E S P I N A S

DEFINICION: Son apéndices tubulares no prosthecate, producidos sobre la superficie de ciertas bacterias gramnegativas como los pseudomonadales marinos descritos por McGregor-Shaw y su grupo de colaboradores - en 1973.

Estas estructuras extracelulares son inmunogénicas, no son esenciales para el crecimiento ya que pueden ser removidas sin que se afecte su viabilidad celular.

COMPOSICION QUIMICA: Estan constituídas por un solo tipo de proteína estructural, rica en B-tira plegada, denominada **ESPININA**, la cual es capaz de autoensamblarse **in vitro** formando filamentos. **In vivo**, - estos filamentos pueden entrecruzarse formando la pared de la espina.

ESTRUCTURA: Cada espina es un tubo coniforme hueco, en contacto con la superficie celular su base expandida llega a medir un diámetro máximo de 120 nm y en su extremo distal alcanza un diámetro de 60 nm. La longitud de la espina es superior a los 200 nm

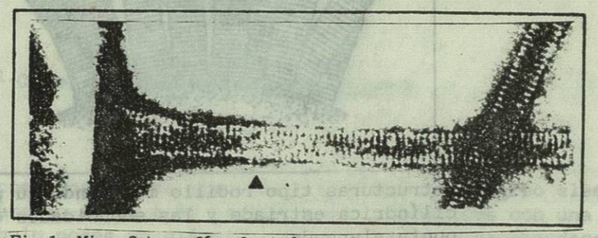


Fig.1. Microfotografía electrónica de una espina bacteriana mostrando su estructura basal ensanchada.

INFLUENCIA DEL MEDIO AMBIENTE SOBRE LA PRODUCCION DE ESPINAS: El microorganismo puede mantenerse creciendo activamente tanto en el estado espinado como en el no espinado; pero existen condiciones ambientales que favorecen o reprimen la producción de espinas. Estas son:

CONDICIONES RESTRICTIVAS		CONDICIONES PERMISIVAS	
[NaCl]	= 0.4 M	[NaCl]	= 0.2 M
pH	= 6.5	pH	= 7.5
Temperatura	= 23°C	Temperatura	= 34°c

Como puede observarse, las bacterias son inducidas a producir espinas exponiendolas a un incremento en el pH, en la temperatura y a una disminución en la concentracion iónica.

CINETICA DE PRODUCCION DE ESPINAS: El hecho de que un cultivo de bacterias no espinadas se cambie a condiciones favorables para la espinación no ocasiona ningún efecto sobre la viabilidad celular, -- por el contrario, el crecimiento prosigue a una velocidad incrementada, no detectándose fase lag como resultado de la transición (**Fig. 1**). Sin embargo, la examinación al microscopio-electrónico del cultivo, ha mostrado que no es sino hasta 1 h. después del cambio cuando aparecen las primeras células espinadas; a partir de ese momento, la proporción de **bacterias espinadas** se incrementa linealmente al transcurrir el tiempo, alcanzándose el máximo porcentaje en aproximadamente 75 minutos-después de la fase lag (**Fig. 2**).

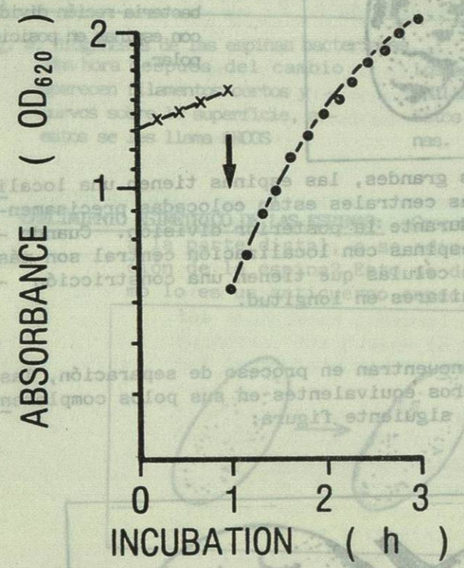


FIG. 1. Change of absorbance, with time, of an unspined culture (X) shifted to conditions favourable for spinae development (●). Conditions prior to shift; 0.4 *M* NaCl, pH 6.5, 23°C. Conditions after shift (indicated by arrow); 0.2 *M* NaCl, pH 7.5, 33°C.

