

MICROBIOLOGIA

CÓDIGO: 20/93-0201

CURSO 1999-2000

Carga docente: 6,5 créditos teóricos y 3,5 créditos prácticos
1r y 2º cuatrimestre

Departamento: Biotecnología (100%)

**Profesor/a-es/as: Francisco Juan Martínez Mojica
Josefa Antón Botella**

OBJETIVOS

Iniciar al estudiante en el conocimiento teórico y práctico de la Microbiología, y más fundamentalmente de la biología de bacterias. Otros microorganismos se tratan con mayor profundidad en asignaturas que se cursarán posteriormente durante la licenciatura.

En el programa teórico se abordan en primer lugar los aspectos metodológicos necesarios para la realización de las prácticas, para continuar con aquellos temas relacionados con los aspectos estructurales y de composición, genéticos, de crecimiento así como consideraciones generales de fisiología y metabolismo bacteriano, antes de pasar al apartado de sistemática particular de cada grupo donde se consideran con mayor profundidad estos últimos aspectos así como aquellos relacionados con la ecología e importancia de cada uno por separado.

El programa práctico tiene como objetivo fundamental el familiarizar al alumno con la metodología básica específica del trabajo con microorganismos, y en particular con las técnicas de aislamiento, cultivo, identificación y cuantificación de poblaciones microbianas.

PROGRAMA DE TEORÍA

I. INTRODUCCION A LA MICROBIOLOGIA

TEMA 1. MICROBIOLOGIA: CONCEPTO Y DESARROLLO HISTORICO

Concepto de Microbiología. Figura y aportaciones de Van Leeuwenhoek. Controversia de la generación espontánea. Figura y aportaciones de Pasteur. Desarrollo de los métodos de cultivo puro. Desarrollo de la Microbiología como ciencia experimental. La Microbiología en el Siglo XX. Contribución de la Microbiología a las Ciencias Biológicas.

TEMA 2. LOS MICROORGANISMOS

Diversidad de los microorganismos. Historia de la clasificación microbiana de Haeckel a Woese. Los grandes tipos celulares (Dominios): arqueobacterias (Archaea), eubacterias (Bacteria) y eucariotas (Eucarya). Tamaño y estrategias de supervivencia. Filogenia de los microorganismos y su conexión con la Historia de la Tierra.

MICROBIOLOGIA

TEMA 3. TÉCNICAS MICROBIOLÓGICAS

Peculiaridades técnicas del estudio de los microorganismos. Esterilidad. Medios de cultivo: diseño y clasificación. Medios de cultivo especiales. Cultivos puros. Técnicas de microscopía óptica y electrónica en Microbiología.

II. BACTERIOLOGIA GENERAL

TEMA 4. ESTRUCTURA Y COMPOSICION DE LAS BACTERIAS I

Tamaño y forma de las bacterias, agrupaciones. Disposición de las principales estructuras de la célula bacteriana. Región nuclear. Orgánulos procarióticos especiales: vacuolas de gas, clorosomas, carboxisomas, magnetosomas. Materiales de reserva: reservas de C, PHB y PHA, gránulos de polifosfato, inclusiones de azufre.

TEMA 5. ESTRUCTURA Y COMPOSICION DE LAS BACTERIAS II

Mesosomas. Membrana citoplasmática: estructura y composición. Funciones: difusión, transporte y exportación. Pared celular: localización, estructura y función. Peptidoglicano: estructura y biosíntesis. La tinción de Gram.

TEMA 6. ESTRUCTURA Y COMPOSICION DE LAS BACTERIAS III

Estructura y composición de la pared celular de las bacterias Gram negativas. Membrana externa y espacio periplásmico. Lipopolisacárido. Estructura y composición de la pared celular de bacterias Gram positivas. Ácidos teicoicos.

TEMA 7. ESTRUCTURA Y COMPOSICION DE LAS BACTERIAS IV

Cápsulas y capas mucosas: composición, síntesis y papel biológico. Flagelos y fimbrias: estructura, composición y funcionamiento. Motilidad y tactismos.

