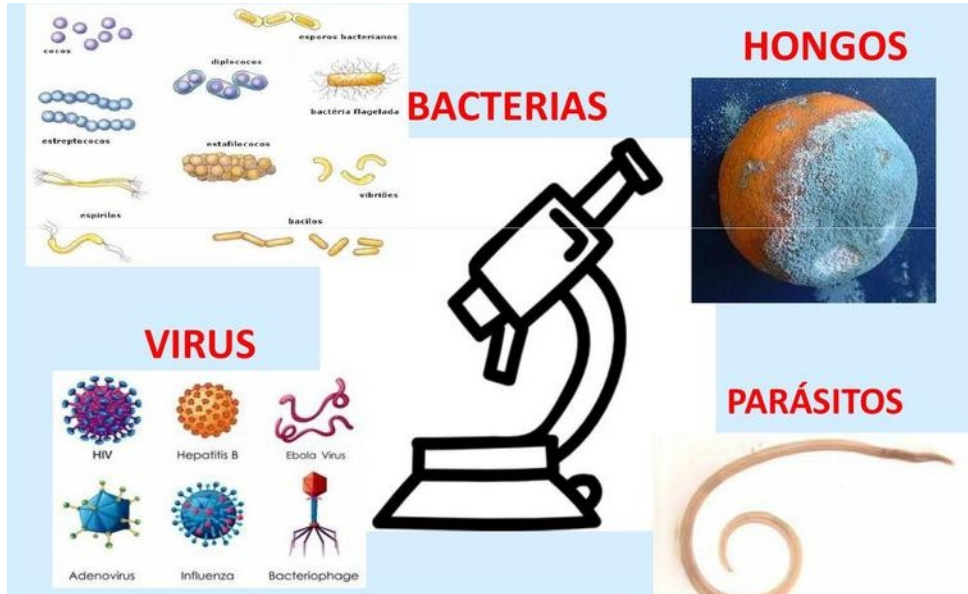


Unidad 1: Introducción al mundo de los microbios.

El mundo de los microorganismos. Descripción de los hitos históricos a lo largo de la Historia que llevan a su descubrimiento. El siglo XIX, la Edad Dorada: Refutación de teorías sobre la generación espontánea, identificación del rol de los microbios como generadores y transformadores de la biosfera y como agentes patógenos, desarrollo de los métodos y medios de cultivo modernos, desarrollo de la inmunología. El siglo XX: Desarrollo de los conceptos de quimioterapia y antimicrobioterapia, las "balas mágicas". Descubrimiento y desarrollo de los antibióticos. Rol de los microbios en el desarrollo de la Biología Molecular y la Biotecnología.

Técnicas empleadas para estudiar los MO



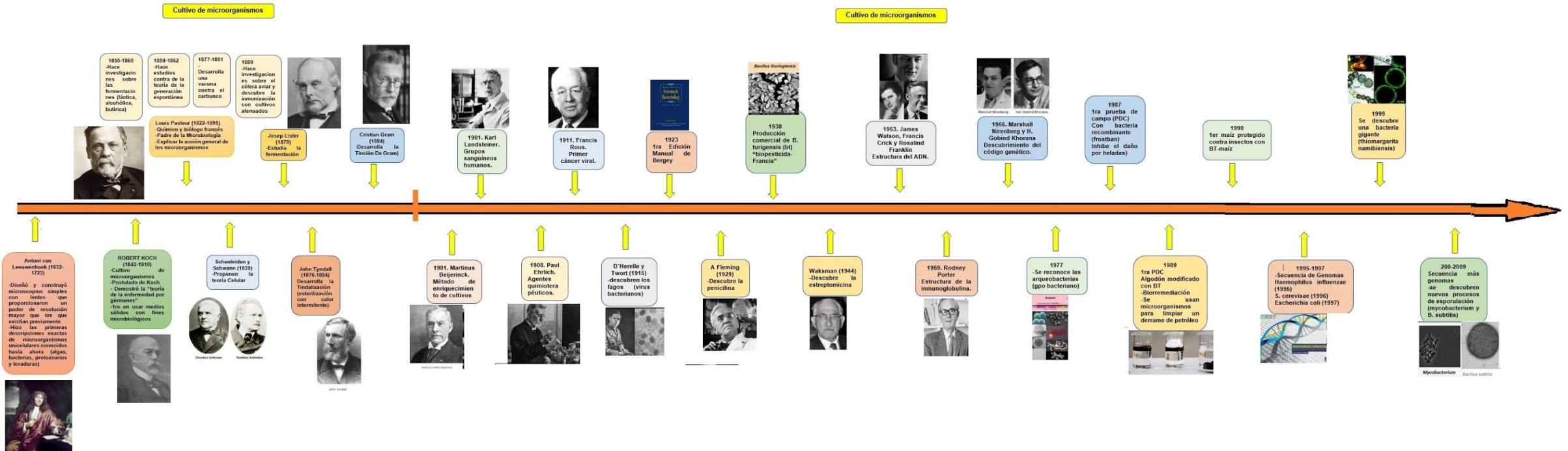
1. Observación de los microorganismos: microscopia (segundo período)
2. Cultivo e Identificación (tercer período)

Se requiere emplear técnicas para observar, aislar, cultivar, identificar los microorganismos. El desarrollo de las mismas determinó el avance de esta ciencia.

