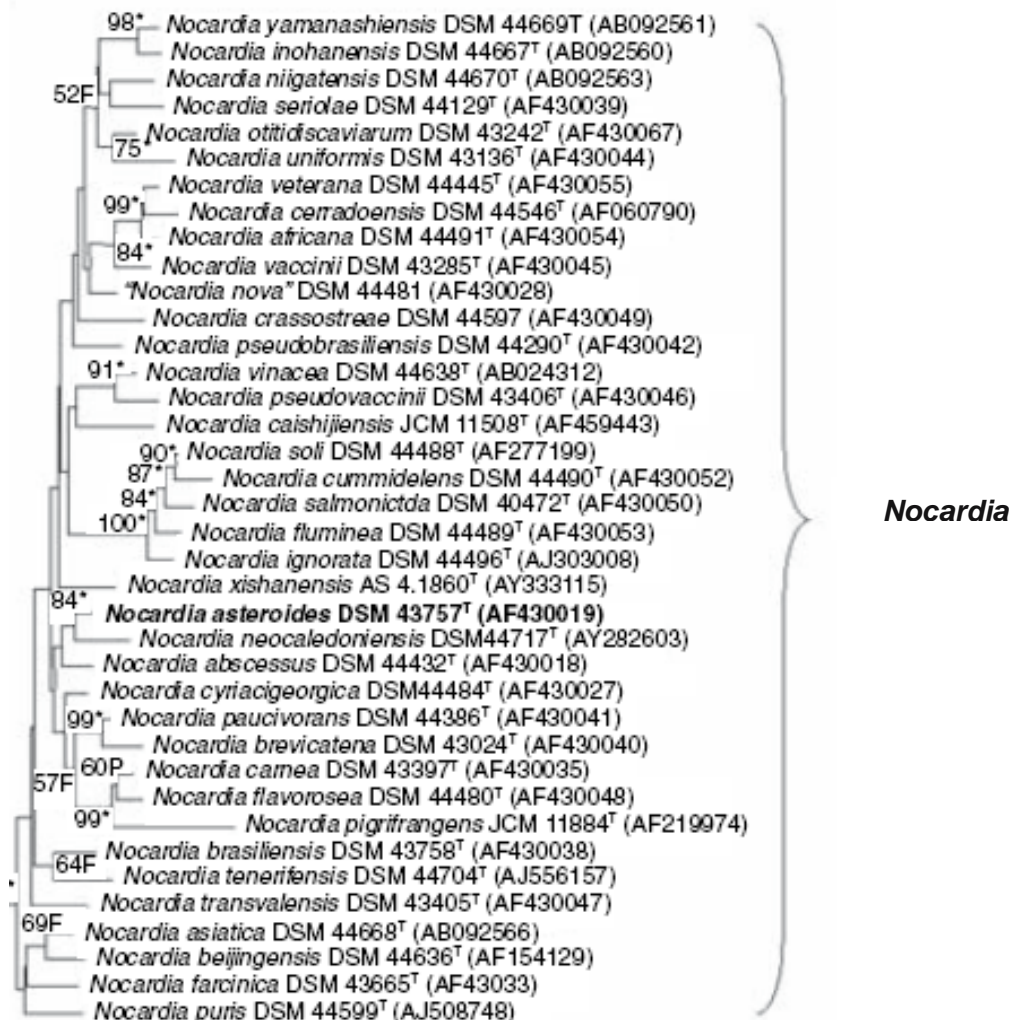


Fig. 21. Árbol filogenético basado en las secuencias del gen 16S rRNA que muestra la composición del clado de *Nocardia* con sus especies más representativas. En letras negras se señala la especie tipo del género. Imagen modificada de Goodfellow & Maldonado, 2006.

El estatus taxonómico de las especies descritas recientemente está basado en un balance de análisis genotípicos y fenotípicos pues muchas especies anteriormente habían sido identificadas erróneamente como *Nocardia asteroides*. Procedimientos taxonómicos modernos incluyendo análisis moleculares y métodos numéricos taxonómicos han permitido extender el conocimiento sobre la filogenia y taxonomía de este género. La identificación de *Nocardia* al nivel de especie predice susceptibilidades a antimicrobianos de algunas especies. Por lo general, sólo números pequeños de algunas especies dentro de complejos han sido estudiadas, por lo que mientras nuevas cepas son identificadas, las descripciones

fenotípicas actualmente aceptadas, incluyendo patrones de susceptibilidad pudieran no ser válidas. Esto se ejemplifica claramente dentro del complejo *Nocardia nova* compuesto de las especies *Nocardia nova*, *Nocardia africana*, *Nocardia veterana*, *Nocardia kruczakiae* y probablemente por otras especies que aún no han sido nombradas. Con excepción de la especie *Nocardia nova*, sólo unos cuantos aislados han sido estudiados detalladamente incluyendo las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Por consiguiente, hasta que sean reportadas las pruebas de susceptibilidad de las distintas especies patógenas del género, no será posible generalizar en cuanto a los patrones de susceptibilidad, y los resultados de las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de todo aislado del género *Nocardia* seguirán causando confusión (Seyyed *et al.*, 2009).

Características de la pared celular

El género *Nocardia* contiene ácidos micólicos de cadena corta, de entre 40 y 64 átomos de carbono y hasta 3 dobles enlaces. El péptidoglicano de su pared celular se caracteriza al igual que el de otros géneros, dentro del suborden *Corynebacterineae* por tener ácido meso-diaminopimélico, arabinosa y galactosa. Los glicanos basales consisten en ácido β -*N*-acetilglucosaminil-1,4-*N*-glicosilmurámico con aminoácidos unidos al grupo carboxilo del ácido *N*-glicolilmurámico. Los aminoácidos del péptidoglicano están diaminados por tripéptidos *L*-alanina-*D* α -glutaminomeso-diaminopimélico y por tetrapéptidos *L*-alanina-*D* α -glutaminomeso-diaminopimélico-*D*-alanina. Los ésteres micólicos contienen entre 12 y 18 átomos de carbono y pueden ser saturados o insaturados. La principal menaquinona es una menaquinona hexahidrogenada con 8 unidades de isopreno de las cuales las últimas 2 unidades están cicladas (Beaman, 1975; Beaman & Sugar, 1983; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Hábitat

El género *Nocardia* es común y está ampliamente distribuido tanto en hábitats terrestres como en acuáticos aunque varias especies son patógenas de varios animales incluidos también seres humanos. Entre los animales susceptibles al género *Nocardia* destacan aves, reses, gatos, perros, peces, chivos, roedores y ovejas. También existen especies saprófitas, simbiontes y se conoce actualmente una especie patógena en plantas (*Nocardia vaccinii* en moras azules; Demaree & Smith, 1952; Beaman & Sugar, 1983; Stark & Anderson, 1990; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Patogenia

Algunas especies de *Nocardia* como *Nocardia asteroides* y *Nocardia brasiliensis* son patógenos intracelulares facultativos que pueden infectar tanto a individuos con inmunodeficiencia como a individuos normales. Estas especies al igual que los patógenos intracelulares del género *Mycobacterium* poseen numerosas características que les permiten sobrevivir dentro de los fagocitos como la neutralización de oxidantes, evitando la fusión del fagosoma con el lisosoma y deteniendo la acidificación del fagosoma. Los principales factores de virulencia de *Nocardia asteroides* y de *Nocardia brasiliensis* son las catalasas, superóxido dismutasas, factor cordón y proteasas, además de lo ya mencionado con respecto a la supervivencia intracelular de la bacteria (Salinas-Carmona *et al.*, 2002; Seyyed *et al.*, 2009).

La nocardiosis es una enfermedad pulmonar, cutánea, subcutánea, cerebral o diseminada. Existen casos también de nocardiosis ocular pero son muy raros. La nocardiosis pulmonar es la más común con un 90% de los casos causados por *Nocardia asteroides*. La manifestación más común de la infección es una bronconeumonía crónica frecuente en pacientes con inmunodeficiencia. También *Nocardia* es responsable de generar micetomas, enfermedad crónica inflamatoria,

subcutánea y granulomatosa. De hecho, en México la mayor parte de los casos de micetomas (86.6%) son producidos por *Nocardia brasiliensis* (Salinas-Carmona *et al.*, 2002).

El secuenciamiento del genoma de la especie *Nocardia farcinica* permitió identificar genes asociados a la virulencia del microorganismo lo que lo hace el patógeno mas potencialmente peligroso del género (Ishikawa *et al.*, 2004).

Importancia ambiental e industrial

Hasta el momento son poco relevantes las aplicaciones que pudiese tener el género *Nocardia* para la industria y el medio ambiente en comparación con la relevancia clínica que posee dicho género. Con el secuenciamiento del genoma completo de *Nocardia farcinica* además de genes virulentos se dedujeron las bases moleculares del metabolismo secundario del microorganismo, encontrando también potencial para producir antibióticos y para catalizar la bioconversión o biodegradación de químicos (Chiba *et al.*, 2007). Por ejemplo, la especie *Nocardia vinacea* tiene la capacidad de producir *tubelactomicina A* que es un nuevo antibiótico de lactosa de 16 miembros (Goodfellow & Maldonado, 2006). Lo anterior abre una nueva posibilidad de estudios aparte de los de importancia clínica para este género.

4.4 Rhodococcus

Generalidades

El género *Rhodococcus* comprende bacterias aerobias que carecen de motilidad, todas sus especies son catalasa positivas y por lo regular son parcialmente ácido-alcohol resistentes en algunas etapas de su ciclo de crecimiento. Forman bacilos con un micelio vegetativo extensamente ramificado. Su ciclo de crecimiento empieza con la etapa de cocos o bacilos cortos y posteriormente según la especie se presentan cambios complejos o no tan complejos en su morfología, por ejemplo, los cocos pueden convertirse únicamente en bacilos cortos o formar filamentos con proyecciones laterales; mostrar ramificaciones básicas e inclusive producir hifas ramificadas. La siguiente generación de cocos o bacilos cortos se produce de la fragmentación de los bacilos, filamentos e hifas. Algunas cepas forman hifas aéreas escasas pero microscópicamente visibles que pueden estar ramificadas (Fig. 22).

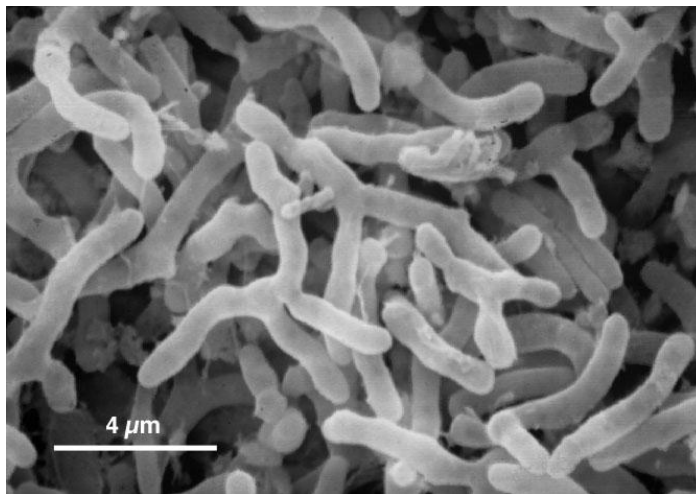


Fig. 22. *Rhodococcus* sp. observado a través de microscopía electrónica. Imagen modificada de <http://www.bcgsc.ca/project/rhodococcus/summary> ("BC Cancer Agency").

Las especies de *Rhodococcus* desarrollan óptimamente en el laboratorio, en medios de cultivo estándar a 30° C aunque hay especies que requieren tiamina para su crecimiento. Las colonias pueden ser rugosas, suaves o mucoides y con pigmentación por lo regular beige, crema, amarilla, anaranjada o roja. El contenido de guanina y citosina de su DNA oscila entre 67 y 73% (Goodfellow & Maldonado, 2006).

Filogenia y taxonomía

El género *Rhodococcus* posee una amplia historia taxonómica. Desde 1923 se le reconoció como género dentro del Manual de Bergey de Bacteriología Determinativa, pero las especies hasta entonces identificadas se transfirieron al género *Micrococcus* permaneciendo ahí desde 1939 hasta 1948. Con los grandes cambios ocurridos en la taxonomía del suborden Corynebacterineae se retomó al género y para 1957 dichas especies (englobadas en un grupo denominado “Complejo rhodochrous”) se asignaron provisionalmente al género *Mycobacterium*. Fue hasta 1974 cuando las especies del “Complejo rhodochrous” fueron consideradas como un grupo de microorganismos completamente distintos a las micobacterias, lo que justificó su transferencia a lo que actualmente conocemos como el género *Rhodococcus*. En los años posteriores hubo muchos cambios donde se realizaron transferencias y reclasificaciones de varias especies así como la descripción de otras, lo que ha ido pavimentando el camino hacia una mayor estabilidad genérica. En la actualidad existen más de 30 especies descritas en la base de datos NCBI (Fig. 23; Goodfellow *et al.*, 1990; Bell *et al.*, 1998; Goodfellow & Maldonado, 2006).

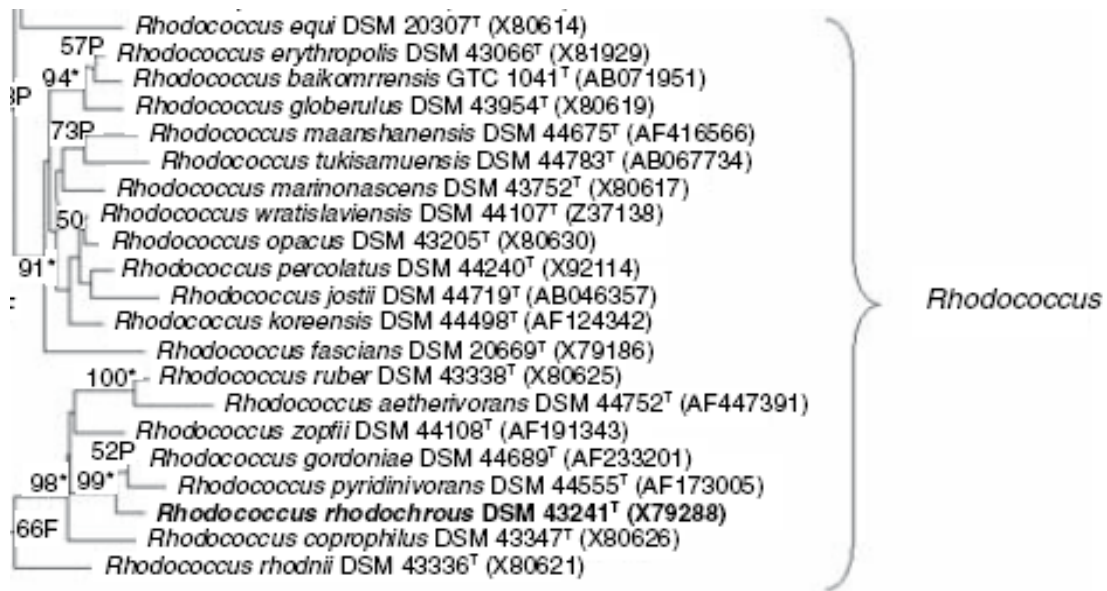


Fig. 23. Árbol filogenético basado en secuencias parciales del gen 16S rRNA que muestra la composición del clado de *Rhodococcus* con sus especies más representativas. En letras negras se señala la especie tipo del género. Imagen modificada de Goodfellow & Maldonado, 2006.