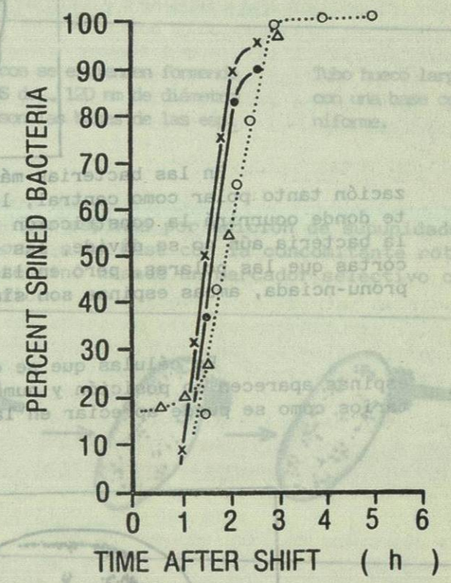


FIG. 2. The development of spinae in a population of unspined bacteria shifted to conditions favouring spinae production. Spined bacteria were evaluated by electron microscopy and scored irrespective of number or length of spinae. ○, X, ●, different cultures demonstrating slight variation in kinetics. △, Culture with initial background of spined bacteria. Note similar kinetics. An average of 500 bacteria were scored.

Concomitantemente con el incremento en la proporción de bacterias espinadas, se detecta un incremento en el número de espinas/bacteria durante el crecimiento activo, de manera que al final de la fase exponencial, el número de espinas/bacteria es de 17 ± 5 .

DESARROLLO DE ESPINAS Y SU RELACION CON LA DIVISION CELULAR:

En condiciones permisivas, las primeras espinas se producen en los polos de las bacterias pequeñas recientemente divididas como se ilustra enseguida:

Fig.2. Esquema que muestra una bacteria recién dividida con espinas en posición polar.

En las bacterias más grandes, las espinas tienen una localización tanto polar como central, las centrales están colocadas precisamente donde ocurrirá la constricción durante la posterior división. Cuando la bacteria aún no se divide, las espinas con localización central son más cortas que las polares, pero en las células que tienen una constricción pronu-nciada, ambas espinas son similares en longitud.

En células que se encuentran en proceso de separación, las espinas aparecen en posición y numeros equivalentes en sus polos complementarios como se puede apreciar en la siguiente figura:

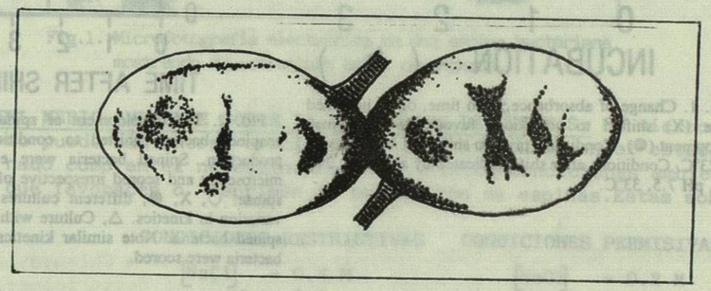


Fig.3. Esquema que presenta dos celulas en proceso de separación llevando espinas en posición y numero equivalente.