Línea del tiempo en la historia de la microbiología

Historia de la Microbiología

EVOLUCIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA



La línea de tiempo de la microbiología es una representación cronológica, histórica de los principales hitos y descubrimientos en el campo de la microbiología desde la antigüedad hasta nuestros tiempos.

Etapas o períodos en el desarrollo de la Microbiología

- 1. Primer periodo**, eminentemente **especulativo**, que se extiende desde la antigüedad hasta llegar a los primeros microscopistas. Se intuía la existencia de "*Criaturas invisibles*" como responsables de enfermedades infecciosas y en alimentos fermentados.. ?
- 2. Segundo periodo**, de lenta acumulación de **observaciones** (desde 1675 -hasta la mitad del siglo XIX), que arranca con el descubrimiento de los microorganismos por Leeuwenhoek (1675)
- 3. Tercer periodo**, de cultivo de microorganismos, que llega hasta finales del siglo XIX, donde las figuras de Pasteur y Koch encabezan el logro de cristalizar a la Microbiología como ciencia experimental bien asentada.
- 4. Cuarto periodo** (desde principios del siglo XX hasta nuestros días), en el que los microorganismos se estudian en toda su complejidad fisiológica, bioquímica, genética, ecológica, etc.,

Período especulativo: hasta el descubrimiento del microscopio

- Las actividades de los MO son conocidas por la humanidad desde tiempos muy antiguos, tanto las beneficiosas, representadas por las fermentaciones implicadas en la producción de bebidas alcohólicas, pan y derivados lácteos, como las perjudiciales, en forma de enfermedades infecciosas.
- Diversas fuentes escritas de la antigüedad griega y romana hablan de gérmenes invisibles que transmiten enfermedades contagiosas. Lucrecio (96-55 a.C.), en su “De rerum natura” hace varias alusiones a “**semillas de enfermedad**”.
- En el Renacimiento europeo, Girolamo Frascatoro, en su libro “De contagione et contagionis” (1546) dice que las enfermedades contagiosas se deben a “**gérmenes vivos**” que pasan de diversas maneras de un individuo a otro. Pero la “cosa” que se transmite en la enfermedad siguió siendo objeto de conjeturas durante mucho tiempo.

Los microorganismos

Primeros y únicos habitantes de la Tierra durante billones de años, pero recién descubiertos hacia fines del siglo XVII. ¿Por qué?

