B I B L I O G R A F I A

1.-Bull, A.T. y P.M. Meadow. 1978. Companion to Microbiology. Selected Topics for further study. Longman-London.

2.-Clegg, S. y G.F. Gerlach. 1987. Enterobacterial Fimbriae. J. Bact. 169 (3) :934-938.

3.-de Graaf, F.K., P. Klemm y W. Gaasia. 1986. Purification, characterization and partial covalent structure of Escherichia coli adhesive antigen K99. Infect. Immun. 33 (3): 877-883.

4.-Duguid, J.P., E.S. Anderson., I. Cambell. 1966. Fimbriae and adhesive properties in Salmonellae. J. Pathol. Bacteriol. 92: 107-138.

5.-Finlay, B.B., L. Frost., W. Paranchych., J.M.R. Parker y R.S.H. Hodges. - 1985. Major Antigenic Determinants of F and Col B pili. J. Bacteriol. 163 (1): 331-335.

6.-Finlay, B.B., L.S. Frost., W. Paranchych. 1986.Origin of transfer of IncF-Plasmids and nucleotide sequences of the Type II oriT, traM and traY alleles from Col B4, K98 and the Type IV traY Allele from-R100-1. J. Bacteriol. 168 (1): 132-139.

7.-Issacson, R.E. 1977. K99 Surface Antigen of Escherichia coli: Purification and Partial Characterization. Infect. Immun. 15(1):272-279.

8.-Issacson, R.E. 1980. Factors affecting expression of the Escherichia coli pilus K99. Infect. Immun. 28 (1): 190-194.

9.-Korhonen, T.K., K. Louthnatmaa., H. Ranta y N. Kuusi. 1980. Characterization of Type 1 pili of Salmonella typhimurium LT2. J. Bacteriol. 144(2): 800-805.

10.-Korhonen, T.K., V.V. Rhen., A. Pere., J. Parkkinen y J. Finne. 1984. — Escherichia coli Fimbriae recognizing sialyl glactosides. J. - Bacteriol. 159 (2): 762-766.

11.-Mattick, J.S., M.M. Bills., B.J. Anderson., B. Dalrymple., M.R. Mott y - J.R. Egerton. 1987. Morphogenetic Expression of Bacteroides nodosus Fimbriae in Pseudomonas aeruginosa. J. Bacteriol. 169. - (1): 33-41.

12.-Maurer, L. y P. E. Orndorff. 1985. A New Locus: pil E, required for binding of type 1 piliated Escherichia coli to erythrocytes. FEMS. — Microbiol. Lett. 30: 59-66.

13.-Maurer, L. y P.E. Orndorff. 1987. Identification and characterization of-genes determining receptor binding and pilus length of Escherichia coli type 1 pili. J. Bacteriol. 169 (2): 640-645.

14.-Morris, E.J., N. Ganeshkumar., M. Song y B.C. McBride. 1987. Identification and preliminary characterization of a Streptococcus sanguis fibrillar glycoprotein. J. Bacteriol. 169(1):164-171.

15.-Old, D.C. 1972. Inhibition of the Interaction between friae haemaglutinin and erythrocytes by D-Mannose and other carbohydrates. J. Gen. Microbiol. 71: 149-157.

16.-Orndorff, P.E. y S. Falkow. 1985. Nucleotide sequence of pil A, the Gene-encoding the structural component of type 1 pilin in Escherichia coli. J. Bacteriol. 162(1): 454-457.

17.-Ørskov, I., F. Ø rskov y A.B. Andersen. 1980. Comparison of E. coli fimbrial antigen F7 with type 1 fimbriae. Infect. Immun. 27 (2): 657-666.

18.-Sastry, P.A., B. Finlay., B.L. Pasloske., W. Paranchych., J.P. Pearlstone; L.B. Smille. 1985. Comparative studies of the aminaocid and nucleotide sequences of pilin derived from Pseudomonas aeruginosa PAK y PAO. J. Bacteriol. 164 (2):571-579.