Características de la pared celular

El péptidoglicano de la pared celular de *Rhodococcus* posee, al igual que en los géneros relacionados, ácido *meso*-diaminopimélico como su único diaminoácido y sus principales azúcares son arabinosa y galactosa. *Rhodococcus* posee ácido tuberculoesteárico, sus ácidos micólicos contienen cadenas de entre 30 y 54 átomos de carbono y pueden poseer hasta dos dobles enlaces. La menaquinona principal es una menaquinona dihidrogenada que tiene ocho unidades de isopreno, pero a diferencia del género *Nocardia* carece de unidades cicladas. Los ésteres micólicos contienen entre 12 y 16 átomos de carbono (Bell *et al.*, 1998; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Hábitat

El género *Rhodococcus* está ampliamente distribuido en ambientes terrestres y acuáticos. Las especies han sido aisladas de suelo, de sedimentos marinos e incluso del intestino de artrópodos succionadores de sangre lo que puede sugerir

una relación mutualista. También se han reportado aislados de tanques de aireación de plantas de tratamiento de aguas residuales, de desechos industriales y del estiércol de herbívoros así como de otros animales tanto sanos como enfermos (Bell *et al.*, 1998; Takeuchi *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2004; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Patogenia

Desde hace muchas décadas *Rhodococcus equi* (originalmente llamado “*Corynebacterium equi*”) es patógeno de caballos adultos sobre todo de potros. Recientemente el papel de dicha bacteria como patógeno humano se ha asociado con el aumento de pacientes con inmunodeficiencia, principalmente los infectados con VIH. Otras especies implicadas en procesos patogénicos son *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus globerulus*, *Rhodococcus luteus*, *Rhodococcus rhodnii* y *Rhodococcus rhodochrous*. Al igual que las infecciones equinas, las infecciones humanas son por lo general en el pulmón, causando neumonía con los típicos síntomas como fiebre, tos y dolor en el pecho. Cuando la infección se disemina a otros órganos o causa bacteremia, dicha infección puede volverse muy seria e inclusive mortal. El tratamiento se basa en combinaciones de antibióticos de amplio espectro por tiempos prolongados (Bell *et al.*, 1998; Goodfellow & Maldonado, 2006).

La virulencia de *Rhodococcus equi* está muy relacionada con la expresión del gen *vapA* el cual se localiza en un plásmido circular de 85 000 pares de bases denominado *plásmido asociado a la virulencia* (VAP por sus siglas en inglés; **Virulence Associated Plasmid**). El operón *vap* se encuentra dentro de una isla de patogenicidad de 27 000 pares de bases y codifica al menos cuatro genes funcionales que pueden ser: *vapA*, *vapC*, *vapD*, *vapE* y *vapF*. Estudios de inmunoblotting demostraron que los productos del gen VapA, una lipoproteína de la superficie celular, y VapC, VapD y/o VapE, todas ellas proteínas de secreción, se expresan únicamente durante el crecimiento de la bacteria a 37° C y no a

30° C, lo cual evidentemente juega un papel muy importante para la virulencia del microorganismo. Existe evidencia que los plásmidos virulentos no son esenciales para que el patógeno cause infecciones en seres humanos. *Rhodococcus equi* al igual que especies del género *Mycobacterium* y *Nocardia* pueden inhibir la fusión del fagosoma con el lisosoma. Adicionalmente, la fosfolipasa C y la lecitinasa de *Rhodococcus equi* son también importantes para lisar a las células del huésped y favorecer la infección (Goodfellow & Maldonado, 2006).

Especies como *Rhodococcus fascians* son patógenos para plantas de relevancia comercial como los chícharos y el tabaco por lo que no debe subestimarse el impacto económico de este tipo de pérdidas por infección y subsecuente enfermedad por esta especie (Bell *et al.*, 1998).

Importancia industrial y ambiental

Este género cuenta con un enorme potencial en la rama biotecnológica por la gran diversidad de capacidades metabólicas que poseen varias de las especies estudiadas. *Rhodococcus* tiene la capacidad de degradar hidrocarburos sustituidos y puede hallarse naturalmente en ambientes contaminados por lo que es un candidato fuerte para biorremediación. El hecho de que los microorganismos sean hidrofóbicos por las cadenas alifáticas de los ácidos micólicos de su pared celular favorece la degradación de contaminantes hidrofóbicos mediante la adhesión de células en la interfase de agua y “combustible” (contaminante). El uso de especies como *Rhodococcus erythropolis* y *Rhodococcus ruber* incrementa el número de bacterias que oxidan hidrocarburos así como la velocidad de degradación de éstos en una muestra de composta contaminada con petróleo crudo (Bell *et al.*, 1998).

Debido también a la gran cantidad de cepas de *Rhodococcus* aisladas de sitios con presencia de hidrocarburos y por la capacidad de éstas para crecer utilizando como única fuente de carbono hidrocarburos gaseosos como el propano, el butano

y el acetileno, es posible pensar en el uso de estas bacterias como indicativo o indicadores de depósitos subterráneos de hidrocarburos lo que es además una estrategia de prospección en petróleo. Existen estudios que reportan una gran cantidad de cepas degradadoras de butano y propano en agua subterránea asociada a un yacimiento petrolífero (Bell *et al.*, 1998; Heald *et al.*, 2001).

De manera similar, hay también reportes con respecto a la degradación de bifenilos policlorados (considerados contaminantes peligrosos del suelo y el agua), por especies como *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus globerulus* y *Rhodococcus rhodochrous*. Inclusive, se ha reportado la capacidad de algunas especies del género como surfactantes. *Rhodococcus erythropolis* puede producir material biofloculante con actividad sumamente eficiente sobre un gran número de sólidos suspendidos lo que es de gran utilidad en las plantas de tratamiento de aguas residuales (Goodfellow *et al.*, 1997; Bell *et al.*, 1998).

En la industria este género ya es de importancia por su capacidad de síntesis y transformación. *Rhodococcus rhodochrous* es empleado en Japón para producir 30 000 toneladas de acrilamida anualmente. Existen investigaciones sobre las nitrilasas de *Rhodococcus* para la producción de acrílicos, ácidos y varias amidas, incluyendo vitaminas como la nicotinamida y agentes antimicobacteriales como la pirazinamida, uno de los cinco fármacos empleados para el tratamiento de la Tuberculosis. Las colesterol oxidasas de *Rhodococcus* pueden tener aplicaciones en la industria alimentaria y en la producción de esteroides. Especies de *Rhodococcus* producen las enzimas responsables de la síntesis de aminoácidos como la L-leucina y la L-fenilalanina (Bell *et al.*, 1998; Brandão & Bull, 2003). *Rhodococcus jostii* posee también la capacidad de degradar bifenilos policlorados, *Rhodococcus opacus* es una cepa resistente al benceno y *R. gordoniae* es resistente al fenol (NCBI; Jones *et al.*, 2004; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Actualmente no solo se han secuenciado plásmidos de varias especies del género *Rhodococcus* sino también los genomas completos de las especies *Rhodococcus equi*, *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus jostii* y *Rhodococcus opacus* (Tabla 4).

Tabla. 4. Genomas completos secuenciados de especies del género *Rhodococcus* con sus respectivos plásmidos. ¹ Especies de importancia clínica ² Especies de importancia industrial

Cepa y plásmido	Fecha secuenciación (completos)	Tamaño (Kbp)	Tipo de genoma	Contenido GC
¹ <i>Rhodococcus equi</i> <i>ATCC 33707</i>	15-nov-10	5229,3	Circular	68.00%
² <i>Rhodococcus erythropolis</i> <i>PR4</i>	2-abr-09	6516,310	Circular	62.00%
<i>pREL1</i> (plásmido)	10-nov-05	271,567	Linear	61.00%
<i>pREC1</i> (plásmido)	10-nov-05	104,014	Circular	63.00%
<i>pREC2</i> (plásmido)	10-nov-05	3,637	Circular	62.00%
² <i>Rhodococcus jostii</i> <i>RHA1</i>	31-jul-06	7804,765	Linear	67.00%
<i>pRHL1</i> (plásmido)	31-jul-06	1123,075	Linear	65.00%
<i>pRHL2</i> (plásmido)	31-jul-06	442,536	Linear	64.00%
<i>pRHL3</i> (plásmido)	31-jul-06	332,361	Linear	64.00%
² <i>Rhodococcus opacus</i> <i>B4</i>	3-abr-09	7913,450	Linear	67.00%
<i>pROB01</i> (plásmido)	3-abr-09	558,192	Linear	65.00%
<i>pROB02</i> (plásmido)	3-abr-09	244,997	Linear	64.00%
<i>pKNR</i> (plásmido)	2-abr-09	111,160	Circular	65.00%
<i>pKNR01</i> (plásmido)	17-abr-05	4,367	Circular	64.00%
<i>pKNR02</i> (plásmido)	19-abr-05	2,773	Circular	63.00%

4.5 Gordonia

Generalidades

Las especies del género *Gordonia* son aerobias, catalasa positivas, débilmente ácido-alcohol resistentes, no esporulan y carecen de motilidad. Poseen un metabolismo de carbohidratos oxidativo y son arilsulfatasas negativas; además se ha demostrado que son susceptibles a las lisozimas (muramidasa). Morfológicamente tiene un crecimiento micelial fragmentado en formas bacilares o cocoides. La morfología colonial de las especies de *Gordonia* va de viscosa, suave y brillante a irregular y rugosa; puede incluso ser distinta entre una misma especie dependiendo del medio usado para su desarrollo, incluso, algunas especies como *Gordonia alkanivorans* y *Gordonia westfalica* son capaces de formar tanto colonias suaves como rugosas. Los colores de las colonias son muy variables, las hay blancas, amarillas, cafés, anaranjadas, rojas y rosas. El contenido de guanina-citosina de su DNA es de entre 63 y 69% (Arenskötter *et al.*, 2004; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Filogenia y Taxonomía

Tsukamura propuso en 1971 el nombre "*Gordona*", en honor a la bacterióloga Ruth E. Gordon, para un nuevo género de bacterias corineformes aisladas del esputo de pacientes con cierto padecimiento pulmonar o que venían del suelo. Las especies de este género se distinguen de las micobacterias de rápido crecimiento por su ligera ácido-alcohol resistencia y por la ausencia de arilsulfatasa; del género *Nocardia* por su habilidad para reducir nitratos y por su ausencia de micelio. Goodfellow y Alderson transfirieron *Mycobacterium rhodochrous* y al "Complejo *rhodochrous*" (ver género *Rhodococcus*), incluyendo a las especies representantes del género *Gordona*, al género *Rhodococcus* por lo que el género tuvo que desaparecer al no "tener" especies. Sin embargo, estudios sobre los ácidos micólicos y de la composición de menaquinonas mostraron variaciones

heterogéneas dentro del “nuevo” género *Rhodococcus*. Mientras *Rhodococcus* spp. usualmente contiene ácidos micólicos de entre 34 y 52 átomos de carbono y menaquinonas con 8 unidades de isopreno y 2 átomos de hidrógeno agregados a los dobles enlaces de la cadena lateral de isopreno como la forma principal de menaquinona, tres especies asignadas en ese entonces al género *Rhodococcus* pero originalmente asignadas al género *Gordona* (*Gordonia bronchialis*, *Gordonia rubripertincta* [antes *Gordonia rubra*], y *Gordonia terrae*) tienen ácidos micólicos de entre 48 y 66 átomos de carbono, así como menaquinonas dihidrogenadas con 9 unidades de isopreno como la menaquinona predominante. Indudablemente lo anterior contribuía a un estado heterogéneo dentro del género *Rhodococcus* y justificaba la separación (al menos) de las especies mencionadas incluyendo el replanteamiento del género “*Gordona*”.

Análisis posteriores basados en las similitudes del gen 16S rRNA condujeron al resurgimiento “final” del género *Gordona* por Stackebrandt *et al.* (1988) con las tres especies mencionadas anteriormente. Adicionalmente *Rhodococcus sputi* también fue transferido a *Gordona* cambiando su nombre a *Gordonia sputi*. El género finalmente se volvió “homogéneo” con la inclusión de *Rhodococcus aichiensis* y *Nocardia amarae* que cambiaron sus nombres a *G. aichiensis* y *G. amarae*, respectivamente. Fue hasta 1997 cuando el nombre etimológicamente correcto se cambió a *Gordonia*, en vez de *Gordona* deteniendo además el “ir y venir” de especies (Stackebrandt *et al.*, 1988; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Las especies que actualmente forman al género *Gordonia* están indicadas en la siguiente tabla (Tabla 5).

Tabla 5. Especies validadas del género *Gordonia* hasta el 2009 con sus características más relevantes (las primeras 6 se aislaron de muestras clínicas). Tabla modificada de Barragán, 2009.

	Nombre de la especie	Color de de la colonia	Longitud de ácidos micólicos	Sitio de aislamiento
1	<i>G. aichiensis</i>	Rosa a anaranjado	56-66	Muestra de esputo de paciente
2	<i>G. araii</i>	Blanco a beige	64-70	Muestra de paciente con disfunción renal
3	<i>G. bronchialis</i>	Café	54-66	Muestra de esputo de paciente con enfermedad pulmonar
4	<i>G. effusa</i>	Blanco a beige	56-64	De paciente con enfermedad pulmonar
5	<i>G. otitidis</i>	Blanco-anaranjado pálido	58-64	De un paciente con otitis y bronquitis
6	<i>G. sputi</i>	Rosa	56-66	De muestra de esputo humano
7	<i>G. defluvii</i>	ND	ND	De espuma tomada de tanques de lodo activado en Australia
8	<i>G. desulfuricans</i>	Rosa	56-64	De suelo con muestra aceitosa cerca de minas en desuso en Escocia
9	<i>G. amicalis</i>	Rojo	48-58	Suelo de jardín en Rusia
10	<i>G. hirsuta</i>	Blanco- amarillo claro	60-64	De composta cerca de un biocontenedor
11	<i>G. hydrophobica</i>	Blanco a beige	54-62	De composta cerca de un biocontenedor
12	<i>G. lacunae</i>	Rosa-anaranjado	ND	De arena tomada de estuario en África
13	<i>G. malaquae</i>	Ligeramente crema	ND	De lodo tomado de una planta de sedimentos
14	<i>G. namibiensis</i>	Anaranjadas- rojo-rosa	54-62	De suelo de Namibia
15	<i>G. alkanivorans</i>	Anaranjado a Rojo anaranjado	47-58	Suelo contaminado de una fábrica en Alemania
16	<i>G. paraffinivorans</i>	Anaranjada-rojo	52-62	De muestra de agua de un yacimiento petrolífero en China
17	<i>G. polyisoprenivorans</i>	Crema beige-anaranjado pastel	58-64	Aislada de los desechos de una llantera alemana
18	<i>G. rhizosphaera</i>	Rosa-Anaranjado	56-64	Aislada de la rizósfera de una planta cerca de un lago
19	<i>G. rubripertincta</i>	Anaranjado a Rojo	48-62	Del suelo
20	<i>G. shandongensis</i>	Amarillo claro	ND	Del suelo de una granja en China
21	<i>G. sihwensis</i>	Blanco	48-56	Aislada de un reactor desnitrificador para tratamiento de agua en un lago en Corea
22	<i>G. sinesedis</i>	Crema	58-62	De suelo adyacente al río Támesis
23	<i>G. soli</i>	Anaranjado pálido	ND	De suelo tomado de la universidad Chung Hsing en Taiwan
24	<i>G. amarae</i>	Blanco a beige	46-56	De espuma en superficie de tanques de aireación de lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales
25	<i>G. terrae</i>	Rosa a Anaranjado	52-64	De suelo
26	<i>G. westfalica</i>	Anaranjado pastel	54-62	Aislada de los desechos de una llantera alemana

*ND: No determinado

Características de la pared celular

La pared celular del género *Gordonia* contiene ácido *meso*-diaminopimélico como el único diamino ácido y ácido murámico con residuos denominados *N-glicolil*. Los principales azúcares de la pared celular son la arabinosa y la galactosa. En este género los ácidos micólicos son de entre 44 a 66 átomos de carbono con porciones mayores de cadenas rectas saturadas y monosaturadas así como 10-metil ácidos grasos celulares (ácidos tuberculoesteáricos). La menaquinona principal contiene menaquinonas dihidrogenadas con 9 unidades de isopreno. Los lípidos polares están típicamente compuestos de difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y fosfatidilinositol manosidas. Todas estas características distinguen notablemente al género *Gordonia* de los otros géneros del suborden *Corynebacterineae* (Arenskötter *et al.*, 2004; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Hábitat

El género *Gordonia* está ampliamente distribuido en la naturaleza tanto en hábitats terrestres como acuáticos incluyendo sedimentos marinos. Además, se han aislado especies de rizósferas, biofiltros, aguas industriales de desecho, aguas de desecho de biorreactores y de lodos activados en tanques de aireación de plantas de tratamiento de aguas residuales. *Gordonia* también ha sido aislado en esputo como agente de infecciones humanas (Goodfellow *et al.*, 1997; Takeuchi & Hatano, 1998; De los Reyes *et al.*, 1998; Yoon *et al.*, 2000; Kim *et al.*, 2000; 2003).