TEMA 8. DIVISION CELULAR Y CRECIMIENTO

División celular en las bacterias. Reparto de los componentes celulares. Crecimiento balanceado. Expresión matemática del crecimiento exponencial. Tiempo de generación y tasa específica de crecimiento. Concepto de rendimiento y sustrato limitante. Efecto de la concentración de nutrientes.

TEMA 9. METODOS DE CULTIVO

Cultivo discontinuo. Curva de crecimiento en cultivo discontinuo: Fases. Cultivo continuo: quimiostato y turbidostato. Teoría matemática del quimiostato. Aplicaciones y ventajas del cultivo continuo. Cultivo sincrónico.

TEMA 10. EFECTOS DEL MEDIOAMBIENTE SOBRE EL CRECIMIENTO

Temperatura. pH. Concentración de solutos. Radiaciones. Relaciones con el oxígeno. Extremófilos: concepto y tipos.

MICROBIOLOGIA

TEMA 11. AGENTES ANTIMICROBIANOS

Definición. Desinfectantes y antisépticos. Actividad bactericida y bacteriostática. Agentes quimioterápicos antiinfecciosos. Antibióticos: concepto, propiedades y valoración. Principales tipos de antibióticos. Mecanismos de resistencia: consideraciones generales.

TEMA 12. DIVERSIDAD DEL METABOLISMO EN LAS BACTERIAS

Tipos de metabolismo energético en las bacterias. Concepto de quimiolitotrofo y principales tipos. Concepto de respiración y fermentación. Respiraciones anaeróbicas. Fotosíntesis en bacterias.

III. GENETICA BACTERIANA

TEMA 13. GENOMA BACTERIANO

Equilibrio conservación-variabilidad en procariotas y eucariotas. Características generales del genoma bacteriano: cromosoma y plásmidos. Cromosoma: estructura, tamaño, organización y función.

TEMA 14. PLASMIDOS

Propiedades de los plásmidos. Tipos de plásmidos y modos de replicación. Compatibilidad. Información genética contenida en plásmidos.

TEMA 15. BACTERIOFAGOS I

Características y estructura de los virus bacterianos. Multiplicación de los bacteriófagos. Ciclo lítico. Curva de multiplicación vírica. Virus bacterianos con DNA. Virus bacterianos con RNA.

TEMA 16. BACTERIOFAGOS II

Ciclo lisogénico. Lisogenia tipo lambda. Lisogenia tipo P1. Represión e inducción fágica. Significado biológico de la lisogenia.

TEMA 17. MUTACION Y ANALISIS DE MUTANTES

Importancia de la mutación como instrumento en Genética Bacteriana. Aislamiento de cepas mutantes. Selección y contraselección.

TEMA 18. INTERCAMBIO GENETICO Y RECOMBINACION I

Intercambio genético en bacterias y virus. Mecanismos de la conjugación, transformación y transducción. Barreras bacterianas al intercambio genético: fenómenos de restricción-modificación, recombinación homóloga. Mecanismo de transformación en *Streptococcus* (Gram+) y en *Haemophilus* (Gram-).

TEMA 19. INTERCAMBIO GENETICO Y RECOMBINACION II

Conjugación. Mecanismos de conjugación en bacterias Gram negativas. Plásmido F y cepas F⁺, F⁻, Hfr y F'. Otros plásmidos conjugativos. Mecanismos de conjugación en bacterias Gram positivas: producción de feromonas.

MICROBIOLOGIA

TEMA 20. INTERCAMBIO GENETICO Y RECOMBINACION III

Transducción: Mecanismos de transducción especializada y transducción generalizada.

TEMA 21. INTERCAMBIO GENETICO Y RECOMBINACION IV

Recombinación no-homóloga: elementos transponibles. Elementos IS. Transposones. Mecanismo molecular de la transposición. Fagos transponibles. Significado biológico y repercusiones evolutivas de la transposición. Importancia de los transposones en la adquisición de resistencia múltiples a antibióticos.