F L A G E L O S B A C T E R I A N O S

DEFINICION: Son apéndices filamentosos que se originan en la membrana plasmática, su composición es enteramente proteica, son antigénicos y están involucrados en la motilidad celular. Todos los flagelos estudiados a la fecha poseen tres regiones morfológica y antigénicamente diferentes conectadas en serie: el filamento, el gancho y el **cuerpo basal** — (fig.1).

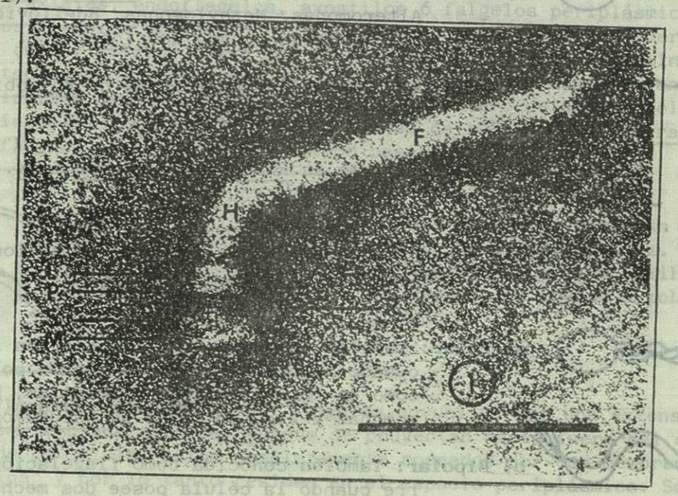
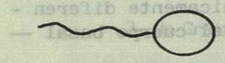


Fig.1. Micrografía que muestra el flagelo intacto de Aquaspirillum serpens, el cual — consta de gancho (H), filamento (F) y cuerpo basal. El complejo basal está compuesto - de cuatro discos (L, P, S y M) colocados sobre un eje central (R) que conecta el par - de discos externos con el par interno. El eje emerge del complejo basal para unirse al gancho. La barra mide 100 nm.

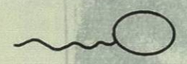
CLASIFICACION: Ya desde hace tiempo las células bacterianas han sido objeto de diversas clasificaciones de acuerdo al número y disposición de sus -- flagelos. Aunque los sitios de inserción de los mismos sobre la superficie de la célula se consideran una característica de especie o grupo, debe señalarse que esto, al igual que el número de los flagelos,- puede variar aún dentro de la misma especie. Seelinger y Welshimer establecieron que la **flagelación variable** ocurre cuando flagelos morfológicamente distintos están presentes en en el mismo organismo, aunque no necesariamente en la misma célula. En cambio el término **flagelación mixta** se refiere al caso en el que flagelos distintos aparecen sobre un mismo individuo, como en el caso de ciertas especies de Pseudomonas, Aeromonas, Vibrio y Azospirillum que producen flagelos laterales en adición al único flagelo polar cuando cercen sobre un medio sólido.

De acuerdo a su tipo de flagelación, las bacterias pueden clasificarse como:

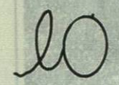
MONOTRICAS: Cuando poseen un solo flagelo sobre su superficie, el cual puede estar colocado en cualquiera de tres posiciones distintas:



a) Polar: Como en las células de Vibrio, Xanthomonas, Derxia, Alteromonas, Methylomonas, Bdellovibrio, algunas cepas de Pseudomonas, Zoogloea, etc.

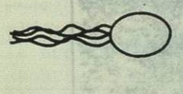


b) Subpolar: Como en algunas cepas de Rhizobium, Bradyrhizobium y Pseudomonas.

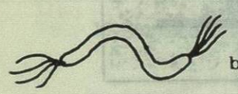


c) Lateral: Como en Rhodobacter sphaeroides.