Patogenia

De las especies del género *Gordonia* involucradas en infecciones humanas, cabe mencionar que en casi todos los casos documentados se ha tratado de pacientes inmunodeprimidos donde las infecciones por especies de *Gordonia* se dieron de manera secundaria. La gran mayoría de los casos reportados por infecciones han

sido causados por *Gordonia bronchialis* y *Gordonia sputi* aislados ambos del esputo de pacientes con enfermedades pulmonares incluyendo Tuberculosis y bronquiectasia. El primer caso que involucró a *Gordonia rubripertincta* fue una infección pulmonar en una mujer inmunodeprimida cuyo diagnóstico fue confundido con el de Tuberculosis. También han sido reportadas septicemias ocasionadas por catéteres, infecciones del sistema nervioso central e infecciones cutáneas donde el agente causal ha sido *Gordonia terrae* (Arenskötter *et al.*, 2004; Goodfellow & Maldonado, 2006).

A pesar del aumento de reportes de infecciones causadas por *Gordonia*, se ha subestimado la importancia clínica de este género ya que además muchos casos son mal diagnosticados señalando como agentes causales a especies de los géneros *Mycobacterium* y *Nocardia*. Por esta razón es sumamente limitada al día de hoy la información que se tiene sobre los factores potenciales de virulencia de los patógenos oportunistas ya mencionados (Arenskötter *et al.*, 2004; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Importancia ambiental e industrial

A diferencia de la poca información que existe acerca de los patógenos oportunistas del género *Gordonia*, existe más información con respecto a los posibles beneficios de este género. *Gordonia* es un excelente candidato para procesos de biorremediación por su capacidad para degradar hidrocarburos sustituidos y no sustituidos así como contaminantes tóxicos ambientales, algunos xenobióticos y algunos compuestos naturales que no son fácilmente biodegradables. Varias especies cuentan con la capacidad de degradar o modificar hidrocarburos alifáticos y aromáticos, compuestos aromáticos halogenados, benzotiofeno, nitrilo, poliisopreno, xileno y varios más. La incorporación de las cadenas largas alifáticas de los ácidos micólicos en la pared celular está asociada con la hidrofobicidad y adhesión a superficies, por lo que puede jugar un papel muy importante en la degradación de contaminantes

hidrofóbicos. Ejemplos de esta habilidad es el crecimiento y adhesión de varias cepas de *Gordonia* durante los procesos de degradación del caucho y la utilización de hidrocarburos hidrofóbicos por varias especies de este género (Kim *et al.*, 2000, 2003; Arenskötter *et al.*, 2004).

Un ejemplo muy importante de la degradación de xenobióticos por *Gordonia* es la transformación de s-triazinas que son usadas como herbicidas como el caso de la atrazina y simazina que son considerados contaminantes del medio ambiente. De la cepa *Gordonia rubripertincta* DSM 10347 se encontró una enzima única (triazina-hidrolasa) capaz de declorinar la atrazina así como de desaminar melaninas y compuestos relacionados (Mulbry, 1994).

Además del posible uso de *Gordonia* en procesos de biorremediación, la industria también tiene un especial interés en dicho género, especialmente en el procesamiento de combustibles fósiles por la capacidad de algunas especies de modificar compuestos heterocíclicos. Debido a las regulaciones actuales sobre el contenido de sulfuro en la gasolina para reducir sus emisiones al medio ambiente, el uso de microorganismos como *Gordonia* es una alternativa a los procesos convencionales de hidrodesulfuración utilizados en las refinerías. El dibenzotiofeno (DBT por sus siglas en inglés) es considerado como el compuesto representativo de la fracción aromática sulfurada del carbón y del petróleo crudo. Algunas especies del género *Gordonia* tiene la habilidad de desulfurar el DBT como se indicó en la Tabla 5 (columna "Sitio de aislamiento"). Algunas especies también producen una gran variedad de compuestos los cuales tienen distintas utilidades como L-lisina y otros aminoácidos y agentes biotensoactivos (De los Reyes *et al.*, 1998; Abbad-Andaloussi *et al.*, 2003).

Varias especies del género *Gordonia* forman colonias con pigmentos rojizos, indicando su capacidad para sintetizar cantidades importantes de carotenoides (Fig. 24). *Gordonia jacobaea* por ejemplo, fue aislada por su capacidad de producir



Fig. 24. Mutantes inducidos de *Gordonia polyisoprenivorans* con biosíntesis modificada de carotenoides. En la imagen se pueden apreciar los mutantes 44-07 y 49-05 con una síntesis defectuosa; los mutantes 33-45 y 38-33 muestran una coloración ligera distinta a la cepa silvestre y en el mutante 47-46 se aprecia la obvia sobreproducción de un carotenoide rojo. Imagen modificada de Arenskötter *et al.*, 2004.

enormes cantidades de carotenoides y fue la primera especie del género *Gordonia* caracterizada debido a su biosíntesis de carotenoides. De hecho, 2 compuestos carotenoides extraídos de *Gordonia jacobaeae* están aprobados por la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA por sus siglas en inglés, **F**ood and **D**rug **A**dministration) como aditivos en alimento para ganado y para peces (Armstrong, 1994; De Miguel *et al.*, 2000, 2001).

Un aspecto negativo de gran relevancia del género *Gordonia* es la capacidad surfactante de *Gordonia amarae* pues junto con algunas especies de *Mycobacterium* y *Skermania piniformis* (otro miembro del suborden *Corynebacterineae* y que se menciona en páginas posteriores) es la principal formadora de espuma en lodos activados de plantas de tratamiento de aguas residuales lo que implica una baja en el rendimiento del reactor biológico por la

reducción en la transferencia de oxígeno, mayor demanda de éste y genera una mayor cantidad de sólidos suspendidos y su subsecuente dispersión (Goodfellow *et al.*, 1997).

A pesar de lo metabólicamente activo que es el género *Gordonia* con sus potenciales implicaciones en biorremediación, biodegradación, biotransformación y producción de compuestos de gran utilidad humana, la manipulación genética del género es aún muy limitada. Sin embargo, parece ser que el futuro uso de *Gordonia* estará también restringido por estudios de los factores de virulencia de las especies patógenas reportadas (Arenskötter *et al.*, 2004; Goodfellow & Maldonado, 2006).

4.6 Tsukamurella

Generalidades

El género *Tsukamurella* comprende bacterias aerobias, parcialmente ácido-alcohol resistentes que carecen de motilidad, no esporulan y forman bacilos desde rectos hasta ligeramente curvados que se organizan en pares, masivamente o solos; también hay elementos cocobacilares. Poseen un metabolismo oxidativo y son catalasa positivas. Las colonias que forman van desde el color crema hasta el anaranjado, son convexas y de apariencia seca. Su contenido de guanina-citocina en el DNA es de entre 67 y 74% (Collins *et al.*, 1988; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Filogenia y taxonomía

Antes de que se utilizara como herramienta taxonómica el gen 16S rRNA se tenía establecido restringir especies dentro del género *Corynebacterium* que se caracterizaran por la presencia de ácido meso-diaminopimérico y arabinogalactano en la pared celular, que contuvieran ácidos micólicos de cadenas cortas (entre 22 y 36 átomos de carbono) y menaquinonas dihidrogenadas con entre ocho y nueve unidades de isopreno, así como con un contenido de guanina y citocina en su DNA entre 51 y 67%. Por esa razón, originalmente se clasificó una actinobacteria aislado de micetomas y de chinches como *Corynebacterium paurometabolum*, sin embargo, poseía ácidos micólicos con cadenas inusualmente largas de entre 68 y 76 átomos de carbono altamente insaturadas. Más adelante, se reportó un caso similar de una actinobacteria con ácidos micólicos de cadenas largas altamente insaturadas el cual se clasificó como *Rhodococcus aurantiacus*. Además de poseer ácidos micólicos altamente insaturados, *Corynebacterium paurometabolum* y *Rhodococcus aurantiacus* eran distintos de otras especies del género asignado por la producción de multiprenil menaquinonas con cadenas laterales insaturadas mientras que miembros de los géneros *Corynebacterium*, *Mycobacterium*,

Nocardia y *Rhodococcus* invariablemente sintetizan menaquinonas con cadenas laterales parcialmente saturadas (Collins *et al.*, 1988).

Después de hacer un análisis de las secuencias del gen 16S rRNA de *C. paurometabolum* y *R. aurantiacus* se determinó que ambas especies estaban relacionadas en una proporción mayor al 99% y eran distintas de los géneros *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Nocardia* y *Rhodococcus* por lo cual se propuso que ambas especies fueran clasificadas como la especie *Tsukamurella paurometabolum* familia *Tsukamurellaceae* (Collins *et al.*, 1988). Al presente año, el género cuenta con diez especies (Fig. 25; NCBI).

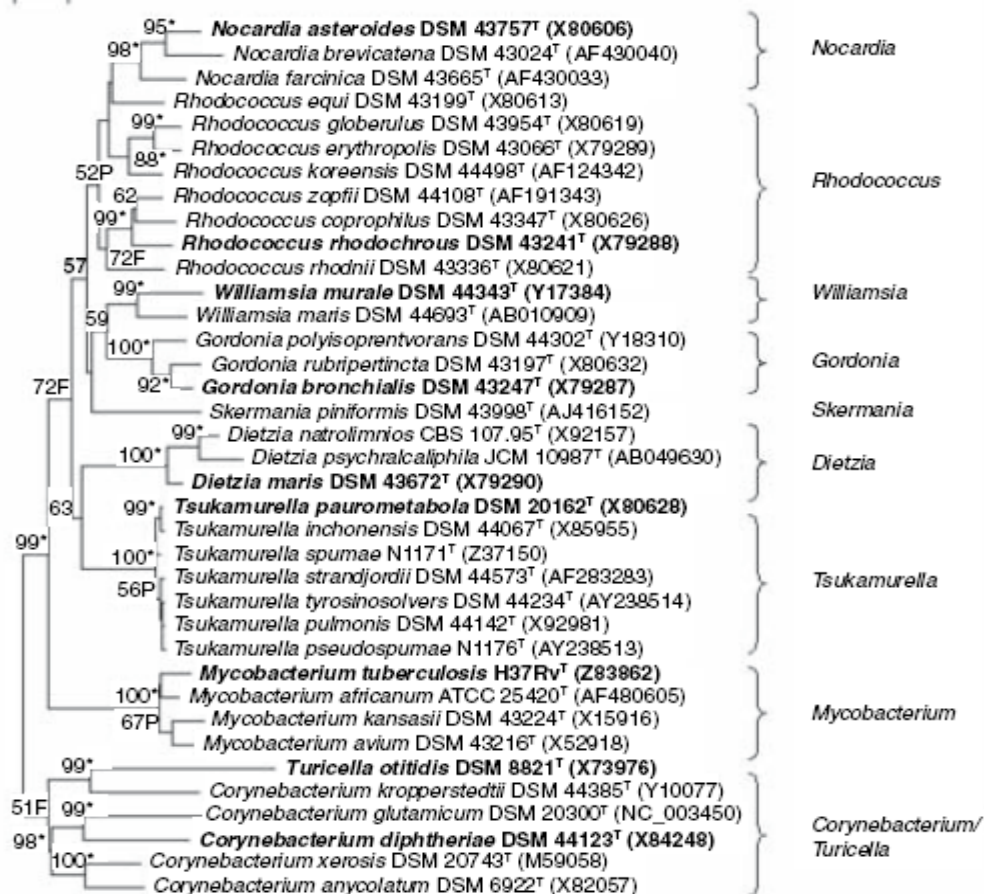


Fig. 25. Árbol filogenético basado en las secuencias del gen 16S rRNA que muestra la relación de los géneros *Nocardia*, *Rhodococcus*, *Williamsia*, *Gordonia*, *Skermania*, *Dietzia*, *Tsukamurella*, *Mycobacterium* y *Corynebacterium* dentro del suborden *Corynebacterineae*. En letras negritas se señalan las especies tipo de cada género. Imagen tomada de Goodfellow & Maldonado, 2006.

Características de la pared celular

El péptidoglicano de la pared celular del género *Tsukamurella* tiene ácido meso-diaminopimérico, la fracción de glicanos contiene residuos *N*-glicolil. Los principales azúcares son arabinosa y galactosa. Contiene ácidos micólicos de cadenas largas (con entre 62 y 78 átomos de carbono) con entre uno y seis dobles enlaces. Los ésteres de los ácidos micólicos tienen entre 20 y 22 átomos de carbono. Las cadenas largas de los ácidos grasos celulares son principalmente cadenas rectas saturadas, monoinsaturadas y 10-metil ramificadas. Las menaquinonas únicas con compuestos insaturados con predominio de 9 unidades de isopreno. Los principales lípidos polares son difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y monodiacil y diacil fosfatidilinositol dimanosidas. Hay especies que producen glicolípidos (Collins *et al.*, 1988; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Hábitat

Las especies conocidas de *Tsukamurella* han sido aisladas de lodos activados, de artrópodos, de material clínico y del suelo (Goodfellow & Maldonado, 2006; Almeida *et al.*, 2010).