BIOGENESIS DE LAS ESPINAS: Por examinación al microscopio electrónico, se ha demostrado que la morfogénesis de las espinas procede de acuerdo al siguiente patrón:

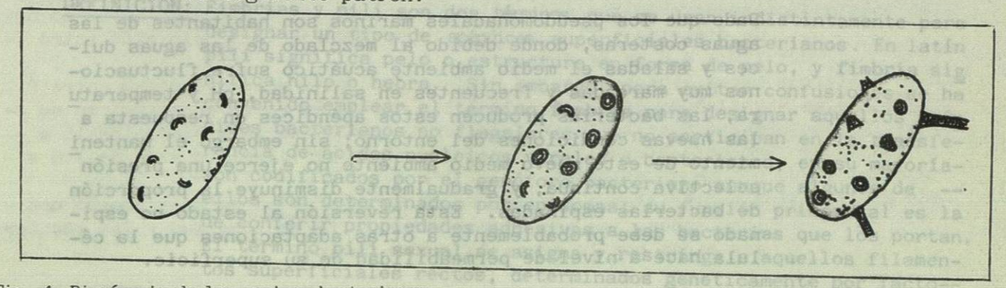


Fig. 4. Biogénesis de las espinas bacterianas

Una hora despues del cambio aparecen filamentos cortos y curvos sobre la superficie, a estos se les llama **ARCOS**

Los arcos se extienden formando **ANILLOS** de ~ 120 nm de diámetro Estos son las bases de las espinas.

Tubo hueco largo con una base coniforme.

CRECIMIENTO ASIMETRICO DE LAS ESPINAS: ¿Crecen las espinas por adición de subunidades a la parte distal, o se adicionan a su base con la concomitante rotación de la espina? Esto se determinó usando un marcador selectivo como lo es un anticuerpo específico.

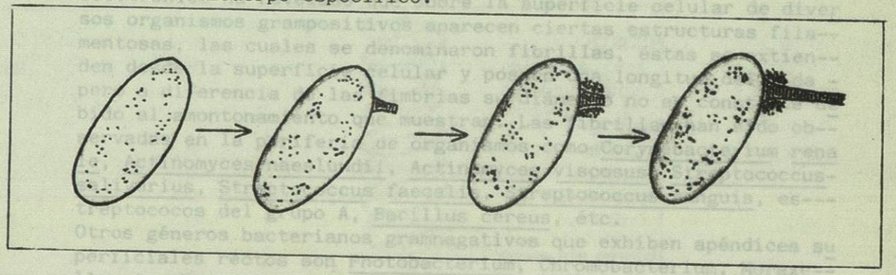
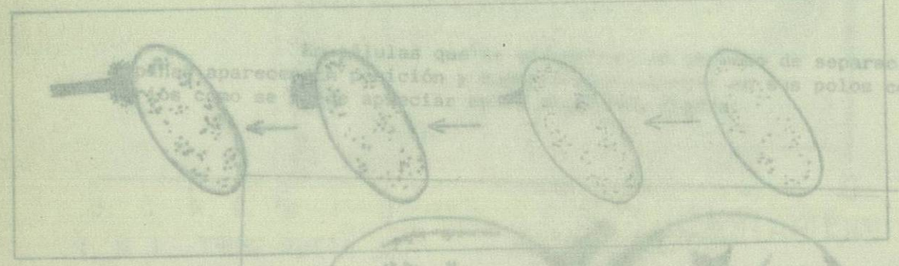


Fig. 5. **PRUEBA DEL CRECIMIENTO TERMINAL DE LAS ESPINAS in vivo.** Las bacterias no espinadas **(a)** se les permite el crecimiento parcial de la espina bajo condiciones permisivas**(b).** Luego se exponen al antisuero brevemente, y el exceso de anticuerpo se remueve por un lavado **(c).** El cultivo se reincuba para permitir el crecimiento completo de la espina y se por examinación al microscopio electronico (tinción negativa), pueden visualizarse las regiones de nuevo crecimiento como regiones de menor contraste.

Las observaciones al microscopio han revelado que el crecimiento nuevo ocurre en el extremo distal de la espina, por adición de subunidades en esa región.- Como el filamento de la espina es sólido, los monómeros ú oligomeros deben llegar al sitio de adición por difusión desde la superficie bacteriana a través del interior del tubo hueco.