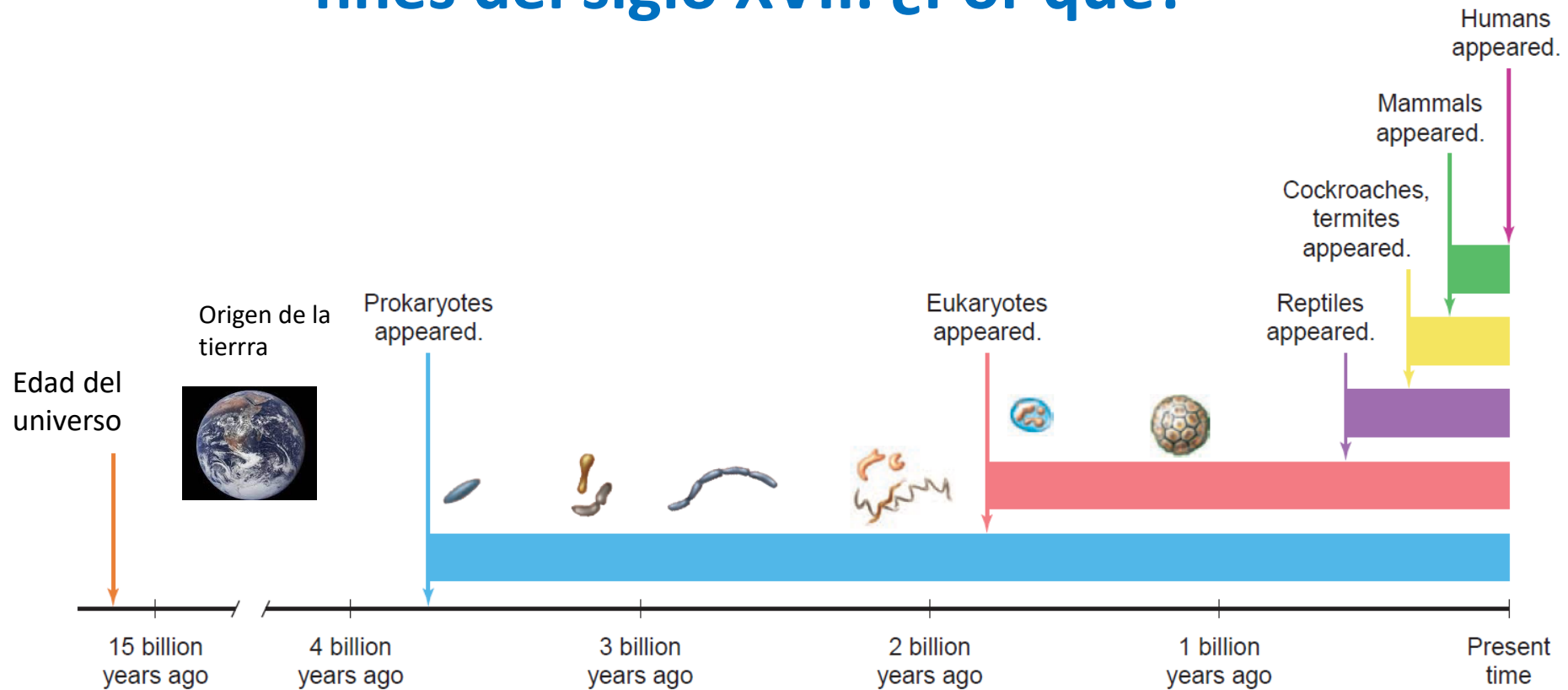
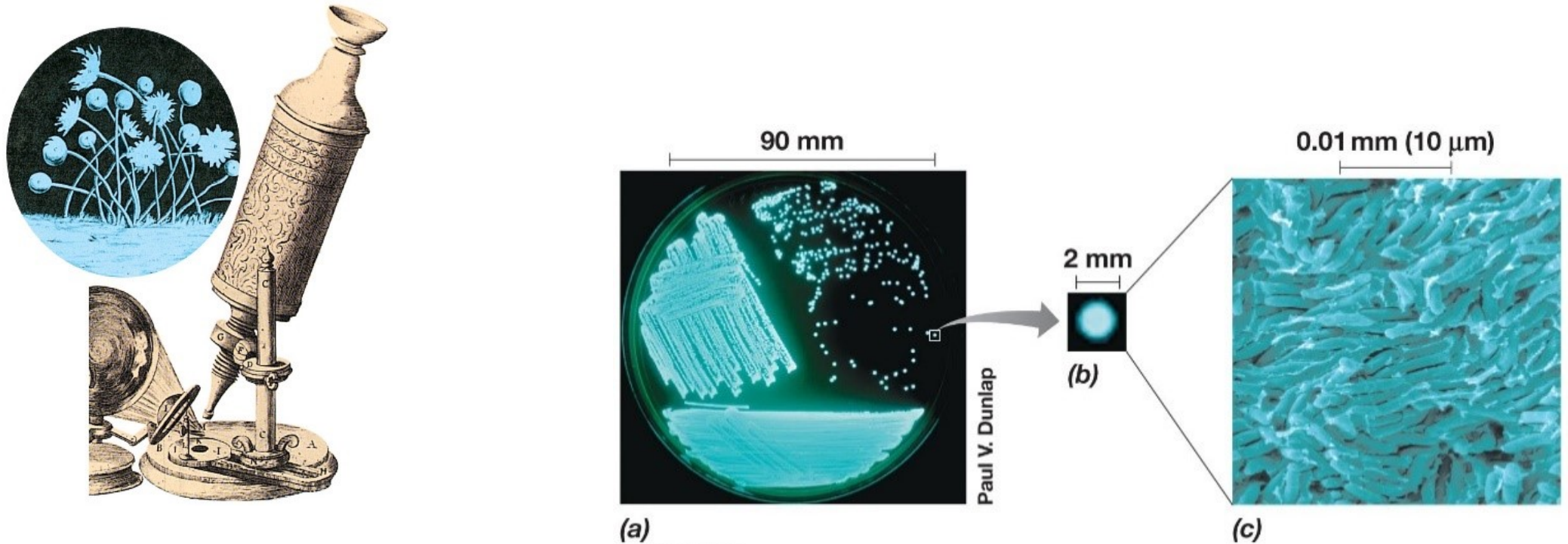


Figure 1.1 Evolutionary time line. The first simple prokaryotes appeared approximately 3.5 billion years ago. They were the only form of life for half of the earth's history.