TEMA 22. MANIPULACION GENETICA DE MICROORGANISMOS

DNA recombinante, clonado molecular. Vectores de clonación: plásmidos, fagos, cósmidos. Mecanismos de introducción del DNA vector. Selección de clones recombinantes. Librerías genómicas. Principales aplicaciones de la Ingeniería Genética.

IV. SISTEMATICA DE PROCARIOTAS

TEMA 23. SISTEMATICA DE PROCARIOTAS: GENERALIDADES

Concepto de Sistemática y Taxonomía. Funciones y utilidad de la Taxonomía Bacteriana. Concepto de especie bacteriana. Taxones de orden superior. Taxonomía clásica y numérica. Quimiotaxonomía. Compilaciones de sistemática de procariotas: El "Bergey's Manual", "The Prokaryotes" y el "IJSB". Visión global de los grandes grupos del Bergey's. Filogenia y Taxonomía. Filogenia de Bacteria (eubacterias) y Archaea (arqueobacterias). Principales cronómetros moleculares y su utilización en Filogenia.

TEMA 24. FILOGENIA DEL DOMINIO BACTERIA

Grupos revelados por la comparación de secuencias de rRNA 16S. Proteobacterias. Cianobacterias. Grupo de *Pirella* y *Planctomyces*. Espiroquetas. Grupo *Bacteroides/Flavobacterium*. Clamidias. Grupo *Deinococcus/Thermus*. Gram-positivos. *Thermotoga/Thermosipho*.

BACTERIA (EUBACTERIAS)

TEMA 25. BACTERIAS FOTOSINTETICAS I

Cianobacterias, características generales. Fisiología. Fotosíntesis oxigénica. Fijación de nitrógeno. Proclorófitos. Grupos principales. Ecología de bacterias fotosintéticas oxigénicas.

TEMA 26. BACTERIAS FOTOSINTETICAS II

Fotosíntesis anoxigénica. Bacterias rojas del azufre. Bacterias rojas no del azufre.

Bacterias verdes del azufre. Bacterias verdes no del azufre. *Heliobacterium*. Ecología de las bacterias fotosintéticas anoxigénicas. Tapetes microbianos y lagos meromícticos.

MICROBIOLOGIA

TEMA 27. BACTERIAS QUIMIOLITOTROFAS

Bacterias desasimiladoras reductoras de sulfato o azufre. Características generales y metabolismo. Géneros principales. Corrosión anaerobia. Bacterias quimiolitotrofas oxidadoras de azufre. Características generales y metabolismo. Género *Thiobacillus*. Ecología. Bacterias oxidadoras de amonio o nitritos. Familia Nitrobacteraceae. Características generales. Géneros principales. La nitrificación. Importancia ecológica. Bacterias oxidadoras de metales. Familia Siderococaceae. Características generales y géneros principales.

TEMA 28. BACTERIAS ENVAINADAS Y BACTERIAS CON APÉNDICES

Características generales. Géneros *Sphaerotilus* y *Leptothrix*. Importancia ecológica. Bacterias con yemas y/o apéndices. Géneros más representativos. Diferenciación celular en bacterias con prosteca: ciclos de *Hyphomicrobium* y *Caulobacter*. Ecología.

TEMA 29. BACTERIAS DESLIZANTES

Características generales y clasificación. Orden Myxobacterales. Características morfológicas y fisiológicas. Ecología. Género *Myxococcus*: morfogénesis e interacciones celulares. Orden Cytophagales. Características generales. Orden Lysobacterales. Orden Beggiaetales. Características generales. Ecología.

TEMA 30. ESPIROQUETAS Y BACTERIAS CURVADAS

Orden Spirochaetales. Características estructurales y fisiológicas. Géneros *Spirochaeta*, *Leptospira*, *Borrelia* y *Treponema*. Espiroquetas simbióticas de vertebrados. Bacterias Gram negativas espirales y curvadas, aerobias/microaerófilas. Características generales. Géneros *Spirillum* y *Campylobacter*, y géneros relacionados. Importancia clínica. Género *Bdellovibrio*: características y ciclo biológico.