FUNCIONES: Las espinas cumplen multiples funciones, son consideradas como "brazos" con actividades multipotenciales que incluyen **fijación, mantenimto a distancia y protección.**

Dado que los pseudomonadales marinos son habitantes de las aguas costeras, donde debido al mezclado de las aguas dulces y saladas el medio ambiente acuático sufre fluctuaciones muy marcadas y frecuentes en salinidad, pH y temperatura, las bacterias producen estos apéndices en respuesta a las nuevas condiciones del entorno; sin embargo el mantenimiento de este nuevo medio ambiente no ejerce una presión selectiva continua, y gradualmente disminuye la proporción de bacterias espinadas. Esta reversión al estado no espinado se debe probablemente a otras adaptaciones que la célula hace a nivel de permeabilidad de su superficie.



BIBLIOGRAFIA: Las figuras y microfotografías electrónicas, asi como la información proporcionada, han sido tomadas de:

Easterbrook, K.B. y S.A. Alexander. 1983. The initiation and growth of bacterial spinae. Can. J. Microbiol. 29 :476 - 487.

APENDICES FILAMENTOSOS RECTOS

DEFINICION: Fimbrias y pili son dos términos que se usan indistintamente para designar un tipo de apéndices superficiales bacterianos. En latín **pili** significa pelo o estructura en forma de pelo, y **fimbria** significa hilo o hebra. Sin embargo, para evitar confusiones se ha convenido emplear el término **fimbria** para designar aquellos apéndices bacterianos no flagelares que no participan en la transferencia de ácidos nucleicos virales o bacterianos, en su mayoría son codificados por el genóforo bacteriano aunque algunos de ellos son determinados por episomas; su función primordial es la de conferir propiedades adhesivas a las bacterias que los portan. El término **pili sexual** se asigna y restringe a aquellos filamentos superficiales rectos, determinados geneticamente por factores sexuales, ya sea el factor sexual F o el Col I, actúan como receptores de fagos y esencialmente están involucrados en la transferencia de material genético entre células sexualmente diferenciadas mediante el fenómeno conocido como **conjugación bacteriana.**

DISTRIBUCION: En un principio se pensaba que estos apéndices filamentosos ocurrían exclusivamente entre bacterias gramnegativas pertenecientes a las familias Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae o al género Caulobacter. Sin embargo la examinación al microscopio electrónico ha revelado que sobre la superficie celular de diversos organismos grampositivos aparecen ciertas estructuras filamentosas, las cuales se denominaron **fibrillas**, éstas se extienden desde la superficie celular y poseen una longitud definida pero a diferencia de las fimbrias su diámetro no es constante debido al amontonamiento que muestran. Las fibrillas han sido observadas en la periferia de organismos como Corynebacterium renale, Actinomyces naeslundii, Actinomyces viscosus, Streptococcus salivarius, Streptococcus faecalis, Streptococcus sanguis, estreptococos del grupo A, Bacillus cereus, étc.
Otros géneros bacterianos gramnegativos que exhiben apéndices superficiales rectos son Photobacterium, Chromobacterium, Moraxella, Agrobacterium, Rhizobium, Neisseria, Fusibacterium y Bacteroides, Haemophilus parainfluenzae, Vibrio cholerae entre otros. En la gran mayoría de bacterias estos apéndices estan arreglados peritricamente, pero en los géneros Acinetobacter, Alteromonas, Bacteroides, Eikenella, Moraxella, Neisseria y las cepas de PAK y PAO de Pseudomonas aeruginosa su localizaciónes polar.
Las cepas de Escherichia coli llevan varios tipos distintos de fimbrias caracterizadas no sólo por sus propiedades hemaglutinantes y serológicas sino también por los serotipos que las portan y por la condicion clinica asociada; en las cepas enterotoxigénicas se han detectado las fimbrias K88 en cepas patógenas para cerdos, las fimbrias K99 en cepas aisladas de bovinos y ovinos, los antígenos de factor de colonización CFA/I y CFA/II presentes en cepas patógenas para humanos y las fimbrias 987P encontradas en cepas porcinas.