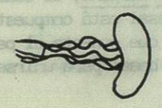
POLITRICA: Cuando la célula posee dos ó más flagelos sobre su superficie. Existen varias categorías:



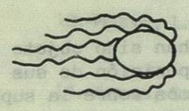
a) Polar: También conocida como flagelación lofótrica. Ocurre cuando la célula posee un mechón polar de flagelos, como en Thiospirillum, Chromatium, Halobacterium, Zymomonas y algunas cepas de Pseudomonas.



b) Bipolar: También conocida como flagelación anfítrica. Ocurre cuando la célula posee dos mechones de flagelos en ambos polos, como en Aquaspirillum fasciculus, Spirillum y Oceanospirillum.



c) Lateral: Como en Selenomonas, Halomonas y Legionella.



d) Peritrica: Como en Alcaligenes, Escherichia, Salmonella, Citrobacter, Enterobacter, Serratia, Proteus, Hafnia, Yersinia, Agrobacterium, etc.

Los flagelos difieren no sólo en cuanto a su número y disposición sobre la célula, sino también en su estructura fina y localización con respecto a las envolturas celulares. Por ejemplo, Canale-Parola se ha referido frecuentemente a lo que el llama **endoflagelos** y **exoflagelos**. De acuerdo con él, los endoflagelos ó fibrillas axiales son propios de las espiroquetas y se diferencían de los exoflagelos en que residen permanentemente en el espacio periplásmico. Se presenta enseguida una clasificación de los diversos tipos flagelares basada en estas características.

A) ENDOFLAGELOS: En ellos las subunidades proteicas componentes del filamento y el gancho no tienen contacto con el medio ambiente externo a la célula, esto es, se encuentran encerrados en el espacio periplásmico. Se conocen dos tipos:

1) Fibrillas periplásmicas o axostilos: Son flagelos típicos de espiroquetas. Se les ha llamado fibrillas periplásmicos, fibrillas axiales, endoflagelos, axostilos ó falgelos periplásmicos. Estos flagelos difieren de otros en que no se proyectan fuera del cuerpo celular, sino que se encuentran rodeando al cilindro protoplásmico, encerrados junto con él dentro de una membrana trilaminar denominada vaina externa. El número de endoflagelos varía desde 2 en Spirochaeta hasta más de 100 en Cristispira. Cada flagelo posee su propio cuerpo basal.

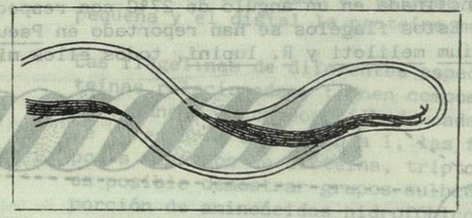


Fig.2. Esquema que representa el extremo apical de una espiroqueta. Pueden observarse la serie de fibrillas periplásmicas que nacen en el polo de la célula.

2) Flagelos envainados: Son flagelos envueltos por una extensión de la membrana externa. Aunque se proyectan hacia fuera del cuerpo de la célula, están completamente rodeados por esa membrana o "vaina" y por lo tanto residen en el espacio periplásmico. Son propios de los miembros del género Vibrio y de las especies Pseudomonas andropogonis y Bdellovibrio bacteriovorus.

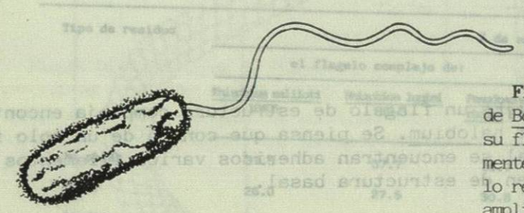


Fig.3. Representación de una célula de Bdellovibrio bacteriovorus mostrando su flagelo polar, el cual es inusualmente grueso debido a la "vaina" que lo recubre. Debe notarse además que la amplitud y longitud de onda del mismo disminuye hacia el extremo distal.

B) EXOFLAGELOS: Son aquellos flagelos cuyas subunidades proteicas sí tienen contacto con el medio ambiente externo a la célula. Se conocen tres tipos:

1) Flagelos sencillos; La superficie de los filamentos de estos flagelos aparece lisa al microscopio electrónico. Es el tipo más común y se encuentra en la mayoría de las bacterias estudiadas, tales como Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Bacillus subtilis, Caulobacter crescentus, etc.