TEMA 31. BACILOS Y COCOS GRAM-NEGATIVOS AEROBIOS I

Características generales y clasificación. Familia Pseudomonadaceae. Características generales. Géneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas* y *Zooglea*. Tratamiento aeróbico de aguas residuales.

TEMA 32. BACILOS Y COCOS GRAM-NEGATIVOS AEROBIOS II

Familia Legionellaceae. Género *Legionella*, legionelosis. Familia Neisseriaceae, gonorrea y meningitis meningocócica. Otros géneros: *Brucella* y *Bordetella*. Importancia clínica.

TEMA 33. BACILOS Y COCOS GRAM-NEGATIVOS AEROBIOS III

Familia Azotobacteriaceae. Características generales. Fijación de N₂. Género *Azotobacter*. Ciclo biológico. Géneros relacionados: *Beijerinckia* y *Dermia*. Familia Rhizobiaceae. Características generales. Género *Rhizobium*. Simbiosis *Rhizobium leguminosarum*. Género *Agrobacterium*.

MICROBIOLOGIA

TEMA 34. BACILOS Y COCOS GRAM-NEGATIVOS AEROBIOS IV

Familia Methylococcaceae. Características estructurales y metabolismo. Ecología. Géneros *Methylococcus* y *Methylomonas*. Familia Acetobacteraceae. Metabolismo. Géneros *Acetobacter* y *Gluconobacter*.

TEMA 35. BACILOS GRAM-NEGATIVOS ANAEROBIOS FACULTATIVOS I

Familia Enterobacteriaceae. Características generales. Grupo I, *Escherichia-Salmonella-Shigella*. Grupo II, *Enterobacter-Serratia-Erwinia*. Grupo III, *Proteus-Providencia*. Grupo IV, *Yersinia*. Las enterobacterias como indicadores de contaminación fecal: coliformes fecales y totales.

TEMA 36. BACILOS GRAM-NEGATIVOS ANAEROBIOS FACULTATIVOS II

Familia Vibrionaceae. Características generales y clasificación. Géneros *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* y *Photobacterium*. Bioluminiscencia bacteriana. Familia Pasteurellaceae. Géneros *Pasteurella* y *Haemophilus*. Características y modo de vida de las bacterias en los hábitats marinos.

TEMA 37. BACILOS Y COCOS GRAM-NEGATIVOS ANAEROBIOS

Características generales peculiaridades metabólicas. Tipos de fermentaciones. Familia Bacteroidaceae. Familia Veillonellaceae. El rumen como hábitat típico de anaerobios Gram negativos. Gram negativos reductores de azufre: características generales, fisiología y ecología.

TEMA 38. RICKETTSIAS Y CLAMIDIAS

Orden Rickettsiales. Características estructurales, fisiológicas y ecológicas. Parasitismo intracelular y vectores de transmisión. Géneros *Rickettsia* y *Coxiella*. Orden Chlamydiales. Características generales. Ciclo biológico. Género *Chlamydia*.

TEMA 39. COCOS GRAM-POSITIVOS NO ESPORULADOS I

Familia Micrococcaceae. Características generales. Géneros *Micrococcus* y *Staphylococcus*. Infecciones e intoxicaciones estafilocócicas.

TEMA 40. COCOS GRAM-POSITIVOS NO ESPORULADOS II

Género *Deinococcus*. Géneros *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Lactococcus*: características generales y clasificación. Ecología, patogenicidad y aplicaciones.

TEMA 41. BACILOS Y COCOS GRAM-POSITIVOS ESPORULADOS I

La endospora bacteriana: estructura, composición y propiedades. Ciclo esporulación-germinación. Etapas del proceso de esporulación. Genética de la esporulación. Importancia ecológica y aplicada de la endospora. Género *Bacillus*. Características generales. Especies principales.

TEMA 42. BACILOS Y COCOS GRAM-POSITIVOS ESPORULADOS II

Género *Clostridium*. Fermentaciones de interés industrial. Especies de importancia clínica. Tétanos, gangrena gaseosa, botulismo. El suelo como hábitat típico de Gram positivos esporulados. Ensayos de Gram positivos esporulados como armas biológicas.