Mas allá de lo que ven los ojos... Descubrimiento ligado al de la lupa y el microscopio



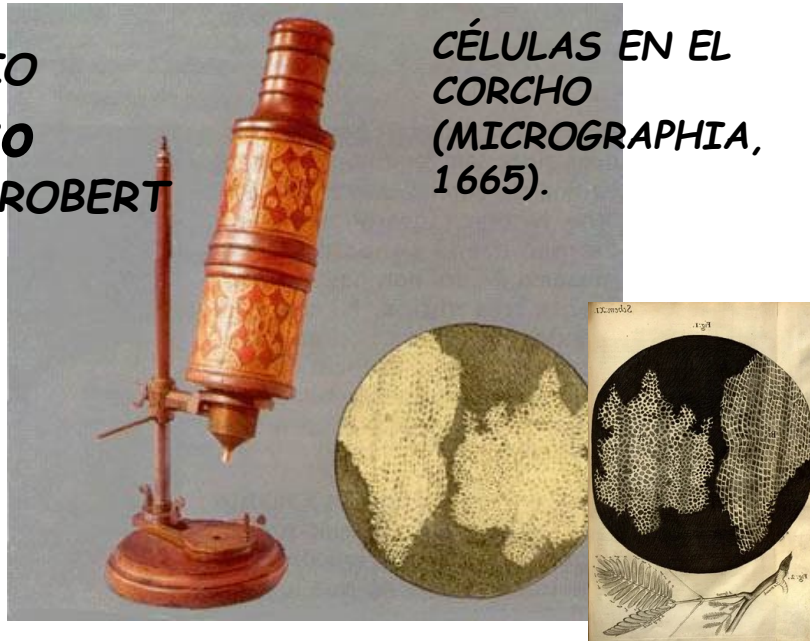
El microscopio es la herramienta más antigua y fundamental del microbiólogo

ROBERT HOOKE 1635-1703: Describió las células

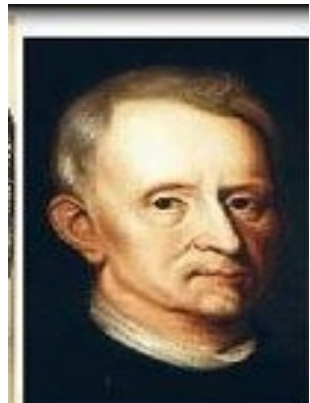
Usando microscopios compuestos, describió los hongos filamentosos (1667), y descubrió la estructura celular de las plantas (Micrographia, 1665), acuñando el término célula.

