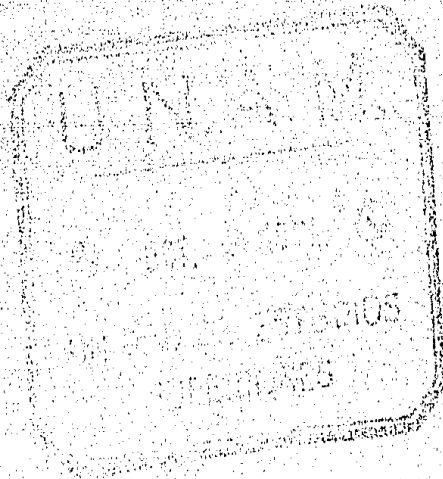


Formas L de las Bacterias



Dra. Julia Barría Tuñón

Residente de II año

Laboratorio Clínico



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis 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.

Formas I de las Bacterias

- 1.- Introducción
- 2.- Definición y Terminología
- 3.- Desarrollo
- 4.- Morfología
- 5.- Fisiología
- 6.- Modo de Reproducción
- 7.- Medios de Cultivo
- 8.- Bibliografía

Klieneberger fue el primero en describir esta variante de crecimiento al contribuir con un capítulo en el Tema La Bacteria (Klieneberger-Nobel 1960). En su monografía titulada Organismos Pleuroneumonoides (PPLO): Micoplasmataceae (Klieneberger Nobel 1962) dieron una opinión más personal en relación a este tema y agregaron a los libros valores a discutir de la literatura antigua relatando el problema de la biología de las formas L de la Bacteria. La literatura más reciente a este tema ha sido revisado en detalle por Dienes y Weinberg (1951) y por Smith (1964) quienes enfatizaron los aspectos bioquímicos.

El más significativo punto en el comprendimiento de las formas L es la observación hecha por Dienes (1938) que las formas pleomórficas, primero descritas por Klieneberger (1935) en un cultivo de *Streptobacillus Moniliformis* se derivaron desde esa bacteria y no es considerado como un micoplasma simbiótico. Otro pilar fue la introducción por Pierce (1942) de la penicilina como un agente de inducción de las variantes de formas L. Sharp en 1954 observó que la hipertonia media puede ser indispensable para la inducción del crecimiento de las formas L del grupo A del *Streptococo B Hemolítico*. La aplicación de este conocimiento dió valor a una gran cantidad de formas L de *Streptococo* de grupo A cuyos aspectos anatómicos, químicos e inmunológicos fueron el tema de muchos estudios e hicieron posible de finir el crecimiento de las formas L no solo visto desde el punto de vista morfológico sino también en términos químicos e inmunológicos.

Recientes avances incluyen la aplicación de técnicas para la determinación de homología genéticas. Los resultados de estos estudios han previsto de evidencias convincentes que los mycoplasmas y las variantes de formas L de bacteria no están directamente relacionadas.

DEFINICION Y TERMINOLOGIA.-

Las variantes de las formas L puede ser definido como una variante de bacteria de crecimiento independiente la cual carece de una pared celular rígida y tiene un potencial de reversibilidad a la fuerza original.

La mayor implicación biológica de su existencia es que la sobrevivida y multiplicación de la bacteria es posible sin una pared rígida. La ausencia de su componente estructural puede ser más explicado, sino todo, de sus propiedades tales como su pleomorfismo, su morfología colonial, la filterabilidad y fragilidad.

La definición de las variantes de formas L excluye los mycoplasmas, porque ellos¹⁰ han sido demostrado que derivan de bacterias y también excluye a los spheroplasmas, protoplasmas y gymnoplasmas, porque la multiplicación no es específica para su definición.

El concepto de variantes de formas L incluye la ausencia de la parte de la pared celular que da rigidez a la bacteria en su forma convencional L. La pared celular no necesita estar ausente en su totalidad, fragmentos pueden estar presentes debido a la incapacidad de las formas L de polimerizar la macromolécula completa. Precursores e intermediarios pueden estar presentes.

La Pared Celular Bacteriana.- La anatomía de la pared celular sigue un esquema general con una mayor división entre bacterias gram positivas y gram negativas y que menores diferencias se consideran para las características de las especies individuales.

Hay tres capas que pueden ser distinguibles en las formas bacterianas son la membrana citoplásmica, una capa rígida, y una capa plástica externa.

Al microscopio electrónico las tres capas de la membrana pueden ser distinguibles, el total de su espesor es acerca de 50 A y su membrana citoplásmica puede ser observada -- como una membrana única.