MICROBIOLOGIA

TEMA 43. BACILOS GRAM-POSITIVOS NO ESPORULADOS I

Grupo fisiológico de las bacterias del ácido láctico. Fermentación láctica: rutas homofermentativa y heterofermentativa. Importancia industrial. Género *Lactobacillus*, características generales. Géneros *Listeria* y *Erysipelothrix*

TEMA 44. BACILOS GRAM-POSITIVOS NO ESPORULADOS II

Corineformes, características generales. Género *Corynebacterium*. Importancia clínica. Bacterias del ácido propiónico. Géneros *Propionibacterium* y *Bifidobacterium*.. Familia Mycobacteriaceae, características generales. Género *Mycobacterium*. Tuberculosis. Lepra.

TEMA 45. BACILOS GRAM-POSITIVOS NO ESPORULADOS III

Nocardiformes, características generales. Género *Nocardia*. Actinomicetos, características generales. Clasificación. Género *Streptomyces*. Producción de antibióticos. Otros géneros representativos.

TEMA 46. MICOPLASMAS

Orden Mycoplasmatales. Características estructurales y metabólicas. Clasificación. Ecología.

ARCHAEA (ARQUEOBACTERIAS)

TEMA 47. CARACTERISTICAS GENERALES DE LOS ARCHAEA

Tipos de metabolismo arqueano. Estructura celular: tipos de pared celular. Lípidos. Características genéticas. Ecología: Archaea y ambientes extremos.

TEMA 48. METANOGENOS

Características generales. Metabolismo. Paredes celulares. Grupos principales. Ecología. Importancia económica de los metanógenos.

TEMA 49. ARCHAEA HALOFILOS

Haloarchaea, características generales. Metabolismo. Proteínas retinal en haloarchaea. Grupos principales. Ecología.

TEMA 50. ARCHAEA DEL AZUFRE

Características generales. Metabolismo. Hipertermofilia, bases moleculares. Ecología. Grupos principales. *Thermoplasma*.

PROGRAMA DE PRÁCTICA

1. Medios de cultivo y su significado: Medios sólidos y líquidos. Medios sintéticos y complejos. Medios selectivos. Medios test.

Se preparan diversos tipos de medios de cultivo que se usarán en días sucesivos, los esterilizan en autoclave y preparan placas y tubos con agar inclinado. Esterilizarán todo el material de vidrio a utilizar. Visión del video de 1 hora de duración sobre las prácticas.

MICROBIOLOGIA

2.- Técnicas de siembra e incubación.

Se adiestra al alumno en las diversas técnicas para el manejo, siembra e incubación de bacterias. Se usan las técnicas de siembra por agotamiento, triple estría y mediante asa de vidrio. Técnicas de incubación: Realización de incubaciones en aerobiosis y anaerobiosis, en placa y tubo, en superficie y profundidad. Estufas y baños. Oxígeno, suministro o supresión. Agitación. Insuflación de aire.

3.- Esterilidad: Concepto de esterilidad. Contaminación, sus fuentes. Métodos de esterilización. Autoclave. Pasteurización y tindalización. Calor seco. Radiaciones UV y gamma. Filtración. Desinfectantes. Esterilidad en la manipulación. El asa de siembras. Flujo laminar. Fundamentos del control de contaminación.

Se prepara una suspensión de microorganismos desconocidos resuspendiendo una pequeña muestra de suelo en agua estéril. Se decanta y de la suspensión resultante se siembran directamente varias placas con medio rico. Una de las placas sembradas se irradia con lámpara germicida. Por otro lado, una alícuota de la suspensión de microorganismos se lleva a ebullición y otra se filtra por un filtro de membrana de 0,45 micras. Se siembran muestras del agua y el filtro utilizado se coloca en una placa con medio rico. Se dejan placas abiertas en la bancada y en una campana de siembras con luz ultravioleta.

Para completar la práctica, cada estudiante sembrará placas con muestras de sus propias manos, antes y después de ser lavadas con jabón y muestras recogidas de sus bancadas.