“Micrographia”, el primer best seller científico de la historia

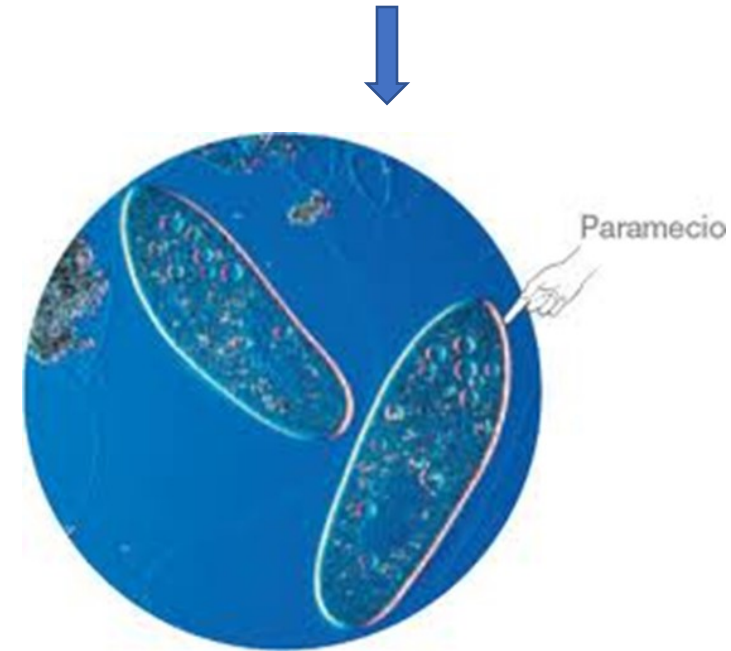
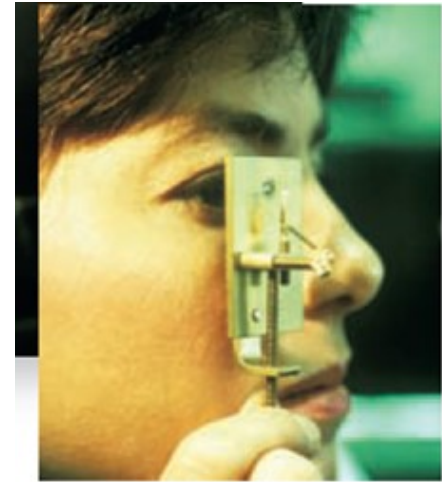
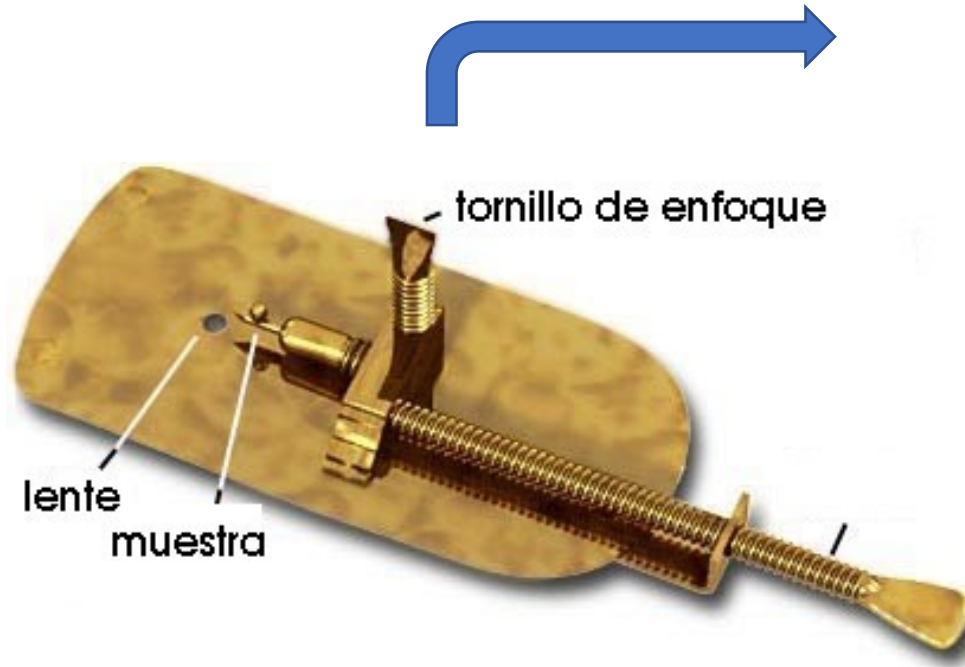
**MICROSCOPIO
compuesto
USADO POR ROBERT
HOOKE**



Postula: Todos los seres vivos están compuestos por una estructura mínima de celdas o células *nace la “Teoría Celular” mundo microscopico*



Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723)- Observó por primera vez las bacterias

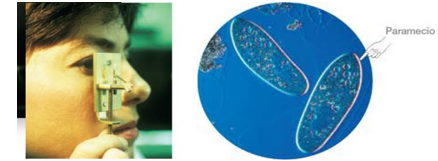
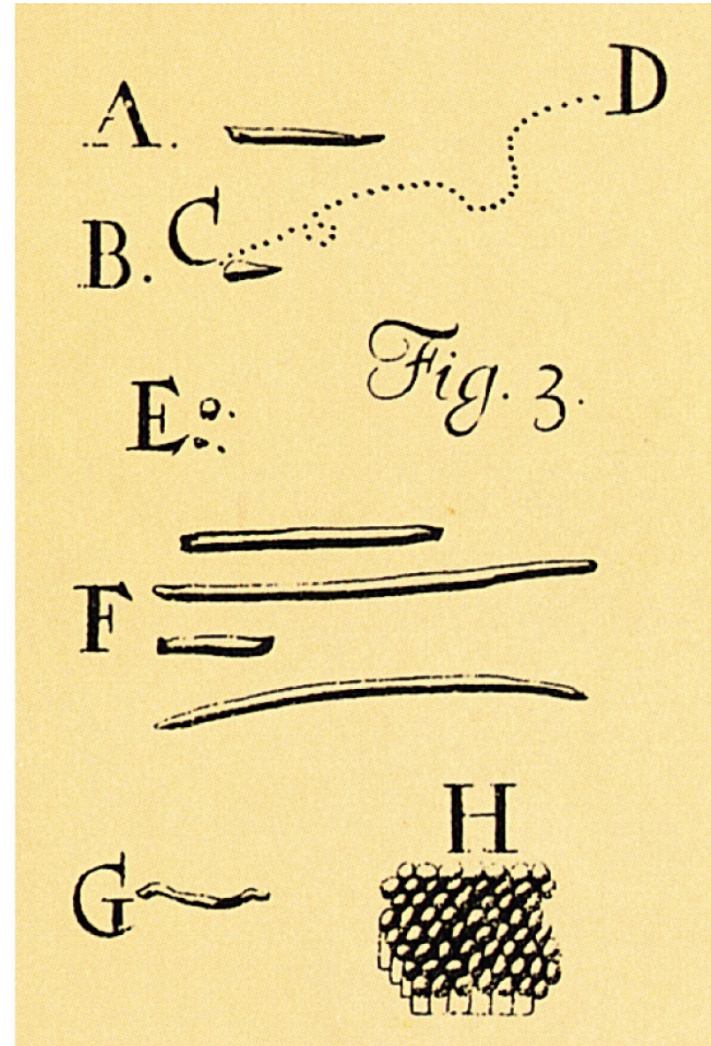