Las dos capas siguientes que forman la pared celular -- con la capa central son responsables de la rigidez. En las bacterias gram positivas, la capa rígida está compuesta de -- varias hojas unidas por pequeñas cadenas de polipéptidos. -- En los organismos gram negativos la hoja rígida es delgada posiblemente porque es una estructura de dos dimensiones. Esta estructura está cubierta por una capa plástica compuesta principalmente de lipopolisacáridos y lipoproteínas.

DESARROLLO DE LAS FORMAS L DE LAS BACTERIAS.-

El Pleomorfismo y crecimiento de grandes cuerpos ocurre espontáneamente en muchas especies de bacterias precedidas de autólisis de los cultivos. Tal alteración de los cultivos puede ser inducida por variables influencias tales como exposición a ciertos aminoácidos, algunos antibióticos, sales o varios metales (litio, cadmio), anticuerpos y el frío. Esto ocurre en medios líquidos así como en sólidos.

El modo de desarrollo de la bacteria ha sido estudiado en varias especies: en *S. Moniliformis*, *Escherichia Coli*, y *Bacterioides* sin agentes inductores; en *Proteus*, *Salmonella* y *Bacterioides* ~~sin~~ bajo la influencia de penicilina y glicina y en los *Enterococcus* y *Bacilos subtilis* posterior a la exposición de lisozima o de otras enzimas. En el crecimiento de gránulos irregulares formando el tipo de colonias B de los grandes cuerpos; su pared celular es continua con el de los grandes cuerpos y los ribosomas y material nuclear son transferidos dentro de él.

Un desarrollo similar al de las formas L de grandes cuerpos han sido observados en todas las especies observadas. En adición otro tipo de desarrollo ocurre en *Proteus* y *Salmonella* después de la exposición a penicilina: una pequeña gota sobresale frente a marcado crecimiento de los bacilos crecidos en las colonias L.

El desarrollo de las colonias de tipo B de bacteria fue observado con *proteus* y *salmonella* en un medio duro de gelatina conteniendo penicilina.

La bacteria crece en muchos grandes cuerpos y algunos de esos produce extensiones en varias direcciones en la superficie. En pocos casos esos organismos irregulares se segmentan en fracciones y continúan multiplicándose. Pequeños gránulos - no son producidos y el medio no es invadido.

En el medio líquido muchas bacterias expuestas a la penicilina (carecen) crecen en los grandes cuerpos, pero la multiplicación de esta o producción de gránulos viables no ocurre.

MORFOLOGIA.-

La morfología microscópica de las formas L de las bacterias está caracterizado por un alto grado de pleomorfismo. Elieneberger-Nobel describieron la forma L como amorfa, por no tener una morfología definida, que Dienes puntualizó que la diferencia entre la fase L y la bacteriana se apoya en el factor que en la fase posterior no define el tamaño o forma que puede ser adscrita a los organismos. Más tarde se ha observado que la morfología de las formas L depende de un número de condiciones ambientales.

Las propiedades físicas del medio, la edad del cultivo el número de transferencia, hechos con un cultivo particular y no menos de todos, las técnicas usadas para la examinación y observación han sido encontradas a determinar la apariencia del crecimiento de las formas L.

Un análisis de la descripción microscópica del crecimiento de las formas L muestra que la apariencia característica es causada por la existencia concurrente de elementos diferentes marcados en forma y aspectos microscópicos. Cada uno de ellos también muestra una variación en anchura y tamaño.

Tres elementos básicos han sido distinguibles en la morfología de las formas L:

El gran cuerpo, el gránulo y el elemento corpuscular. Cada uno de los elementos muestra variaciones en tamaño, juntamente formando un rango continuo de diámetro de pequeños a grandes elementos. Las más grandes formas redondas crecidas, designadas como grandes cuerpos tienen un rango de tamaño de 1 micra a más grandes como 50 micras. Ellos contienen en su

Ellos contienen un citoplasma homogéneo o están vacuolizados parcial o totalmente. En el último caso la estructura residual es designada un gran cuerpo vacío o una burbuja vacía. Las vacuolas y el citoplasma contienen gránulos de diferente tamaño y cantidades variables. Los grandes cuerpos son fácilmente deformables y pueden dar lugar a muchas formas irregulares. El desarrollo de los grandes cuerpos ha sido observado, especialmente en la superficie de agar duro o placa de gelatina y en la superficie de membranas filtrables. Cuando crece en un medio de agar adecuado, el segundo elemento en la morfología de las formas I, el gránulo es observado. Este elemento redondo o elongado varía en diámetro entre 0.1 y 1.0 micras y ocurre individualmente o enmasas, dentro o fuera de los grandes cuerpos. El desarrollo de los gránulos ocurre en el interior del agar. En éste los gránulos semejan elementos más pequeños, el elemento corpuscular. El diámetro de estos elementos tiene un rango de 0.05 a -- 0.5 micras.