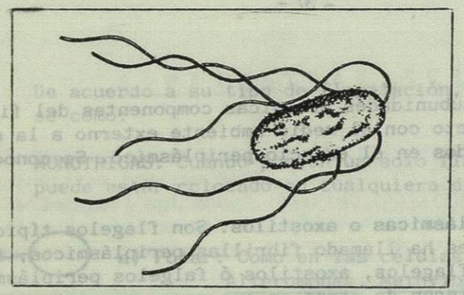


Fig.4. Representación de una célula peritrica mostrando sus flagelos sencillos.

2) **Flagelos complejos:** La superficie de sus filamentos presenta ondulaciones periódicas cuando se observan al microscopio electrónico. Las ondulaciones son producidas por una especie de recubrimiento formado por tres bandas helicoidales de 4.7 nm de ancho cada una y separadas entre sí por esa misma longitud, dispuestas en forma inclinada en un ángulo de 27ºC con respecto al eje del filamento. Estos flagelos se han reportado en Pseudomonas rhodos, Rhizobium meliloti y R. lupini, todos ellos microorganismos de suelo.

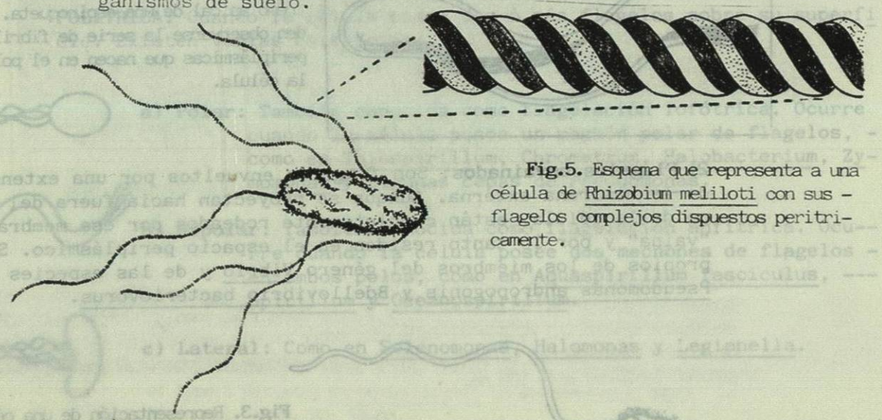


Fig.5. Esquema que representa a una célula de Rhizobium meliloti con sus flagelos complejos dispuestos peritricamente.

3) **Superflagelo:** Es un flagelo de estructura compleja encontrado en Halobacterium halobium. Se piensa que consta de un solo flagelo activo al cual se encuentran adheridos varios filamentos inactivos que carecen de estructura basal.

EL FILAMENTO

Es el principal componente del flagelo, constituyendo aproximadamente el 95 % de su masa. Es una estructura filamentosa, larga, de 13 a 20 nm de diámetro y una longitud de 15 a 20 um.

COMPOSICION QUIMICA: El filamento está compuesto de una proteína con propiedades antigénicas llamada **FLAGELINA.** Se supone que cada filamento está conformado por un solo tipo de flagelina, aunque se han encontrado excepciones, por ejemplo el mechón flagelar de Halobacterium halobium posee tres proteínas constituyentes diferentes cuyos pesos moleculares son 23.5, 26.5 y 31.5 Kilodaltones (Kd). En Caulobacter crescentus el filamento de su único flagelo polar está formado por dos flagelinas con pesos moleculares de 28 y 25 Kd, las cuales copurifican a una razón constante de 1 : 3.3 . La observación de estos flagelos por tinción inmunológica demostró que un segmento de 1 a 1.2 um del extremo proximal del filamento está formado por la subunidad de 28 Kd, mientras que cerca de 5 um de la porción distal están compuestos por la subunidad de 25 Kd. Se han estudiado las flagelinas de otras cepas de Caulobacter y los resultados indican que este sistema de dos flagelinas es común entre las caulobacterias. Resultados similares se han obtenido de Bdellovibrio bacteriovorus, en donde una flagelina de 28 Kd y otra de 29.5 Kd componen al filamento del único flagelo polar envainado a una razón de 2 : 1 respectivamente. En este caso el extremo proximal lo ocupa la proteína pequeña y el distal la proteína mayor.