Construyó como entretenimiento diminutas lentes biconvexas montadas sobre platinas de latón, que se sostenían muy cerca del ojo. Mundo microbiano

No visibles al ojo humano

Los Animáculos de Van Leeuwenhoek dibujados tras observarlos con una amplificación de aprox. 300x

En las gotas de agua comenzó a ver lo que él llamó animáculos. Eran pequeños seres con vida de diminuto tamaño que se movían por el agua.



Sentó las bases del Microscopio óptico

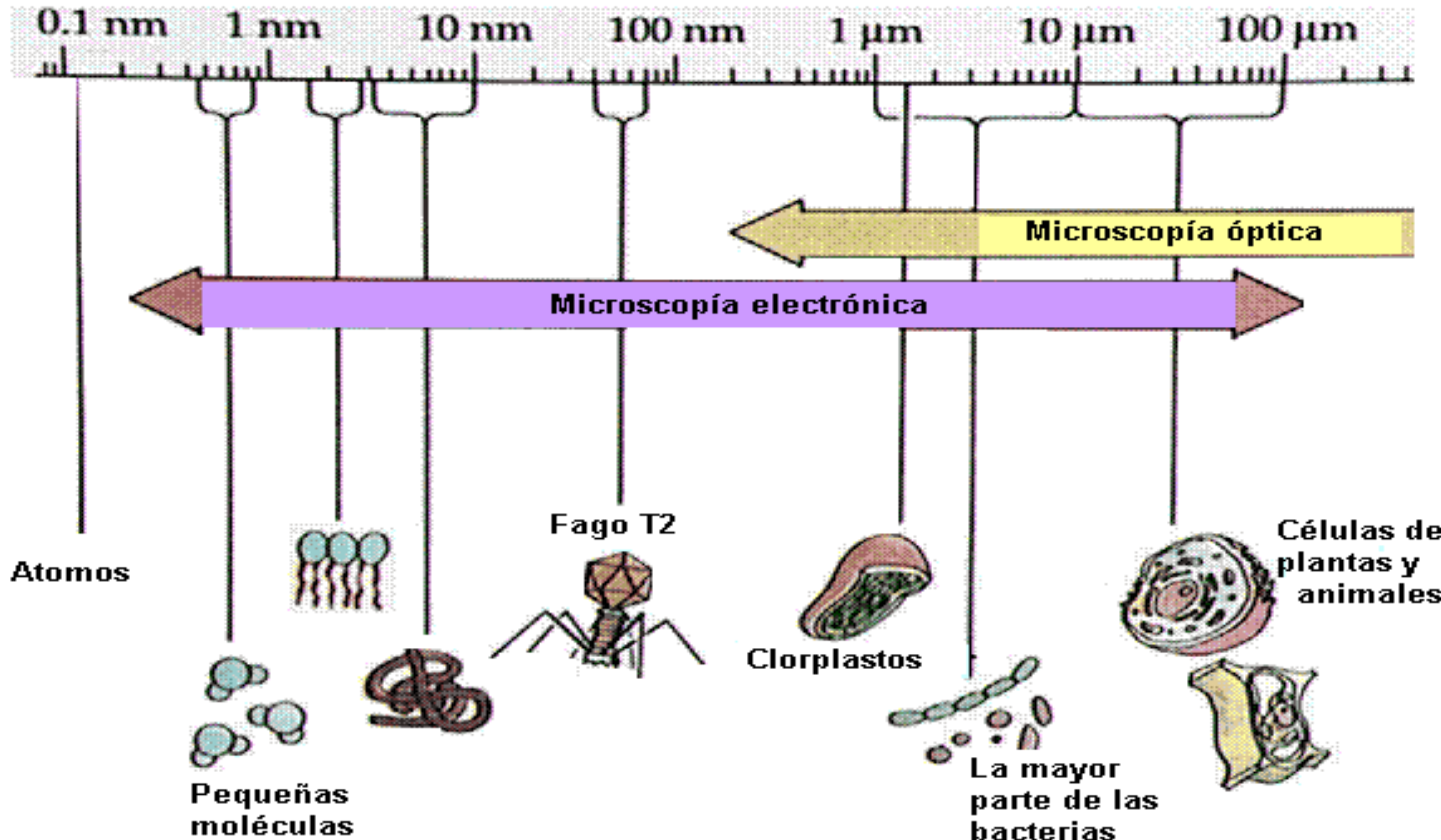
Microscopios de hoy



Los microscopios y mejoras del poder resolutivo



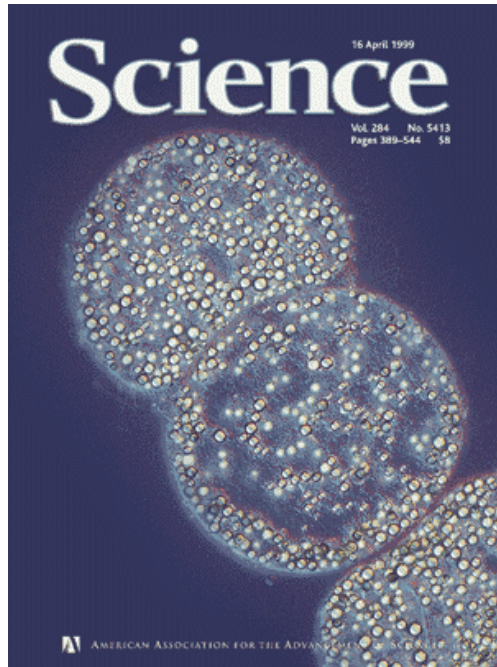
El poder de resolución del ojo humano es de 200 μm