El microscopio electrónico revela una estructura de las formas I que corresponden en general al visto en el microscopio de luz. La característica pleomórfica fue también encontrada a ser prominente en el microscopio plano.

Con respecto al tamaño de los elementos, los tres mismos tipos básicos fueron encontrados de estar presentes.

FISIOLOGIA.-

Muchas propiedades de la bacteria están relacionados y asociados a la membrana, y puede ser expectante que las variantes de formas L usualmente retienen las mismas características funcionales que sus originales con la excepción en de las propiedades relacionadas a la pared celular.

El primer reporte de este efecto fue hecho por Heilman en 1941, quien expresó que las reacciones de fermentación de la fase bacteriana y la fase L del *Streptobacillus moniliformis* son idénticas. Kandler en 1955 confirmó esta regla general para el *Proteus B* y el de la Forma L. Klieneberger en 1960 mencionó que las variantes de las formas L de un cultivo anaerobio es el mismo en un método de cultivo obligado y que las variantes L de los facultativos anaerobios crece bajo la pared pero en condiciones anaerobias y aerobias. La forma L de *F. necrophorus* produce gas, así como la célula original, aunque más despacio y menos abundante.

Mattman y col. (1961), Williams y Chalderjee en 1967 describieron la síntesis de coagulasa por las variantes L de estafilococos. De acuerdo a Maddoff la fase L de *V. Cholerae* continúa produciendo neuraminidase y Scheibel, Assandri, Gulisne y Lavillavreix aislaron variante de las formas L toxigénicas de *C. Tetani*.

Dasinger y Suter en 1962 encontraron actividad de endotoxinas de las variantes de formas L derivadas de *Salmonella Paratyphi B*, aunque esta toxicidad fue acerca de siete veces menor que el patrón original.

La actividad sintética de las variantes de formas L estreptococicas ha sido investigado por varios trabajadores . quienes demostraron la producción de Estreptolicina O, almidón, estreptoquinasa, desoxigribonucleasa, y Proteína M. La producción del último nombre o sea la proteína M asume un especial interés a la luz de la asociación de conocimientos con virulencia y la observación que esta proteína está relacionada en el medio y no es retenida por los elementos del tipo L. La más reciente contribución viene de Mortimer y Vastine quienes provee la síntesis del ácido hialurónico por un grupo de estreptococo A en las formas L. Hay gran necesidad por la extensión de esos estudios y también para la aplicación al acceso descrito por Halbert . Con los métodos de inmunodifusión demostró la presencia de más de 20 distintos sistemas de precipitados en estreptococicos en el suero humano.

De los antecedentes revisados en la literatura por Smith se puede concluir que las variantes de formas L no han mostrado ser diferentes con respecto a las sendas de caída de los carbohidratos.. Cuando diferencias han sido observadas, la alta concentración de sales en el medio puede ser el responsable. Otras diferencias pueden ser debidas a las propiedades físicas de los mismos microorganismos.

Reproducción.-

El modo de reproducción de las formas L de las bacterias ha sido una pregunta intrigante. Especialmente los procesos de división y multiplicación de los pequeños y grandes cuerpos en la fisiología reproductiva invitan a las preguntas alrededor del mucho interés y especulación que han revuelto en el microscopio y en el ultramicroscopio plano la morfología grotesca de los elementos que ocurre simultáneamente varía extensamente en aspecto y tamaño, ha sido considerada a indicar que la transmisión de la bacteria de la forma L se acompañó de un mayor cambio en el proceso de división. En la célula bacteriana normal la presencia de una pared celular intacta es considerada necesaria para el control de este proceso. Es por tanto que la ausencia de pared celular rígida está asociada con modificaciones en los mecanismos que operan normalmente en el proceso de multiplicación.

Con respecto a la naturaleza de este cambio, dos conceptos básicos son encontrados en la literatura. De acuerdo a uno de estos, el proceso de división es esencialmente el mismo en la fase L y en la fase bacteriana. La masa celular está separada y distribuida sobre las células hijas las que después de fusiones pasa a ser libremente una nueva entidad de vida.

El papel de la pared celular en estos procesos es hecho por factores físicos pertenecientes al medio ambiente. Sin embargo estos factores provienen de un mecanismo de regulación inadecuado cuyas deficiencias pueden resultar en una división desigual de la masa celular sobre las células hijas.

El otro concepto asume un cambio fundamental en el mecanismo de reproducción que se considera que es una característica de las formas L porque está ausente en la fase bacteriana, consiste en el desarrollo y multiplicación de pequeños --

cuerpos primordiales en el interior de grandes células, llamados grandes cuerpos. La desintegración de grandes cuerpos deja libre el desarrollo de los elementos granulares pequeños. En este cambio el desarrollo cíclico de los elementos de las formas L es visualizado en que pequeños elementos tienen un significado importante. El desarrollo de pequeños elementos granulares ejemplo: elementos con un diámetro de menos de 0.5 a 0.6 micras han sido observados en los cultivos de formas L en agar o en caldo. El crecimiento y multiplicación de estos elementos sin embargo ha sido reportado que ocurre solamente en medio sólido.