Patogenia

Se han reportado casos de sepsis asociadas a catéteres, infecciones cutáneas, meningitis y patologías pulmonares ocasionadas por *Tsukamurella*. La colonización del tracto respiratorio se ha observado tanto en pacientes con inmunodeficiencias como con los que no las tienen pero ambos con enfermedades crónicas en los pulmones. La primera especie patógena en identificarse fue *Tsukamurella paurometabola* asociada con casos de meningitis mortal e infecciones por catéteres. Más adelante se relacionaron también con este tipo de infecciones a las especies *Tsukamurella pulmonis* y *Tsukamurella*

tyrosinosolvans, las cuales junto con *Tsukamurella inchonensis* se les relaciona también con infecciones pulmonares (Goodfellow & Maldonado, 2006). Recientemente a *Tsukamurella pulmonis* y *Tsukamurella tyrosinosolvans* se les ha asociado con infecciones oculares (Almeida *et al.*, 2010).

No existe información a la fecha acerca de los factores de virulencia de estas especies consideradas hasta el momento como patógenos oportunistas, sin embargo, recientemente se secuenció el genoma completo de *Tsukamurella paurometabola*, con lo que se espera mayor información al respecto de la patogenia del género conforme se hagan comparaciones genómicas y se termine el ensamblaje del genoma (NCBI).

Importancia industrial y ambiental

No existe actualmente información sobre las implicaciones que pudiese tener el género *Tsukamurella* sobre el medio ambiente o sobre posibles aplicaciones que pudiese tener para la industria, sin embargo, con la reciente secuenciación del genoma completo de *Tsukamurella paurometabola* seguramente existirá una mayor información al respecto en los próximos años.

4.7 Dietzia

Generalidades

Las especies del género *Dietzia* son bacterias aerobias que no son ácido-alcohol resistentes, no esporulan, son catalasa positivas y forman cocos que desarrollan bacilos cortos o bacilos que al dividirse forman la típica forma de “V”. Las cepas son quimioorganotróficas, cromógenas y cuentan con un metabolismo oxidativo. En medios de cultivo sólidos pueden apreciarse colonias circulares, elevadas o convexas, entre naranjas y rojizas muy brillantes con bordes enteros (Fig. 26). El contenido de guanina-citosina de su DNA oscila entre el 66 y 73% (Goodfellow & Maldonado, 2006; Koerner *et al.* 2009).

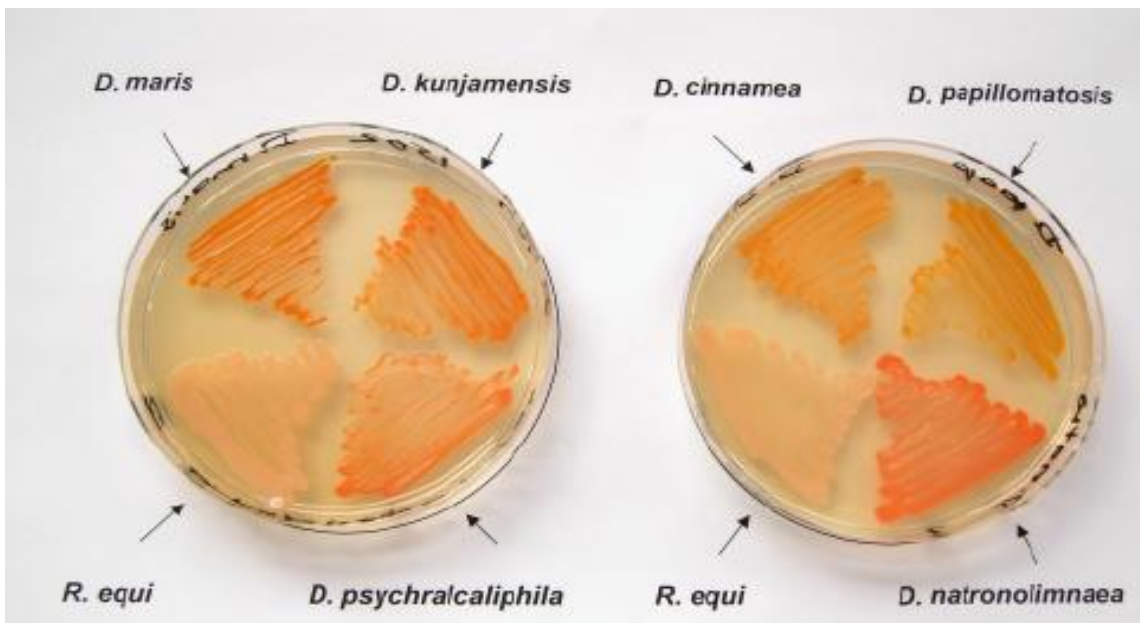


Fig. 26. Expresión de pigmentos por *Dietzia maris*, *Dietzia kunjamensis*, *Dietzia psychralcaliphila*, *Dietzia cinnamea*, *Dietzia papillomatosis* y *Dietzia natronolimnaea* después de 48 horas de incubación a 36° C en agar Iso-Sensitest. Imagen modificada de Koerner *et al.*, 2009.

Filogenia y taxonomía

Dietzia fue un género propuesto por Rainey *et al.* (1995) para dos microorganismos clasificados primero como *Flavobacterium maris* (1929) y más adelante como *Rhodococcus maris* (1982) ahora identificados como *Dietzia maris*. El género actualmente cuenta con 10 especies que son: *Dietzia cercidiphylli*, *Dietzia cinnamea*, *Dietzia dagingensis*, *Dietzia kunjamensis*, *Dietzia maris*, *Dietzia natronolimnaea*, *Dietzia papillomatosi*, *Dietzia psychralcaliphila*, *Dietzia schimae* y *Dietzia timorensis*. El género forma un clado distinto en el árbol filogenético del suborden *Corynebacterineae* construido con secuencias del gen 16s rRNA (Fig. 27; Rainey *et al.*, 1995; Koerner *et al.*, 2009; NCBI).

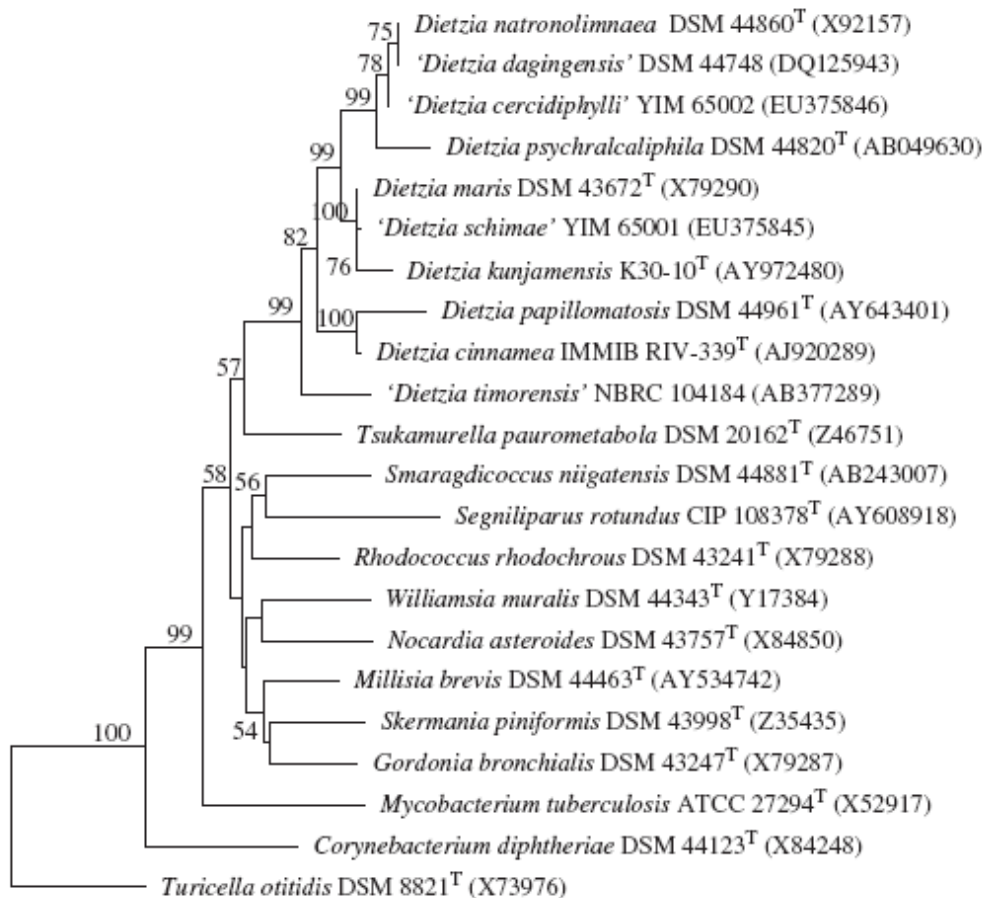


Fig. 27. Árbol filogenético basado en las secuencias del gen 16s rRNA que muestra la composición del clado de *Dietzia* y su relación con otros géneros representativos del suborden *Corynebacterineae*. Imagen modificada de Koerner *et al.* (2009).

Características de la pared celular

La fracción de glicanos contiene residuos del tipo “*N-acetil*” (ácido N-acetilmurámico). Los azúcares mayoritarios de la pared celular son arabinosa y galactosa. Se encuentran presentes ácidos micólicos de cadena corta (34-38 átomos de carbono) con hasta un doble enlace. Los ácidos grasos de cadena larga de la membrana celular son compuestos predominantemente de cadenas rectas saturadas y no saturadas y está presente el ácido tuberculoesteárico. La principal menaquinona es dihidrogenada con 8 unidades de isopreno. Los lípidos más polares son los difosfatidilgliceroles; la fosfatidiletanolamina y la fosfatidilinositol manosidas están ausentes (Goodfellow & Maldonado, 2006; Koerner *et al.*, 2009).

Hábitat

Las especies del género *Dietzia* se han aislado de varios sitios. Está documentado que se han encontrado en suelo, piel humana, tracto digestivo de una carpa y en sedimentos marinos profundos. Inclusive, se ha aislado *Dietzia* de lagos con salinidad moderada y aguas alcalinas. Los sitios de mayor relevancia de donde se ha aislado *Dietzia* son de un yacimiento petrolífero y de pacientes con infecciones agudas (Duckworth *et al.*, 1998; Bemmer-Melchior *et al.*, 1999; Yumoto *et al.*, 2002; Goodfellow & Maldonado, 2006; Koerner *et al.*, 2009;).

Patogenia

Las especies *Dietzia cinnamea*, *Dietzia maris* y *Dietzia papillomatosis* son de relevancia clínica pues *Dietzia maris* ha sido asociada como un potencial patógeno invasivo en humanos siendo el primer caso aquel de un paciente inmunodeprimido con septicemia (Bemmer-Melchior *et al.*, 1999). De manera similar, *Dietzia papillomatosis* ha sido asociada con una afección de la piel mientras que

Dietzia cinnamea se recuperó de la piel de un paciente que recibía trasplante de médula ósea (Koerner *et al.*, 2009).

De manera similar a los dos géneros anteriores, no existen estudios específicos para identificar los posibles factores de virulencia de las especies oportunistas mencionadas anteriormente, sin embargo, se sabe que al igual que para algunas especies de *Corynebacterium* colonizadoras de la piel humana, *Dietzia cinnamea*, *Dietzia maris* y *Dietzia papillomatosis* son capaces de oxidar una gran variedad de n-alcanos y de iso-alcanos, siendo algunos n-alcanos productos de excreción de la piel humana lo que estaría proporcionando la fuente de carbono necesaria para su establecimiento y propagación. El aislamiento de *Dietzia papillomatosis* se ha asociado con la proteína C reactiva (**CRP** por sus siglas en inglés, **C-Reactive Protein**) a pesar de que no existe evidencia exacta sobre el patomecanismo de invasión. Un posible patomecanismo podría ser la secreción de metabolitos o enzimas por parte de *Dietzia papillomatosis* lo que induce una respuesta que se manifiesta como proteína C reactiva. Este tipo de respuesta ha sido recientemente reportada en varias patologías de piel como en la dermatitis seborreica y la caspa causadas por el hongo *Malassezia globosa*, lo que daría soporte a la hipótesis del patomecanismo en *Dietzia*. La pared celular contiene ácido tuberculoesteárico, un componente del lipoarabinomano que forma parte de la membrana celular y que son un estimulante del Factor de Necrosis Tumoral α (**TNF- α** del inglés; **Tumour Necrosis Factor**) en macrófagos humanos (Koerner *et al.*, 2009).

Importancia ambiental e industrial

Cada día existe más evidencia experimental que indica que especies del género *Dietzia* juegan un papel muy importante en la degradación de varios hidrocarburos y por lo tanto podrían ser de utilidad en procesos de biorremediación al igual que para los géneros *Gordonia* y *Rhodococcus*. Dicha capacidad degradadora se ha observado en las especies *Dietzia cinnamea*, *Dietzia maris*, *Dietzia natronolimnaea* y *Dietzia psychralcaliphila*, al actuar sobre compuestos aromáticos

como el naftaleno, el fenantreno, el benzoato, el tolueno, el carbazol y la quinolina (Szvetnik *et al.*, 2010).

Además del gran potencial de *Dietzia* en biorremediación, estas bacterias con pigmentos naranja-rojizos son fuentes valiosas de varios carotenoides como se observa previamente en la figura 26. A pesar de que es poco lo que se sabe de la producción de carotenoides de distintas cepas, se han logrado aislar genes para la síntesis de cantaxantina de la cepa *Dietzia sp.* CQ4 (Tao *et al.*, 2007) además de optimizar la producción de carotenoides en *Dietzia natronolimnaea* HS-1 (Khodaivan *et al.*, 2007). Un reporte reciente demostró la efectiva biotransformación de tetrahidrocannabinol por la cepa *Dietzia sp.* ENZHR1 lo que sugiere que las alcano-oxigenasas de especies de este género bien podrían tener un papel importante en la síntesis de nuevos fármacos (Rashidi *et al.*, 2009).

Es importante mencionar que para aplicar ambiental e industrialmente todo lo referido con anterioridad son necesarios análisis más detallados, así como una mayor habilidad para la manipulación genética de *Dietzia spp.* La carencia de publicaciones, incluyendo el empleo de herramientas para la manipulación genética óptima de este posiblemente importante grupo de bacterias deberán de incluir el empleo, previa identificación de vectores de clonación (usualmente plásmidos), que sean exclusivos de las especies del género lo que favorecerá precisamente el manipuleo genético con consecuencias biotecnológicas (Szvetnik *et al.*, 2010).

4.8 Skermania

Generalidades

Skermania con su hasta ahora única especie *Skermania piniformis* son bacterias aerobias, no ácido-alcohol resistentes, que carecen de movilidad y forman un extenso micelio que no fragmenta. La presencia de ramificaciones secundarias son muy raras, escasas o inexistentes. Las hifas aéreas no son visibles para el ojo pero aquellas cortamente ramificadas o sin ramificaciones sí logran observarse con el uso del microscopio. *Skermania* cuenta con un metabolismo oxidativo siendo catalasa positivas. Las colonias son anaranjadas, opacas, macroscópicamente secas y microscópicamente viscosas, son circulares con bordes enteros. El contenido de guanina-citosina del DNA de su genoma es de 67.5% (Chun *et al.*, 1997; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Filogenia y taxonomía

El género *Skermania* pertenece a la familia *Gordoniaceae*. En un principio a *Skermania* se le conocía como microorganismos en forma de pino (PTLO por sus siglas en inglés). El apelativo PTLO se asignó debido a la morfología microscópica característica de aspecto similar a los árboles. La única especie, asignada como *Nocardia pinensis* fue posteriormente transferida al género *Skermania* al no compartir características con el resto de *Nocardia*. Gracias a análisis fenotípicos y quimiotaxonómicos se llegó a la conclusión que *Nocardia pinensis* no estaba tan relacionado con el género *Nocardia*. Fue entonces que se propuso clasificar a esta actinobacteria como *Skermania piniformis* dentro de la familia *Nocardiaceae*. Más adelante se reclasificó el género *Skermania* dentro de la familia *Gordoniaceae* con el análisis también de la secuencia del gen 16S rRNA (Fig. 28; Soddell & Seviour, 1998).