Las flagelinas de diferentes especies, como todo grupo de proteínas relacionadas, tienen composiciones de aminoácidos similares, aunque la composición de cada flagelina es única. Como puede apreciarse en la tabla 1, las flagelinas carecen o tienen muy pocos residuos de cisteína, triptofano, prolina e histidina. No es posible demostrar grupos sulhidrilos libres en ellas. La proporción de aminoácidos hidrofóbicos es alta. Algunos serotipos de Salmonella tienen un aminoácido inusual, la **epsilon-metil-lisina** en su flagelina. No existen diferencias significativas entre la composición de aminoácidos de los flagelos complejos y los sencillos.

Tabla 1. Composicion de aminoácidos relativa de las flagelinas de filamentos sencillos y complejos aislados de diferentes especies bacterianas.

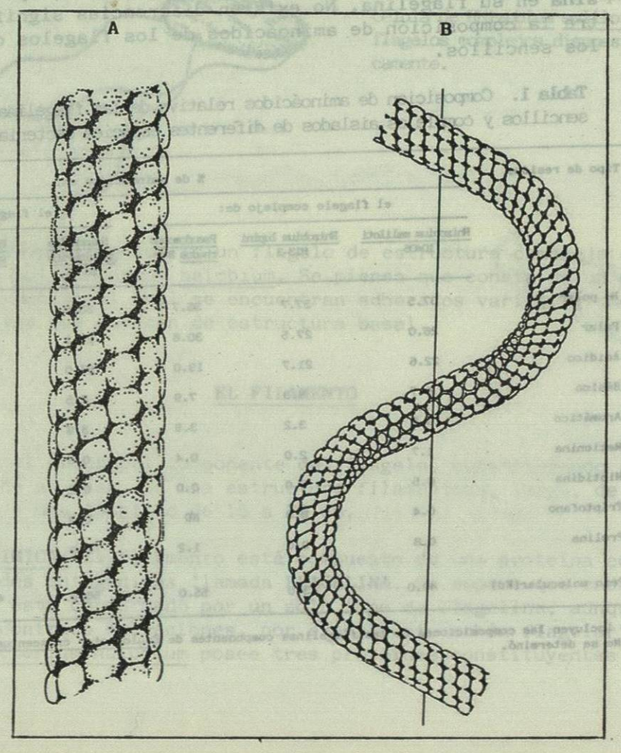
Tipo de residuo	% de aminoácidos en:						
	el flagelo complejo de:			el flagelo sencillo de:			
	Rhizobium meliloti 1040	Rhizobium lupini H13-3	Pseudomonas rhodos B-9	Salmonella typhimurium SJ 25	Bacillus subtilis 168	Caulobacter crescentus*	
No polar	37.5	37.7	36.7	33.8	34.2	21.6	30.2
Polar	26.0	27.5	30.8	25.1	20.1	36.1	33.3
Acidico	22.6	21.7	19.0	27.0	29.6	24.5	22.2
Básico	6.7	8.3	7.9	8.5	9.5	8.7	8.4
Aromático	3.6	3.2	3.9	3.9	2.0	3.7	3.6
Metionina	1.7	2.0	0.4	0.6	2.6	0.8	0.4
Histidina	0.5	0.0	0.0	0.2	1.3	2.1	0.9
Triptofano	0.4	0.0	ND	0.0	0.0	0.0	0.0
Prolina	0.8	0.0	1.2	0.9	0.7	2.5	0.9
Peso molecular(Kd)	40.0	43.0	55.0	56.0	40.0	27.9	24.8

* Se incluyen las composiciones de las flagelinas componentes de Caulobacter crescentus.
ND: No se determinó.