4.- Identificación Bacteriana. Pruebas bioquímicas y observación al microscopio.

Pruebas Bioquímicas: Fundamento. Acidificación de azúcares. Utilización de glucosa por vía oxidativa o fermentativa. IMViC. Reducción de nitratos. Oxidasa. Catalasa. Producción de sulfídrico. Hidrólisis de polímeros. Hidrólisis de la urea.

Se preparan los medios y utensilios necesarios para la identificación de un cultivo puro bacteriano: medios para pruebas bioquímicas etc. Utilización de tablas y textos para clasificación de bacterias. Sistemas de identificación rápida. Medios selectivos para identificación presuntiva. Tinción de Gram. Tinción de endosporas. Tinción de Ziehl-Nielsen. Antibiograma, CMI. Identificación por técnicas de aglutinación.

Se entrega a cada grupo tres cultivos puros correspondientes a tres bacterias: una Gram positiva esporulada, una enterobacteria y una bacteria Gram negativa aeróbica, preferentemente en colonias claramente diferenciables. Se siembran los tres microorganismos en un medio selectivo para uno de ellos como el agar McConkey. Los alumnos inoculan todos los medios para las pruebas bioquímicas y realizan la tinción de Gram y endosporas. Se realizará un antibiograma con cada cepa. También inoculan un sistema de identificación rápido (tipo API). Al día siguiente interpretan los resultados de las pruebas y tinciones y clasifican los tres microorganismos utilizando tablas de clasificación. Interpretan antibiogramas. Se realizan aglutinaciones en porta y título de seroaglutinación frente a controles positivos y negativos.

MICROBIOLOGIA

CRITERIOS DE EVALUACIÓN

TEORIA

Se efectuarán dos exámenes parciales (eliminatórios y que compensarán entre sí con nota superior a 4,00) además de un examen final.

Los exámenes ordinarios serán tipo test de respuestas múltiples.

Los parciales no se guardan para Septiembre.

El examen de Septiembre será de desarrollo (10 preguntas).

PRACTICAS

Asistencia obligatoria. Se hará un examen de las clases prácticas.

Es necesario aprobar separadamente teoría y prácticas.

La calificación de los exámenes de teoría representará el 90% de la nota final, el 10% restante corresponderá a la calificación de prácticas.

Se ofrece la posibilidad de realizar trabajos bibliográficos voluntarios que servirán para subir nota, **no** para a probar la asignatura.

MICROBIOLOGIA

BIBLIOGRAFIA

Atlas, R.M. (1995) *Microorganisms in our world*. Mosby-Year Book Inc., St. Louis, Missouri, E.E.U.U.

Balows, A., Truper, H.G., Dworkin, M., Harder, W. y Schleiffer, K.H. (1992) *The Prokaryotes: a Handbook on the Biology of Bacteria. Ecophysiology, Isolation, Identification and Application (2ª Ed.)*. Springer-Verlag. New York.

Dixon, B. (1994) *Power unseen: how microbes rule the world*. Freeman/Spektrum, New York, E.E.U.U.

Ingraham, J.L. e Ingraham, C.A. (1998) *Introducción a la microbiología*. Reverté, Barcelona, España.

Lenger, J.W., Drews, G. y Schlegel, H. (1999) *Biology of the prokaryotes*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, Alemania.

Madigan, M.T., Martinko, J.M. y Parker, J. (1997) Brock Biology of Microorganisms (8ª Ed.) Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, E.E.U.U.
Traducción al castellano (**Brock Biología de los microorganismos, 1998, Prentice Hall**)

Murray, P.R., Kobayaskhi, G., Pfaller, M.A. y Tenover, K.C. (1997) *Microbiología médica (2ª Ed.)* Harcourt Brace, Madrid.

Perry, J.J. y Staley, J.T. (1997) *Microbiology: dynamics and diversity*. Saunders College Publishing, Orlando, Florida, E.E.U.U.

Stanier, R.Y., Ingraham, J.L., Wheelis, M.L. y Painter, P.R. (1991). *Microbiología (2ª Ed.)* Editorial Reverté. Barcelona.