El poder de resolución, es la medida de la capacidad para distinguir un objeto de otro; es la distancia mínima que debe haber entre dos objetos para que sean percibidos como objetos separados

Observación de microorganismos

Oscillatoria (a cyanobacterium)
8 × 50 μm



- Son más pequeñas que las células eucariotas
- Pero existen bacterias
 - Gigantes (500 μm)
 - Enanas (<0,1 μm)

Bacillus megaterium
1.5 × 4 μm



Escherichia coli
1 × 3 μm



Streptococcus pneumoniae
0.8 μm diameter



Haemophilus influenzae
0.25 × 1.2 μm



Thiomargarita namibiensis

Microbios muy grandes



Heide Schulz-Vogt

Más grandes que
Células eucariotas



Esther R. Angert, Harvard University

Epulopiscium fishelsoni



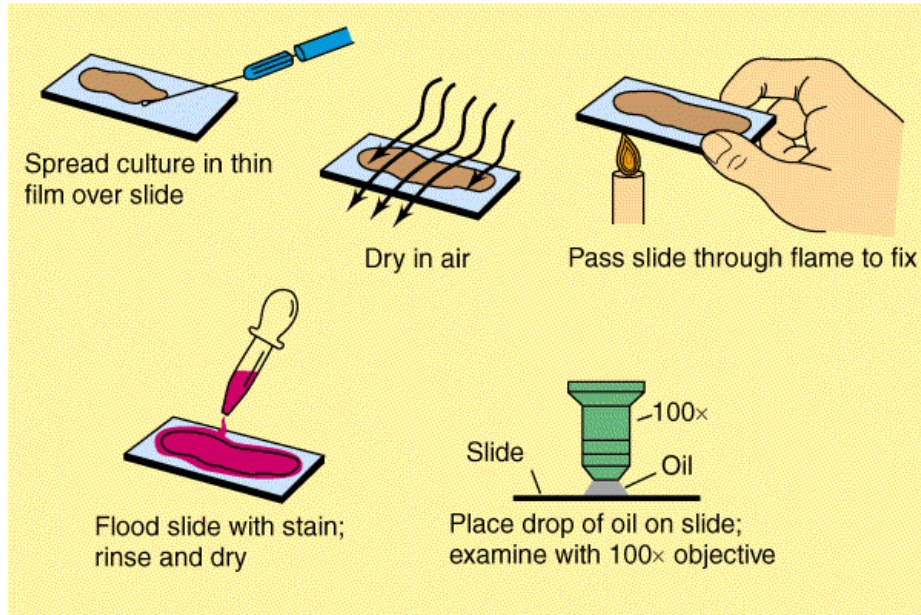
Angert in Zinder & Dworkin 2006 The Prokaryotes