En general los resultados de los estudios microscópicos de las bacterias de formas L indican un diámetro de 0.6 a 0.7 micras o más grandes para los elementos reproductivos.

El microscopio electrónico ha mostrado en las formas L que los elementos pequeños con un diámetro de menos de 0.5 micras tienen una estructura similar al de los grandes elementos ejemplo consistente de material granular citoplásmico rodeado por una membrana.

La presencia de una región nuclear puede no ser demostración de un número considerable de estos elementos. Son los estudios bioquímicos hechos por Weibiel y Beckman en 1961. Estos autores usaron la centrifugación diferencial para preparar los elementos con un diámetro de menos de 0.3 micras desde los otros elementos de cultivo de formas L de *Proteus* y encontraron que estos pequeños elementos de las formas L no contienen una apreciable cantidad de D.N.A. Un bajo contenido en los elementos pequeños de las formas L de *Proteus* fue también encontrado por Seusenbrenner y col. en 1964.

Medios de Cultivo

La transición de un microorganismo de la fase bacteriana a la fase L se acompaña usualmente por cambios marcados en -- los requerimientos para su cultivación. Estos cambios afectan los requerimientos de la fase L para suero solidificación del medio a bajas concentraciones de agar y un alto contenido de sal, suerosa, o alguna otra sustancia provista de estabilización osmótica.

La incorporación del suero en el medio es encontrado a -- ser un requisito para el aislamiento y subsecuente transferencia de la forma L. El suero de caballo es considerado superior al suero obtenido de otras especies animales, pero el suero humano, plasma, ó líquido ascítico ha sido usado con -- buenos resultados.

Resultados optimos con las formas L de la mayoría de las especies bacterianas han sido obtenidas con concentraciones -- de suero de 10 a 20%. Un aumento en el contenido del suero -- del medio no dió un acrecentamiento en el efecto de crecimiento, y concentraciones de 50% ó más fueron inhibitorias.

En general las formas L derivadas de gram negativos han tenido un bajo requerimiento de suero. Las formas L de tipo B crecen sin sueros.

Otras sustancias han sido probadas como substitutos del suero. El suero puede ser reemplazado por sus fracciones.

El contenido total de proteínas parece ser el factor crítico. La albumina Bovina se ha encontrado que es un excelente substituto del suero total.

El medio solidificado con agar tambica ha sido usado para la inducción y propagación de las formas L de bacterias.

La elección de un medio solido se basa parcialmente o ne

esariamente, porque la transmisión de varias especies bacterianas a formas L solo puede ser obtenida en un medio sólido, y convenientemente porque la forma L puede ser fácilmente obtenida en un medio de agar por su morfología característica de las colonias.

Concentraciones de agar entre 0.7 a 1.2% han sido encontradas óptimas para el crecimiento de las formas L concentraciones de 2% ó más usualmente inhiben el desarrollo de las colonias de formas L.

Bibliografía

- 1.- Lucien B. Guze - Microbial Protoplast, Spherplast and L Forms. Pag. 74 - 85
- 2.- Factors affecting the response to nigram therapy (1) Acquired resistance, cross - resistance; regained sensitivity; L forms and relapse; super infection-. Technical - Documentacion Departament , Sterling - Winthrop Groups - October 1971.
- 3.- Lucien B. Guze - Microbial Protoplast, Spherplast and L forms Pag. 40 - 50
- 4.- L-Forms of Proteus induced by filtrates of antagonistic Strains.- Stanley Falkow.- Bacteriology and Biochemistry Univ. de Maine, Orono, Maine.- Nov. 19, 1956.
- 5.- The mycoplasmatales and the L - Phase of Bacteria Leonard Hayflick pag. 67 - 125
- 6.- The Mycoplasmatales and the L - Phase of bacteria Leonard Hayflick pag. 697 - 715
- 7.- Mutantes Bacterianas (Formas L) en las infecciones de las vías urinarias-. Dr. Gerard Romero Salinas.- El Médico - Feb. 1975
- 8.- Mycoplasma y Formas tipo L de las Bacterias Microbiología de Zinzer 1971 pag. 943 - 959
- 9.- The Possible Role of Microbial L-Form in Pyelonephritis J. Urol 104 : 790 - 798
- 10.- Shepard M.C. J. Bact 75 : 351, 1958
- 11.- Shepard Et al J.N.M.A. 188 : 729, 1964
- 12.- Leach R.H. y Butter, N J. Bact 91. 934, 1961