Fig. 28. Árbol filogenético basado en las secuencias del gen 16s rRNA que muestra la relación del género *Skermania* y su única especie con géneros relacionados de la familia *Gordoniaceae* dentro del suborden *Corynebacterineae*. Imagen modificada de Chun *et al.* (1997).

Características de la pared celular

La pared celular de *Skermania* contiene una importante cantidad de ácido meso-diaminopimérico, arabinosa, galactosa, glucosa, ribosa y ácido murámico *N*-glicosilado. Sus principales lípidos polares son difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y fosfatidilinositol manósidos. Sus ácidos grasos son saturados e insaturados de cadena recta y también contiene ácido tuberculoesteárico, ácidos micólicos con entre 58 y 64 átomos de carbono con cadenas laterales monoinsaturadas y menaquinonas hexahidrogenadas con ocho unidades de isopreno de las cuales las dos últimas están cicladas, característica que antes se creía sólo única del género *Nocardia* (Chun *et al.*, 1997; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Hábitat

Skermania piniformis se ha encontrado frecuentemente en gran abundancia en la superficie de los tanques de aireación de plantas de tratamiento de aguas residuales al igual que géneros de actinobacterias mencionados previamente. Sin embargo y a diferencia de esos géneros, *Skermania piniformis* no se ha logrado aislar de ningún otro hábitat. Evidentemente, esta situación limita, de manera clara, la cantidad de estudios al no parecer encontrarse diversificados en otros ambientes o ecosistemas (Chun *et al.*, 1997).

Patogenia

No existe información hasta el momento acerca de la patogenia del género *Skermania*.

Importancia industrial y ambiental

Como se mencionó en el capítulo referente al género *Gordonia*, la formación de espuma en los lodos activados de las plantas de tratamiento de aguas residuales es un gran problema a nivel mundial con implicaciones tanto ambientales como económicas. Junto con *Gordonia amarae* y algunas especies de *Mycobacterium*, *Skermania piniformis* es de las principales actinobacterias responsables de este problema. Sin embargo, y como se menciona previamente, hacen falta estudios extensivos con respecto a la distribución de *Skermania*, inclusive en lo que parece ser su único hábitat (Eales *et al.*, 2006).

4.9 Williamsia

Generalidades

El género *Williamsia* comprende bacterias aerobias, que no esporulan, no son ácido-alcohol resistentes, son quimioheterótrofas y que forman bacilos cortos con elementos cocoides. A través de microscopía electrónica puede observarse una superficie con vellosidades alrededor de cada célula, más no en tinciones negativas. El contenido de guanina-citosina de su DNA se encuentra entre los 64 y 65% (Kämpfer *et al.*, 1999; Goodfellow & Maldonado, 2006).

Filogenia y taxonomía

Dentro de una guardería en Finlandia se aisló por primera vez una actinobacteria desconocida denominada “cepa MA140/96” a la que se le hicieron pruebas fenotípicas y quimiotaxonómicas, lo que la relacionó con el suborden *Corynebacterineae*, más específicamente con el género *Gordonia*. El análisis del gen 16S rRNA concluyó que dicha cepa no era una especie del género *Gordonia*, de hecho, por las pruebas quimiotaxonómicas se encontró que dicha cepa podía ser fácilmente distinguida de las especies de *Gordonia* por la longitud de sus ácidos micólicos. La combinación de toda la información recopilada determinó que la cepa MA140/96^T ameritaba ser reconocida como un nuevo género dentro del suborden *Corynebacterineae* clasificándola como *Williamsia muralis* (Fig. 29; Kämpfer *et al.*, 1999; Goodfellow & Maldonado, 2006).

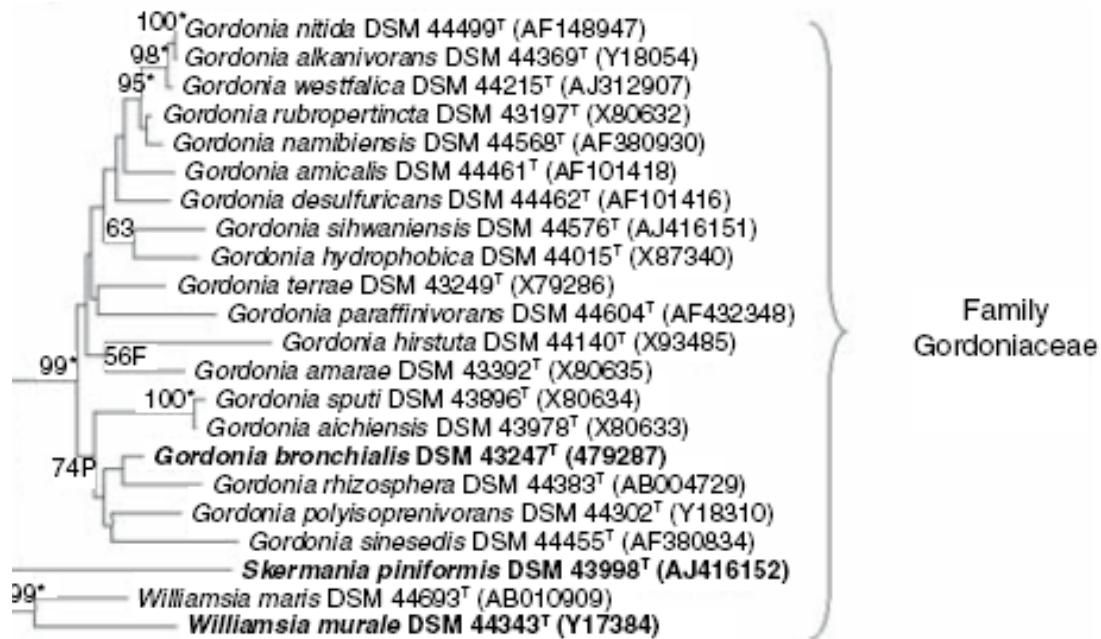


Fig. 29. Árbol filogenético basado en las secuencias del gen 16s rRNA que muestra la relación del género *Williamsia* con géneros relacionados de la familia Gordoniaceae dentro del suborden *Corynebacterineae*. Imagen modificada de Goodfellow & Maldonado, 2006.

Características de la pared celular

La pared celular del género *Williamsia* contiene ácido meso-diaminopimélico y los azúcares principales son arabinosa, galactosa, manosa y ribosa. Posee ácidos micólicos de cadena corta con entre 50 y 56 átomos de carbono. Los ácidos grasos que contiene son de cadena recta tanto saturados como insaturados. Contiene ácido tuberculoesteárico en grandes cantidades (más del 20% de todos los ácidos grasos celulares); los principales lípidos polares son fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol y difosfatidilglicerol. Una 9-dihidromenaquinona con una unidad de isopreno es la única que se encuentra presente en el género *Williamsia* (Kämpfer *et al.*, 1999).

Hábitat

Al igual que con el género *Skermania*, poco se conoce con respecto a la distribución de *Williamsia* en distintos ecosistemas. La primera cepa se aisló de

una pared de una guardería en Finlandia y la especie *Williamsia maris* se recuperó de sedimento del mar de Japón. El aislamiento de una tercera especie, *Williamsia marianensis* de la Trinchera de las islas Marianas, sugiere que estos microorganismos están presentes en hábitats acuáticos aunque también se han reportados especies en pacientes como *W. deligens* (Kämpfer *et al.*, 1999; Stach *et al.*, 2004; Yassin & Hupfer, 2006;).

Patogenia

No existe información hasta el momento sobre la patogenia del género *Williamsia*.

Importancia industrial y ambiental

No existe actualmente información sobre las implicaciones que pudiese tener el género *Williamsia* sobre el medio ambiente o posibles aplicaciones que pudiese tener para la industria.

4.10 Segniliparus

Generalidades

El género *Segniliparus* comprende bacterias aerobias, ácido-alcohol resistentes que no esporulan ni desarrollan micelios aéreos, carecen de motilidad y tienen forma bacilar aunque ocasionalmente adquieren la forma de V pero sin presentar ramificaciones. Son colonias redondas, suaves y cremosas que carecen de pigmentos y no son fotocromógenas. El contenido de guanina-citosina de su DNA es de entre 68 y 72% (Fig. 30; Butler *et al.*, 2005).

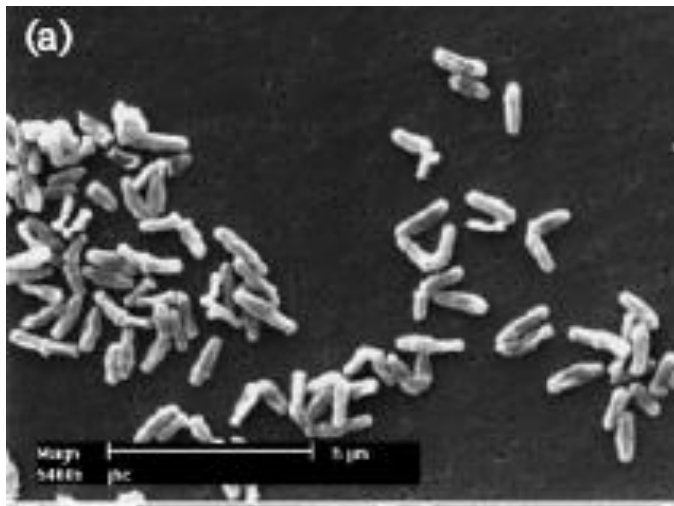


Fig. 30. Cepa CDC 1076^T (*Segniliparus rotundus*) observada por microscopía electrónica. Imagen modificada de (Butler *et al.*, 2005).

Filogenia y taxonomía

Las cepas CDC 1076^T, CDC 413, CDC 945^T y CDC 606 (crecimiento rápido y ácido-alcohol resistentes) se aislaron a partir de material biológico humano en el Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de E.E.U.U. (**CDC** por sus siglas en inglés) y designadas como “*actinobacterias no identificables*”. El análisis del gen 16S rRNA estableció una gran relación genética entre las cepas

CDC 1076^T y CDC 945^T con especies de los géneros *Dietzia*, *Tsukamurella*, *Skermania*, *Gordonia*, *Mycobacterium* y *Rhodococcus* (Fig. 31; Butler *et al.*, 2005). Con base en estas relaciones genéticas así como la información de análisis quimiotaxonómicos, fenotípicos, pruebas bioquímicas y de susceptibilidad microbiana respaldaron la creación de una nueva familia conteniendo un nuevo género y al que se denominó *Segniliparus*. El género actualmente cuenta con dos especies, *Segniliparus rotundus* y *Segniliparus rugosus* (Butler *et al.*, 2005).

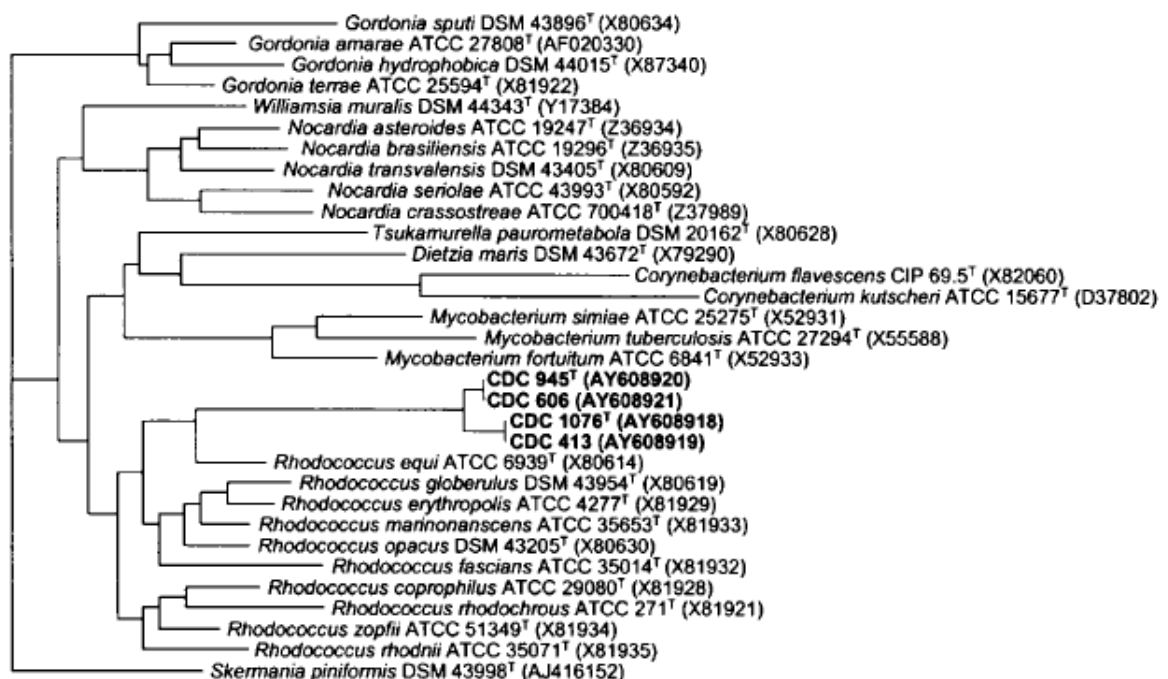


Fig. 31. Árbol filogenético basado en las secuencias del gen 16s rRNA que muestra la relación de las cepas CDC 1076^T, CDC 413, CDC 945^T y CDC 606 con géneros relacionados dentro del suborden *Corynebacterineae*. Imagen modificada de Butler *et al.* (2005).

Características de la pared celular

La pared celular del género *Segniliparus* contiene ácidos micólicos, ácido tuberculoesteárico y ácido meso-diaminopimélico. Las únicas dos especies del género *Segniliparus* poseen la misma composición de ácidos grasos con ácidos

grasos importantes con cadenas de 10, 14 y 16 átomos de carbono. Los ácidos micólicos tienen cadenas de 24 átomos de carbono de ácido metil éster. Los microorganismos también cuentan con grupos funcionales no polares sin oxígeno de gran masa molecular (Butler *et al.*, 2005).

Hábitat

Debido al lugar de donde se aislaron las especies que actualmente comprenden al género, no existe mayor información con respecto a la distribución de *Segnilliparus* en los distintos ecosistemas. *Segnilliparus rotundus* y *Segnilliparus rugosus*, sin embargo, fueron aisladas de la región nasal de un paciente, de una muestra de esputo de otro y de un lavado bronquial. Esta es la única información clínica reportada al respecto (Butler *et al.* 2005).