Los filamentos sencillos de las bacterias perítricas pueden adquirir diferentes configuraciones helicoidales al variar en unos cuantos residuos la cadena polipeptídica de la flagelina, o de acuerdo al pH, fuerza iónica de la solución o mediante fuerzas viscosas externas. Esto último hace pensar que los filamentos no son estructuras rígidas. Se conocen en total **7 morfotipos** de los cuales los más importantes son tres: **el filamento recto**, que carece de estructura helicoidal, **el filamento normal**, una hélice levógira y con una longitud de onda de 2.3 um y **el filamento rizado**, dextrógiro con una longitud de onda de 1.1 um. Los tres tipos anteriores aparecen en la figura 6.

Algunos espirilos poseen flagelos no helicoidales aunque en este caso la helicoidalidad del flagelo es sustituída por la helicoidalidad del cuerpo celular. Los axostilos aislados de Leptospira interrogans serovar illini son enrollados y tienen un diámetro helico de 0.2 um. Mutantes de esta bacteria cuyos filamentos axiales no son enrollados, son incapaces de moverse. Las células de Rhodobacter sphaeroides poseen un solo flagelo lateral bastante flexible que cuando está en reposo se encuentra completamente enrollado.

Fig.7. Ultraestructura de los filamentos rectos (A) y helicoidales (B) de Salmonella.



En los flagelos de Bdellovibrio bacteriovorus existe además del filamento una vaina cuyos principales constituyentes son fosfolípidos, proteína y lipopolisacárido (LPS). Se supone que esta "vaina" forma parte de la membrana externa de la célula, aunque contiene significativamente más fosfolípidos (54-58 % en peso, de los cuales el 89 % es fosfatidil etanolamina) y menos proteína (23-28%) que las membranas externas típicas. La gran cantidad de lípidos presentes podría conferir un alto grado de fluidez a esta vaina, lo cual podría facilitar su extensión durante el crecimiento flagelar.

CAPACIDAD DE AUTOENSAMBLARSE: Los filamentos de flagelos sencillos se disocian en sus protómeros constituyentes a valores altos o bajos de pH, por acción de la urea, guanidina o ciertos detergentes. Las moléculas de flagelina así obtenidas pueden autoensamblarse in vitro, y formar filamentos prácticamente indistinguibles de los originales. Los filamentos de flagelos complejos se disocian empleando HCl 0.1 M o urea 6 M. No ha sido posible reconstruir estos filamentos a partir de sus flagelinas constituyentes.

HELICOIDALIDAD: Los filamentos intactos son helicoidales. Esta característica es esencial para la motilidad de la célula, pues cepas mutantes que poseen flagelos rectos no son capaces de moverse. La mayoría de las bacterias flageladas poseen filamentos levógiros y se conocen pocas excepciones con filamentos dextrógiros, como las células de Halobacterium halobium, Caulobacter crescentus y Rhizobium meliloti.

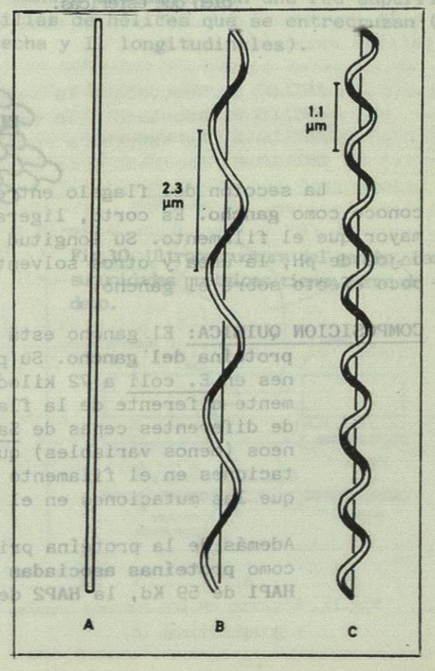



Fig.6. Diversos tipos de filamentos diferenciables morfológicamente en base a su longitud de onda y sentido del enrollamiento. Los filamentos rectos (A), los normales (B) y los rizados (C).