Patogenia

De acuerdo con estudios filogenéticos, existe una estrecha relación entre las especies *Segnilliparus rotundus* y *Segnilliparus rugosus* con *Rhodococcus equi* (Figura 26). Sin embargo, no se han estudiado ni identificado factores específicos de virulencia de en *Segnilliparus* (Butler *et al.*, 2005). Evidentemente, por tratarse de un género de reciente descubrimiento, la información es aún sumamente limitada.

Importancia industrial y ambiental

Actualmente no existe información sobre las implicaciones del género *Segnilliparus* en el medio ambiente ni tampoco si pudiera existir algún impacto en las industrias mencionadas.

4.11 Millisia

Generalidades

La única especie *Mycobacterium brevis*, es aerobia, ácido-alcohol resistente, carece de movilidad, catalasa positiva, no formadora de esporas y en forma de bacilos con ramificación rudimentaria angulada hacia la derecha que contiene gránulos de almacenamiento de polifosfatos. Las colonias son de color rosa-salmón irregulares con márgenes filamentosos escasos. Existe formación de hifas aéreas no ramificadas en agar extracto de levadura y glucosa. Las colonias son además secas en apariencia pero suaves en textura sin formar pigmentos difusibles. El contenido de guanina-citosina de su DNA es de 64.7% (Soddell *et al.*, 2006).

Filogenia y taxonomía

Las cepas que dieron origen al género se aislaron de espuma formada en lodos activados. Los aislados muestran una morfología de ramificación rudimentaria angulada formando colonias filamentosas color rosa-salmón. El análisis del gen 16S rRNA indicó que ambas cepas (denominadas J81 y J82) podían representar un nuevo género dentro del suborden *Corynebacterineae* como se indica en la figura 32. Las cepas J81 y J82 resultaron estar más relacionadas con especies del género *Gordonia* y el género *Skermania*. Los estudios quimiotaxonómicos, es decir los ácidos grasos, las quinonas isoprenoides, el ácido murámico, los ácidos micólicos, los lípidos polares y los azúcares de la pared celular sugieren la distinción de los aislados J81 y J82 del resto de los géneros del suborden *Corynebacterineae*. Resulta de particular interés mencionar que algo distintivo del género *Millisia* es la alta proporción de ácido oleico en comparación con la pequeña proporción de ácido tuberculoesteárico, lo que distingue notablemente al género de las especies representativas de cada género de las actinobacterias con ácidos micólicos (Soddell *et al.*, 2006).

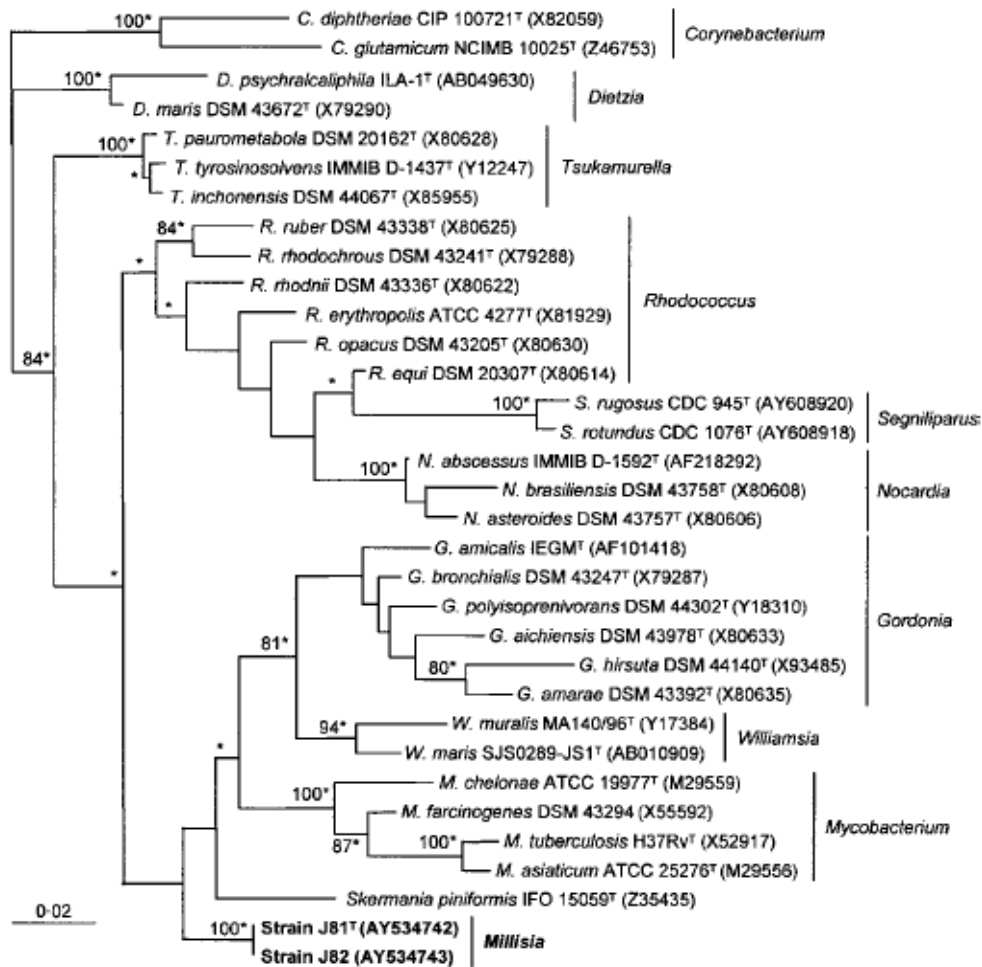


Fig. 32. Árbol filogenético basado en las secuencias del gen 16s rRNA que muestra la relación de las cepas J81 y J82 más adelante validadas como *Millisia brevis* con otros géneros representativos del suborden Corynebacterineae. Imagen modificada de Soddell et al. (2006).

Características de la pared celular

La pared celular de la única especie del género *Millisia* tiene ácido meso-diaminopimérico con arabinosa y galactosa como sus azúcares principales así como ácido murámico N-glicosilado, menaquinona dihidrogenada con 8 unidades de isopreno y ácidos micólicos de entre 44 a 52 átomos de carbono. Los lípidos polares son difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol y fosfatidilinositol manósidos. *Millisia* también se caracteriza por la presencia de ácidos grasos en grandes proporciones como el ácido oleico (46.5%), el ácido palmítico (26.3%) y el ácido palmitoleico (16.8%). En proporciones relativamente

pequeñas se encuentran el ácido mirístico (1.8%), ácido esteárico (2.3%) y el ácido tuberculoesteárico (3.0%; Soddell *et al.*, 2006).

Hábitat

La única especie conocida actualmente fue aislada de lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales en New South Wales, Australia por lo que son necesarios más estudios para evaluar la diversidad de este grupo de microorganismos (Soddell *et al.*, 2006).

Patogenia

De igual manera a la sección anterior, no existe información sobre la patogenia del género *Millisia* debido sobre todo a su reciente descubrimiento (Soddell *et al.*, 2006).

Importancia ambiental e industrial

No existe información actualmente sobre la relevancia que pudiese tener el género *Millisia* sobre el medio ambiente o posibles aplicaciones dentro de la industria (Soddell *et al.*, 2006).

4.12 Smaragdicoccus

Generalidades

Existe hasta el momento una sola especie descrita del género *Smaragdicoccus*: *Smaragdicoccus niigatensis*. Esta actinobacteria posee una morfología celular cocoide y no se ramifica durante sus etapas de crecimiento. Forma colonias redondas de color verde malaquita y es no esporulado. El contenido de guanina-citosina del DNA es de 63.7% (Adachi *et al.*, 2007).

Filogenia y taxonomía

Una actinobacteria degradadora de hidrocarburos a la que se denominó Hou_Blue se aisló de un yacimiento petrolero en Japón. Una vez obtenidos y secuenciados los genes 16S rRNA y *gyrB*, la cepa mencionada apareció relacionada con especies del género *Nocardia*. Los análisis quimiotaxonómicos, la caracterización del péptidoglicano y el análisis de los lípidos polares permitió concluir que la cepa Hou_Blue pertenecía a la familia Nocardiaceae pero por su perfil de quinonas, ácidos grasos y ácidos micólicos se estableció que debía ser clasificada como la especie representante de un nuevo género (Fig. 33; Adachi *et al.*, 2007).

Características de la pared celular

El péptidoglicano de *Smaradigcoccus* contiene ácido diaminopimérico con arabinosa y galactosa como azúcares principales y que están glicosilados. Los lípidos polares están compuestos de difosfatidiglicerol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilinositol manosida y algunos glicolípidos inespecíficos. Los ácidos micólicos tienen cadenas con entre 43 y 49 átomos de carbono. Los ácidos grasos principales son cadenas rectas saturadas e insaturadas mientras que los ácidos grasos 10-metil-ramificados son prácticamente nulos o nulos. Se encontraron también 2 clases de menaquinonas (Adachi *et al.*, 2007).

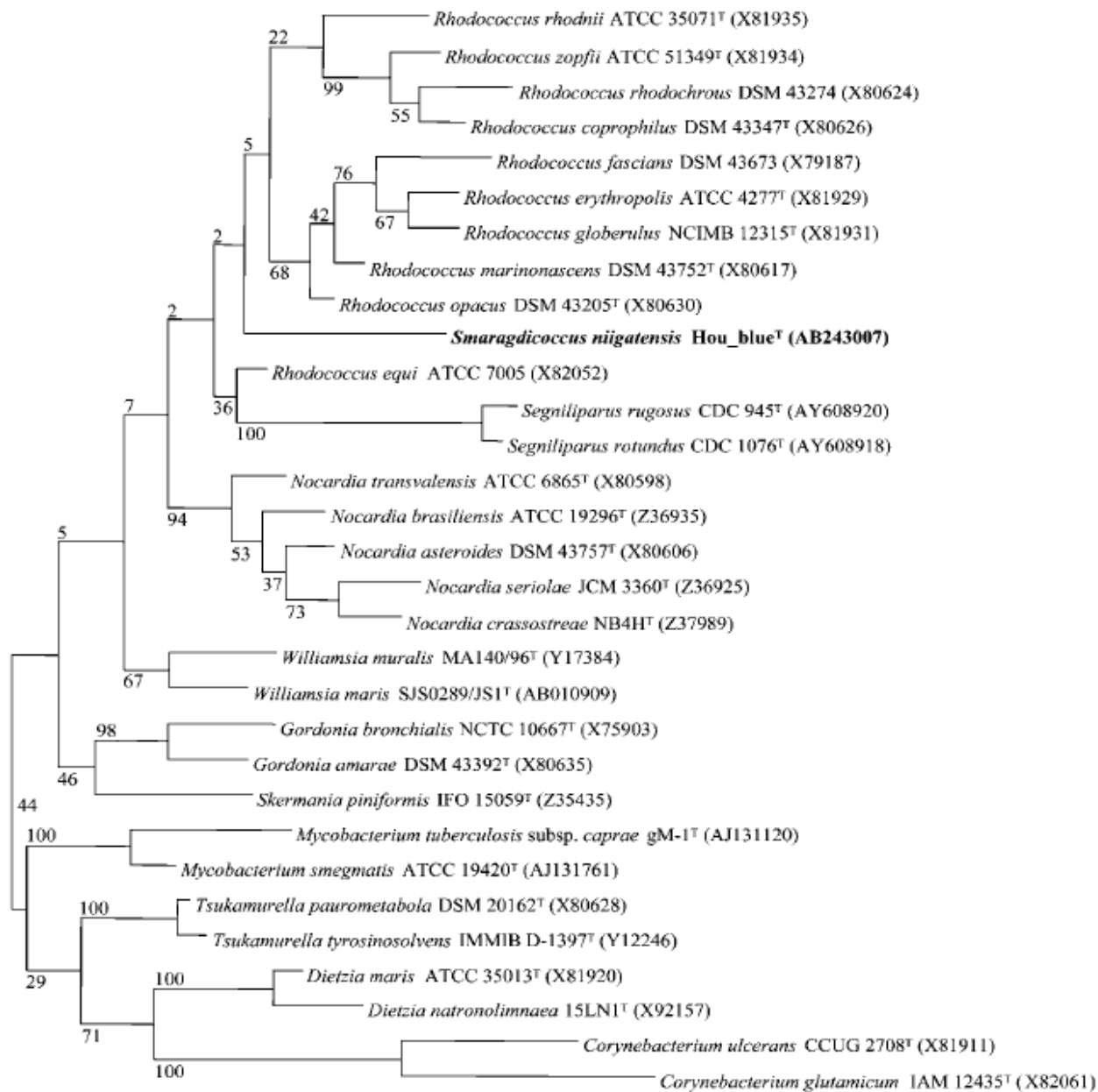


Fig. 33. Árbol filogenético basado en las secuencias del gen 16s rRNA que muestra la relación del género *Smaragdicoccus* y su única especie con géneros relacionados dentro del suborden *Corynebacterineae*. Imagen modificada de Adachi K *et al.* 2007.

Hábitat

La cepa Hou_Blue se recuperó de suelo de un yacimiento de petróleo en Niigata, Japón, por lo que tal vez el hábitat de otras especies de este género pudiera estar relacionado con este tipo de sitios (Adachi *et al.*, 2007).

Patogenia

No existe información hasta el momento sobre la patogenia del género *Smaragdicoccus*.

Importancia ambiental e industrial

Hasta el momento se sabe que *Smaragdicoccus niigatensis* tiene la capacidad de degradar hidrocarburos (Adachi *et al.*, 2007). Sin embargo y al igual con los géneros de reciente descubrimiento, se requieren más estudios al respecto para saber si este microorganismo posee un papel ecológico o si podría ser utilizado en el área de biorremediación.

5.- Conclusiones

Por la enorme cantidad de publicaciones que existen en la actualidad, es clara la importancia del suborden *Corynebacterineae* dentro de varias áreas destacando en este trabajo el área clínica, ambiental e industrial. Debido a la gran diversidad de especies dentro del suborden *Corynebacterineae*, el trabajo se enfocó en las especies de mayor relevancia de cada género de acuerdo a las áreas mencionadas anteriormente.

El suborden *Corynebacterineae* contiene a *Mycobacterium tuberculosis*, la especie patógena que más vidas humanas ha cobrado a lo largo del tiempo, así como a otros patógenos del humano tales como *Corynebacterium diphtheriae* y *Mycobacterium leprae*, responsables de grandes epidemias a lo largo de la historia de la humanidad.

Actualmente una enorme cantidad de patógenos oportunistas de estos y otros géneros como *Gordonia*, *Nocardia*, *Rhodococcus* y *Tsukamurella* han sido identificados por lo que su importancia clínica para el humano debería de ser considerada con mayor detalle. Es claro, sin embargo, que gracias al estudio de *Mycobacterium tuberculosis* durante muchos años, conocemos las implicaciones de su pared celular en la patogenia de esta especie, así como la de (posiblemente) otros patógenos pertenecientes al mismo género e incluso al mismo suborden (excluyendo a *Corynebacterium diphtheriae* pues su mecanismo de patogenicidad resulta ser completamente distinto). Es la pared celular de este grupo bacteriano la que le confiere a dichos patógenos una protección intracelular característica que evita la fusión del fagosoma con el lisosoma, y lo anterior seguramente podría tener implicaciones en la patogenia de aquellos géneros que han sido descubiertos recientemente.

La estructura de su pared está además íntimamente relacionada con los ácidos micólicos de estos patógenos, destacando que son precisamente los ácidos

micólicos los que distinguen al suborden Corynebacterineae de otros subórdenes. No debe descartarse tampoco la presencia de sulfolípidos y glucolípidos asociados a la pared celular como posibles factores de virulencia en las “nuevas” especies, pues estos componentes celulares han sido también reconocidos como causantes de fuertes reacciones inmunológicas en el huésped.

Mención aparte merecen las especies dentro del suborden que no cumplen la condición de poseer ácidos micólicos como es el caso de *Corynebacterium amycolatum* y *Corynebacterium kroppenstedtii*, muy probablemente debido a que evolutivamente perdieron los genes responsables de la síntesis de ácidos micólicos, que no necesariamente son requeridos para el crecimiento y supervivencia de estas especies. Curiosamente, existen investigaciones recientes con respecto a *Corynebacterium kroppenstedtii* pues su genoma ha sido completamente secuenciado.

Como resultado de lo antes mencionado, una gran parte de la investigación existente sobre estas bacterias tiene un enfoque meramente clínico, sin embargo, con el paso del tiempo y debido a las exigencias ambientales e industriales se han encontrado una gran cantidad de especies de varios géneros que resultan beneficiosas para el ser humano, como por ejemplo, contrastando con el patógeno tradicional del género *Corynebacterium*, *C. diphtheriae*, *C. glutamicum* es un productor de aminoácidos de suma importancia para la industria alimentaria.

De manera similar, existen muchas otras especies que contrastan dentro de un mismo género que contiene patógenos mientras que otras son potencialmente beneficiosas para la industria y el medio ambiente. Es importante destacar la palabra “potencialmente” del enunciado anterior pues hace referencia a la enorme cantidad de especies que pudiesen ser beneficiosas para el ser humano y que sin embargo, son sólo unas cuantas las que han sido explotadas o estudiadas de manera incipiente.

En este sentido, definitivamente una de las principales herramientas para lograr lo anterior será el secuenciamiento del genoma de las especies de interés, pues es evidente que los géneros *Corynebacterium* y *Mycobacterium* que contienen el mayor número de especies secuenciadas dentro del suborden *Corynebacterineae* siguen siendo los géneros más conocidos y explotados. Es necesario entonces un mayor interés en géneros tales como *Dietzia*, *Gordonia* y *Rhodococcus* que clínicamente cada día tienen una mayor y fuerte presencia en nosocomios, pero de igual manera su presencia es cada vez mayor en el sector industrial. Especies del género *Rhodococcus* ya son empleadas de manera comercial en la industria por lo que no deberían de descartarse aplicaciones no sólo en la industria sino también dentro del medio ambiente.

Es claro también que se requieren más estudios con respecto al género *Skermania*. Su única especie, *Skermania piniformis*, es uno de los principales responsables de la formación de espumas en lodos activados de las plantas de tratamiento de aguas residuales, reduciendo de manera importante el rendimiento de estos reactores biológicos tan importantes en todo el mundo en la actualidad.

Con respecto a los géneros recientemente propuestos como *Segniliparus*, *Millisia* y *Smaragdicoccus* si bien la información acerca de su patogenicidad y relevancia industrial y ambiental es prácticamente nula, no debe dejarse a un lado la investigación sobre las especies de dichos géneros, por ejemplo, en el caso de las dos especies del género *Segniliparus* tan relacionadas con *Rhodococcus equi*.

De acuerdo a los hábitats de donde han sido aisladas las únicas especies de los géneros *Millisia* y *Smaragdicoccus* (lodos activados de una planta de tratamiento de aguas residuales y de un yacimiento petrolero respectivamente) debe hacerse una mayor investigación para hallar posibles beneficios o perjuicios y estudiar las interacciones de estos microorganismos con su medio ambiente, así como posibles aplicaciones de especies de estos géneros.

Por lo anterior, es de suma importancia no descuidar la parte clínica y continuar la investigación para un mejor entendimiento de los factores de virulencia en las especies oportunistas responsables de nuevas infecciones, pero también se debe profundizar más en las especies con potencial beneficioso para de esta manera poderlas explotar adecuadamente, beneficiando así a diversos sectores y resolviendo varios problemas ambientales a los que nos seguimos enfrentando día con día.

Finalmente, con este trabajo se espera captar la atención de estudiantes e investigadores con intereses en microbiología resaltando la investigación que hace falta, así como la gran cantidad de proyectos acerca de las actinobacterias del suborden *Corynebacterineae*. La información reunida a lo largo de este trabajo de investigación monográfica puede además resumirse en el esquema de la figura final de la siguiente página (Fig. 34) que incluye el origen de muchos de los géneros estudiados en el presente trabajo de investigación. El esquema además resalta la estrecha relación de las especies que forman el suborden pues puede observarse que muchas de éstas han tenido que ser transferidas de un género a otro a lo largo de su historia, pero esto a su vez ha permitido facilitar el estudio sistemático de cada género aunque como se ha resaltado, queda claro que aún falta mucho por investigar.

La Tabla 6 resume las características que permitirían diferenciar entre los géneros que actualmente están incluidos en el suborden del presente trabajo de investigación.

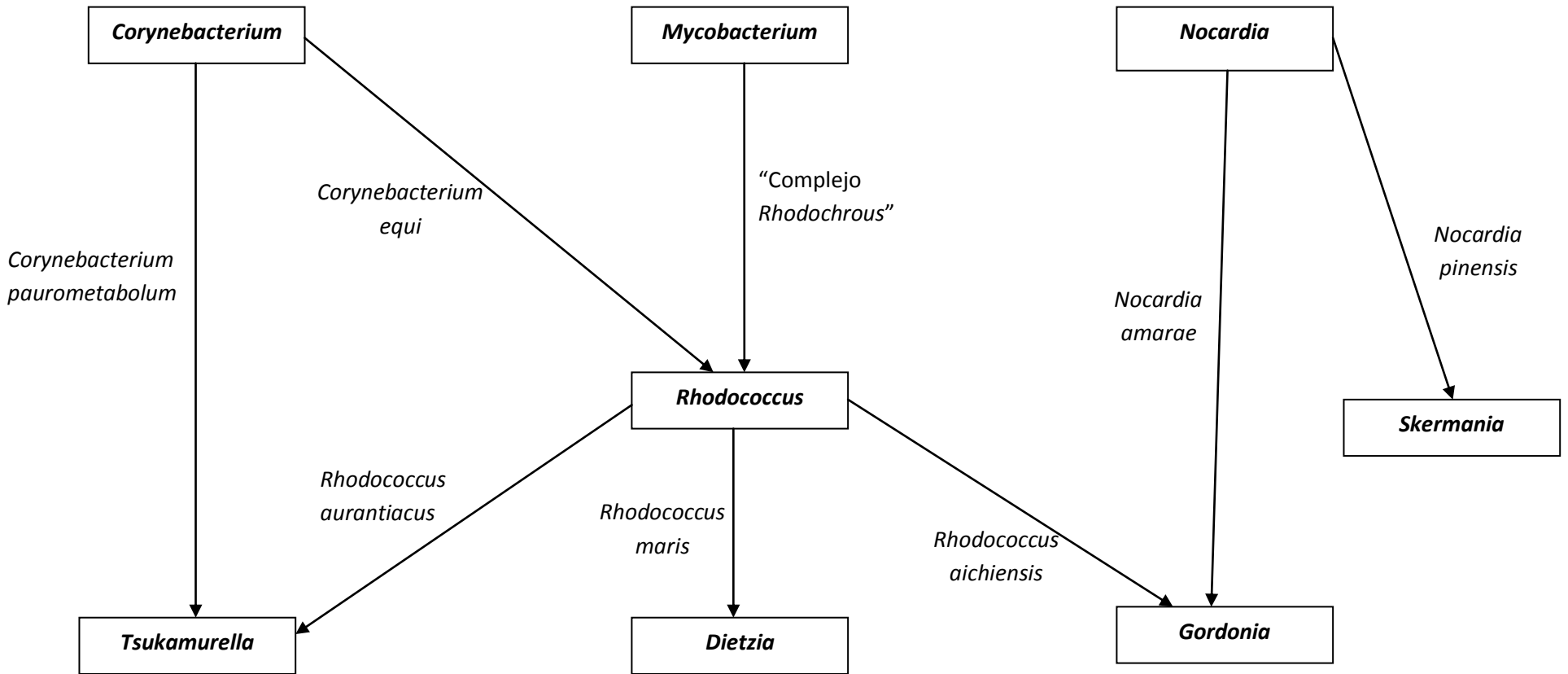


Fig. 34. Relación de especies que fueron transferidas a otros géneros conformando la situación actual de clasificación dentro del suborden *Corynebacterineae*. No se incluyen aquellos géneros cuyas especies fueron descubiertas y justificaron la formación de un nuevo género: *Millisia*, *Segniliparus* y *Smaragdicoccus*).

Tabla 6. Principales criterios de clasificación quimiotaxonómicos por características químicas de la pared celular

Género	Longitud de los ácidos-micólicos	Principales azúcares de la pared celular	Ácidos grasos principales	Menaquinonas	Lípidos Polares
<i>Corynebacterium</i>	22-36 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Saturados e insaturados de cadena recta con volúmenes significativos de ácido palmítico, oléico y esteárico. Ácido tuberculoesteárico presente	Dihidrogenada con 8-9 unidades de isopreno sin unidades cicladas	Sulfolípidos específicos, fosfatidilinositol manosidas.
<i>Mycobacterium</i>	60-90 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Saturados e insaturados de cadena recta con volúmenes significativos de ácido palmítico y oléico. Ácido tuberculoesteárico presente	Dihidrogenada con 8 unidades de isopreno sin unidades cicladas	Sulfolípidos específicos, fosfatidilinositol manosidas.
<i>Nocardia</i>	40-64 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Ácido tuberculoesteárico	Hexahidrogenada con 8 unidades de isopreno con las últimas 2 unidades cicladas	Difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, Fosfatidilinositol y monodiacil y diacil fosfatidilinositol dimanosidas
<i>Rhodococcus</i>	30-54 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Ácido tuberculoesteárico	Dihidrogenada con 8-9 unidades de isopreno sin	Difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina,

Tabla. . Continuación

Tabla 6. Continuación

				unidades cicladas	Fosfatidilinositol y monodiacil y diacil fosfatidilinositol dimanosidas
<i>Gordonia</i>	44-66 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Acido tuberculoesteárico	Dihidrogenada con 9 unidades de isopreno sin unidades cicladas	Difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y fosfatidilinositol manosidas
<i>Tsukamurella</i>	62-78 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Saturados e insaturados de cadena recta y ácido tuberculoesteárico presente	No hidrogenadas con 9 unidades de isopreno sin unidades cicladas	Difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, Fosfatidilinositol y monodiacil y diacil fosfatidilinositol dimanosidas
<i>Dietzia</i>	34-38 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Saturados e insaturados de cadena recta y ácido tuberculoesteárico presente	Dihidrogenada con 8 unidades de isopreno sin unidades cicladas	Difosfatidilglicerol (fosfatidiletanolamina y fosfatidilinositol manosidas ausentes)
<i>Skermania</i>	58-64 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Saturados e insaturados de cadena recta y ácido tuberculoesteárico	Hexahidrogenadas con 8 unidades de isopreno con las últimas 2 cicladas	Difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y fosfatidilinositol manosida
<i>Williamsia</i>	50-56 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Acido palmítico y ácido tuberculoesteárico	9-dihidromenaquinona con una única unidad de isopreno	Fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilglicerol y

Tabla 6. Continuación

					difosfatidilglicerol
<i>Segniliparus</i>	24 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Saturados e insaturados con cadenas rectas de 10, 14 y 16 átomos de carbono	Información no disponible	Información no disponible
<i>Millisia</i>	44-52 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Saturados e insaturados de cadena recta y ácido tuberculoesteárico en menor proporción	Dihidrogenada con 8 unidades de isopreno sin unidades cicladas	Difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilglicerol y fosfatidilinositol manosidas
<i>Smaragdicoccus</i>	43-49 átomos de carbono	Arabinosa y galactosa	Saturados e insaturados de cadena recta	2 menaquinonas distintas	Difosfatidilglicerol, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol, fosfatidilinositol manosida

6.- Bibliografía

1. Abbad-Andaloussi S., Warzywoda M., & Monot F. 2003. Microbial desulfurization of diesel oils by selected bacterial strains. *Oil Gas Sci. Technol.* 58:505–513
2. Adachi K., Katsuta A., Matsuda S., Peng X., Misawa N., Shizuri Y., Kroppenstedt R.M., Yokota A. & Kasai H. 2007. *Smaragdicoccus niigatensis* gen. nov., sp. nov., a novel member of the suborder *Corynebacterineae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57:297-301.
3. Almeida D.R., Miller D. & Alfonso E.C. 2010. *Tsukamurella*: an emerging opportunistic ocular pathogen. *Can. J. Ophthalmol.* 45:290-3.
4. Arenskötter M., Bröker D., Steinbüchel A. 2004. Biology of the metabolically diverse genus *Gordonia*. *Appl Environ Microbiol.* 70:3195-204.
5. Armstrong G. A. 1994. Eubacteria show their true colors: genetics of carotenoid pigment biosynthesis from microbes to plants. *J. Bacteriol.* 176:4795–4802.
6. Barragán L. 2009. Efecto de diversas fuentes de carbono y nitrógeno en la producción de pigmentos carotenoides en microorganismos aislados del Golfo de México. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, UNAM
7. Barry III Clifton E., Lee R.E., Mdluli K., Sampson A.E., Schroeder B.G., Slayden R.A. & Yuan Y. 1998. Mycolic acids: structure, biosynthesis, and physiological functions. *Prog. Lipid Res.* 37: 143-79.
8. Beaman B.L. & Sugar A.M. 1983. Interaction of *Nocardia* in naturally acquired infections in animals. *J. Hyg.* 91:393–419.
9. Beaman B.L. 1975. Structural and biochemical alterations of *Nocardia asteroides* cell walls during its growth cycle. *J. Bacteriol.* 123:1235-53.
10. Bell K.S., Philp J.C., Aw D.W. & Christofi N. 1998. The genus *Rhodococcus*. *J. Appl. Microbiol.* 85:195-210.

11. Bemer-Melchior P., Haloun A. Riegel P. & Drugeon H. 1999. Bacteremia due to *Dietzia maris* in an immunocompromised patient. Clin. Infect. Dis. 29:1338- 1340.
12. Berdy J. 2005. Bioactive microbial metabolites. J. Antibiot. (Tokyo) 58:1–26.
13. Bousfield I. J. 1978. The taxonomy of coryneform bacteria from the marine environment. In: I. J. Bousfield and A. G. Calley (Eds.) Coryneform Bacteria. Academic Press. London, UK. 217–233.
14. Brandão P.F.B. & Bull Alan T. 2003. Nitrile hydrolysing activities of deep-sea and terrestrial mycolate actinomycetes. Antonie van Leeuwenhoek 84:89–98
15. Butler W.R., Floyd M.M., Brown J.M., Toney S.R., Daneshvar M.I., Cooksey R.C., Carr J., Steigerwalt A.G. & Charles N. 2005. Novel mycolic acid-containing bacteria in the family *Segniliparaceae* fam. nov., including the genus *Segniliparus* gen. nov., with descriptions of *Segniliparus rotundus* sp. nov. and *Segniliparus rugosus* sp. nov. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 1615-24.
16. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2009. Global routine vaccination coverage. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2010 Oct 29; 59:1367 71.
17. Chiba K., Hoshino Y., Ishino K., Kogure T., Mikami Y., Uehara Y. & Ishikawa J. 2007. Construction of a Pair of Practical *Nocardia-Escherichia coli* Shuttle Vectors. Jpn. J. Infect. Dis. 60: 45–7.
18. Chun J., Blackall L.L., Kang S.O., Hah Y.C. & Goodfellow M. 1997. A proposal to reclassify *Nocardia pinensis* as *Skermania piniformis* gen. nov., comb. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 47:127-31.
19. Cole S.T., Eisenach K.D., McMurray D.N. & Jacobs W.R. (Eds). Tuberculosis and the tubercle bacilli. ASM, 2004.
20. Collier R.J. 2001. Understanding the mode action of diphtheria toxin: a perspective on progress during the 20th century. Toxicon 39:1793-1803.
21. Collins C.H., Grange J.M. & Yates M.D. 1984. Mycobacteria in water. J. Appl. Bacteriol. 57:193–211.

22. Collins M.D., Hoyles L., Foster G. & Falsen E. 2004. *Corynebacterium caspium* sp. nov., from a Caspian seal (*Phoca caspica*). Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 54:925-928.
23. Collins M.D., Smida J., Dorsch M. & Stackebrandt E. 1988. *Tsukamurella* gen. nov. harboring *Corynebacterium paurometabolum* and *Rhodococcus auvantiacus*. Int. J. Syst. Bacteriol. 38: 385-391
24. David H.L. 1984. Carotenoid pigments of the mycobacteria. In: G. P. Kubica and L. G. Wayne (Eds.) The Mycobacteria: A Source Book, Part A. Marcel Dekker. New York, NY. 537–545.
25. De los Reyes M.F., de los Reyes III F.L., Hernandez M. & Raskin L. 1998. Quantification of *Gordonia amarae* strains in foaming activated sludge and anaerobic digester systems with oligonucleotide hybridization probes. Appl. Environ. Microbiol. 64:2503–2512.
26. De Miguel T., Sieiro C., Poza M. & Villa T.G. 2001. Analysis of canthaxanthin and related pigments from *Gordonia jacobaea* mutants. J. Agric. Food. Chem. 49:1200–1202.
27. De Miguel, T., Sieiro C., Poza M. & Villa T.G. 2000. Isolation and taxonomic study of a new canthaxanthin-containing bacterium, *Gordonia jacobaea* MV-1 sp. nov. Int. Microbiol. 3:107–111.
28. Demain A.L. 2000. Small bugs, big business: the economic power of the microbe. Biotechnol Adv. 18(6):499-514.
29. Demaree J.B. & Smith N.R. 1952. *Nocardia vaccinii* n. sp. causing galls on blueberry plants. Phytopathology 42:249–252.
30. Duckworth A.W., Grant S., Grant W.D., Jones B.E. & Meyer D. 1998. *Dietzia natronolimnaios* sp. nov., a new species of the genus *Dietzia* isolated from an East African soda lake. Extremophiles 2:359–366.
31. Eales KL, Nielsen JL, Seviour EM, Nielsen PH & Seviour RJ. 2006. The *in situ* physiology of *Skermania piniformis* in foams in Australian activated sludge plants. Environ. Microbiol. 8:1712-20.

32. Goodfellow M & Maldonado L. 2006. The families *Dietziaceae*, *Gordoniaceae*, *Nocardiaceae* and *Tsukamurellaceae*. *The Prokaryotes* Vol. 3:843-888.
33. Goodfellow M., Davenport R., Stainsby F.M. & Curtis, T.P. 1997. Actinomycete diversity associated with foaming in activated sludge plants. *Journal of Industrial Microbiology* 17, 268– 280.
34. Goodfellow M., Thomas E.G., Ward A.C. & James A.L. 1990. Classification and identification of rhodococci. *Zbl. Bakteriol.* 298:299–315.
35. Hartmans S., de Bont Jan A.M. & Stackebrandt E.. 2006. The Genus *Mycobacterium*---Nonmedical. *The Prokaryotes* Vol. 3:889–918.
36. Heald S.C., Brandão P.F, Hardicre R. & Bull A.T. 2001. Physiology, biochemistry and taxonomy of deep-sea nitrile metabolising *Rhodococcus* strains. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 80:169-83.
37. Hett E.C. & Rubin E.J. 2008. Bacterial growth and cell division: a mycobacterial perspective. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 72:126-56.
38. Hunter R.L., Olsen M.R., Jagannath C. & Actor J.K. 2006. Multiple roles of cord factor in the pathogenesis of primary, secondary, and cavitary tuberculosis, including a revised description of the pathology of secondary disease. *Ann. Clin. Lab. Sci.* 36:371-86.
39. Ishikawa J., Yamashita A., Mikami Y., Hoshino Y., Kurita H., Hotta K., Shiba T. & Hattori M. 2004. The complete genomic sequence of *Nocardia farcinica* IFM 10152. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 101:14925-30.
40. Jones A.L., Brown J.M., Mishra V., Perry J.D., Steigerwalt A.G. & Goodfellow M. 2004. *Rhodococcus gordoniae* sp. nov., an actinomycete isolated from clinical material and phenol-contaminated soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 54:407–411.
41. Kalinowski J., Bathe B., Bartels D., Bischoff N., Bott M., Burkovski A., Dusch N., Eggeling L., Eikmanns B.J., Gaigalat L., Goesmann A., Hartmann M., Huthmacher K., Krämer R., Linke B., McHardy A.C., Meyer F., Möckel B., Pfefferle W., Pühler A., Rey D.A., Rückert C., Rupp O., Sahm H., Wendisch

- V.F., Wiegräbe I. & Tauch A. 2003. The complete *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032 genome sequence and its impact on the production of L-aspartate-derived amino acids and vitamins. *J. Biotechnol.* 4; 104(1-3):5-25.
- 42.Kämpfer P., Andersson M.A., Rainey F.A., Kroppenstedt R.M. & Salkinoja-Salonen M. 1999. *Williamsia muralis* gen. nov., sp. nov., isolated from the indoor environment of a children's day care centre. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49:681–687.
- 43.Kaufmann S.H. 2001. How can immunology contribute to the control of tuberculosis? *Nat. Rev. Immunol.* 1(1):20-30.
- 44.Kazda J.F. 1983. The principles of the ecology of mycobacteria. *In*: C. Ratledge and J. Stanford (Eds.) *The Biology of the Mycobacteria, Volume 2: Immunological and Environmental Aspects.* Academic Press. London UK, 323–41
- 45.Khan N., Shastri J., Aigal U. & Doctor B. 2007. Resurgence of diphtheria in the vaccination era. *Indian J Med Microbiol.* 25:434
- 46.Khodaiyan F., Razavi S.H., Emam-Djomeh Z., Mousavi S.M. & Hejazi M.A. 2007. Effect of culture conditions on canthaxanthin production by *Dietzia natronolimnaea* HS-1. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17:195–201.
- 47.Kim K.K., Lee S.L., Kroppenstedt R.M., Stackebrandt E. & Lee, S.T. 2003. *Gordonia sihwensis* sp. nov., a novel nitrate-reducing bacterium isolated from a wastewater treatment bioreactor. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53:1427–1433.
- 48.Kim S.B., Brown R., Oldfield C., Gilbert S.C., Ilarionov S. & Goodfellow M. 2000. *Gordonia amicalis* sp. nov., a novel dibenzothiophene-desulphurizing actinomycete. *J. Clin. Microbiol.* 50:2031–2036.
- 49.Koerner R.J., Goodfellow M. & Jones A.L. 2009. The genus *Dietzia*: a new home for some known and emerging opportunist pathogens. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 55:296-305.

50. Liang Y., Gardner D.R., Miller C.D., Chen D., Anderson A.J., Weimer B.C. & Sims R.C. 2006. Study of biochemical pathways and enzymes involved in pyrene degradation by *Mycobacterium* sp. strain KMS. *Appl Environ Microbiol.* 72(12):7821-8.
51. Liebl W. 2006. *Corynebacterium*---Nonmedical. *The Prokaryotes* Vol. 3:796–818.
52. MacGregor R.R. 2000. *Corynebacterium diphtheriae*. In: G. L. Mandell, J. E. Bennett, and R. Dolin. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Churchill Livingstone. Philadelphia, PA. 2190–2197.
53. Madigan M., Martinko J. & Parker J. 2010. *Brock Biología de los Microorganismos*. 10ª edición.
54. Mulbry W.W. 1994. Purification and characterization of an inducible striazine hydrolase from *Rhodococcus corallinus* NRRL B-15444R. *Appl. Environ. Microbiol.* 60:613–618.
55. National Center for Biotechnology Information (NCBI); www.ncbi.nlm.nih.gov
56. Nelson R. 2010. Drug-resistant tuberculosis. *Am J Nurs.* 110:55-7.
57. Organización Mundial de la Salud (OMS); www.who.int/es/
58. Puech V., Chami M., Lemassu A., Lanéele M.A., Schiffler B., Gounon P., Bayan N., Benz R. & Daffé M. 2001. Structure of the cell envelope of corynebacteria: importance of the non-covalently bound lipids in the formation of the cell wall permeability barrier and fracture plane. *Microbiology.* 147:1365-1382.
59. Rainey F.A., Klatte S., Kroppenstedt R.M. & Stackebrandt E. 1995. *Dietzia*, a new genus including *Dietzia maris* comb. nov., formerly *Rhodococcus maris*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 45:32-36.
60. Rashidi H., Akhtar M.T., van der Kooy F., Verpoorte R. & Duetz, W.A. 2009. Hydroxylation and further oxidation of delta9-tetrahydrocannabinol by alkane-degrading bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 75:7135–7141.
61. Rastogi N. & David H.L. 1988. Mechanisms of pathogenicity in mycobacteria. *Biochimie* 70:1101 – 1120.

62. Saier M.H. Jr. 2008. Structure and evolution of prokaryotic cell envelopes. *Microbe* 7 :328.
63. Salinas-Carmona M.C., Castro M. & Licón A. 2002. Mecanismos de patogenicidad de *Nocardia brasiliensis* y *Nocardia asteroides*. *Medicina Universitaria*. 4:97-101
64. Saviola B. & Bishai W. 2006. The Genus *Mycobacterium*---Medical. *The Prokaryotes*, (3):919–933
65. Seyyed S.E., Malihe T., Saeed N. & Abbas M. 2009. *Nocardia*. *Journal of Chinese Clinical Medicine*. 4:48-66.
66. Shinnick T.M. 2006. *Mycobacterium leprae*. *The Prokaryotes* Vol. 3:934–944
67. Soddell J.A. & Seviour R.J. 1998. Numerical taxonomy of *Skermania piniformis* and related isolates from activated sludge. *J. Appl. Microbiol.* 84:272–284.
68. Soddell J.A., Stainsby F.M., Eales K.L., Kroppenstedt R.M., Seviour R.J., Goodfellow M. 2006. *Millisia brevis* gen. nov., sp. nov., an actinomycete isolated from activated sludge foam. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 4:739-44.
69. Spargo B.J., Crowe L.M., Ioneda T., Beaman B.L. & Crowe J.H. 1991. Cord factor (α,α-trehalose 6,6'-dimycolate) inhibits fusion between phospholipid vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:737-740.
70. Stach J.E. & Bull A.T. 2005. Estimating and comparing the diversity of marine actinobacteria. *Antonie Leeuwenhoek* 87:3–9.
71. Stach J.E., Maldonado L.A., Ward A.C., Bull A.T. & Goodfellow M. 2004. *Williamsia maris* sp. nov., a novel actinomycete isolated from the sea of Japan. *Int J. Syst. Evol. Microb.* 54:191-194.
72. Stackebrandt, E., J. Smida, & M. D. Collins. 1988. Evidence of phylogenetic heterogeneity within the genus *Rhodococcus*: revival of the genus *Gordona* (Tsukamura). *J. Gen. Appl. Microbiol.* 34:341–348.
73. Stark D.A. & Anderson N.G. 1990. A case control study of *Nocardia mastitis* in Ontario dairy herds. *Can. Vet. J.* 31:197–201.

74. Szvetnik A., Bihari Z., Szabó Z., Kelemen O. & Kiss I. 2010. Genetic manipulation tools for *Dietzia* spp. *J. Appl. Microbiol* 31:281-305.
75. Takeuchi M. & Hatano, K. 1998. *Gordonia rhizosphaera* sp.nov., isolated from the mangrove rhizosphere. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 48:907–912.
76. Takeuchi M., Hatano K., Sedláček I. & Pácova Z. 2002. *Rhodococcus jostii* sp. nov., isolated from a medieval grave. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52:409–413.
77. Tao L., Yao, H. & Cheng Q. 2007. Genes from a *Dietzia* sp. for synthesis of C40 and C50 beta-cyclic carotenoids. *Gene* 386:90–97.
78. Tsukamura M. 1984. The “non-pathogenic” mycobacteria: Their distribution and ecology in non-living reservoirs. *In: G. P. Kubica and L. G. Wayne (Eds.) The Mycobacteria: A Source Book, Part B.* Marcel Dekker. New York, NY. 1339–1359.
79. Ventura M., Canchaya C., Tauch A., Chandra G., Fitzgerald G.F., Chater K.F. & van Sinderen D. 2007. Genomics of *Actinobacteria*: tracing the evolutionary history of an ancient phylum. *Microbiol Mol Biol Rev.* 71:495-548.
80. Von Graevenitz A. & Bernard K. 2006. The Genus *Corynebacterium*---
Medical (3):819–842.
81. Wayne L.G. & Kubica G.P. 1986. Genus *Mycobacterium* Lehmann and Neumann 1896, 363. *In: P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (Eds.) Bergey’s Manual of Systematic Bacteriology.* Williams & Wilkins. Baltimore, MD. 2:1436–1457.
82. Welsh K.J., Abbott A.N., Hwang S.A., Indrigo J., Armitige L.Y., Blackburn M.R., Hunter R.L. Jr & Actor J.K. 2008. A role for tumour necrosis factor-alpha, complement C5 and interleukin-6 in the initiation and development of the mycobacterial cord factor trehalose 6,6'-dimycolate induced granulomatous response. *Microbiology.* 154:1813-24.

83. Wendisch V.F., Bott M., Kalinowski J., Oldiges M. & Wiechert W. 2006. Emerging *Corynebacterium glutamicum* systems biology. *Journal of Biotechnology* 124:74–92.
84. Yassin A.F. & Hupfer H. 2006. *Williamsia deligens* sp. nov., isolated from human blood. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 1:193-7.
85. Yoon J.H., Lee J.J., Kang S.S., Takeuchi M., Shin Y.K., Lee S.T., Kang K.H. & Park Y.-H. 2000. *Gordonia nitida* sp. nov., a bacterium that degrades 3-ethylpyridine and 3-methylpyridine. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 50:1203–1210.
86. Yumoto I., Nakamura A., Iwata H., Kojima K., Kusumoto K., Nodosaka Y. & Matsuyama H. 2002. *Dietzia psychralcaliphila* sp. nov., a novel facultatively psychrophilic alkaliphile that grows on hydrocarbons. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52:85–90.