Observación de los microorganismos

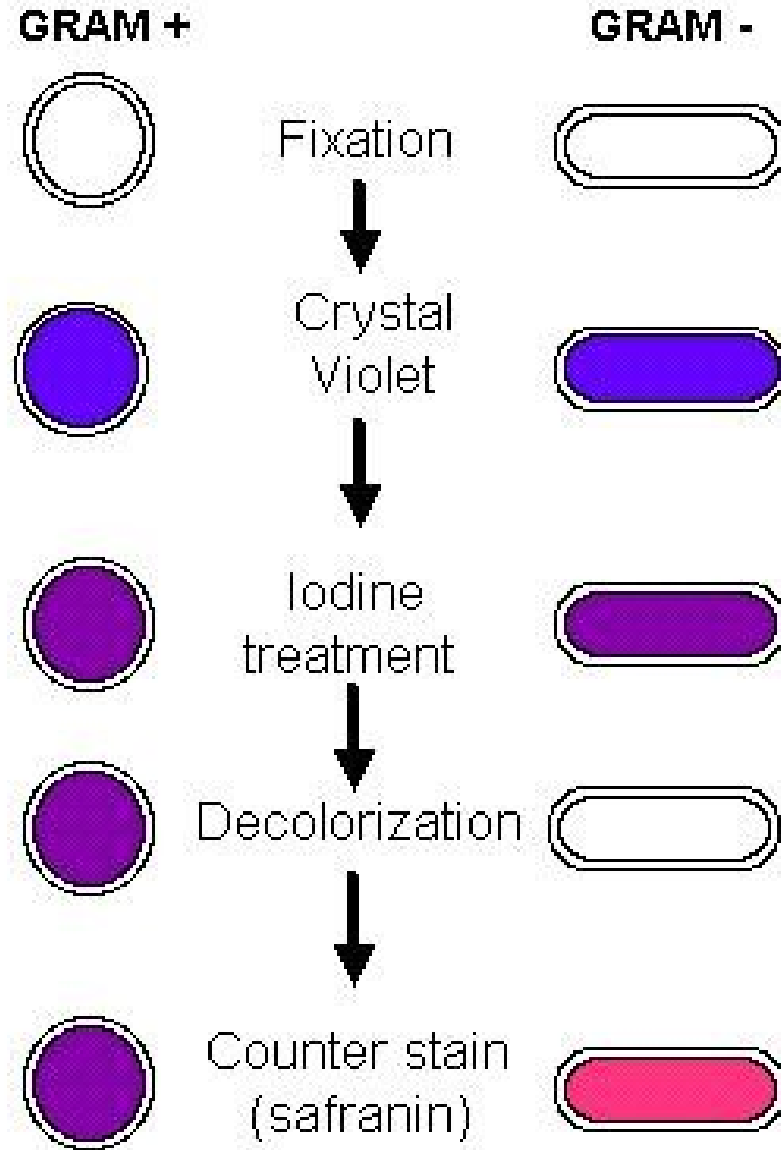
- Las células son pequeñas, incoloras y translúcidas.
- Microscopio óptico resolución 0,1- 0.2 μ m
- Se utilizan tinciones para observar bacterias en el microscopio de luz para mejorar el contraste
- Ejemplo: tinción Gram
 - Las células responden a los colorantes de acuerdo a la complejidad y composición de su pared celular.
 - Hay bacterias Gram +, Gram – o Gram variable (menos común)
 - Existen otras tinciones especiales
 - Tinciones específicas para hongos y protistas



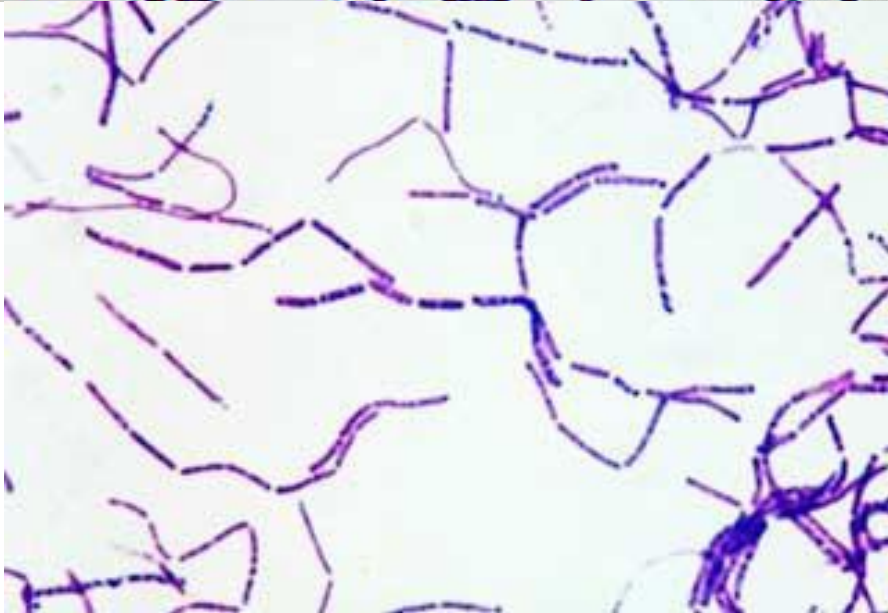
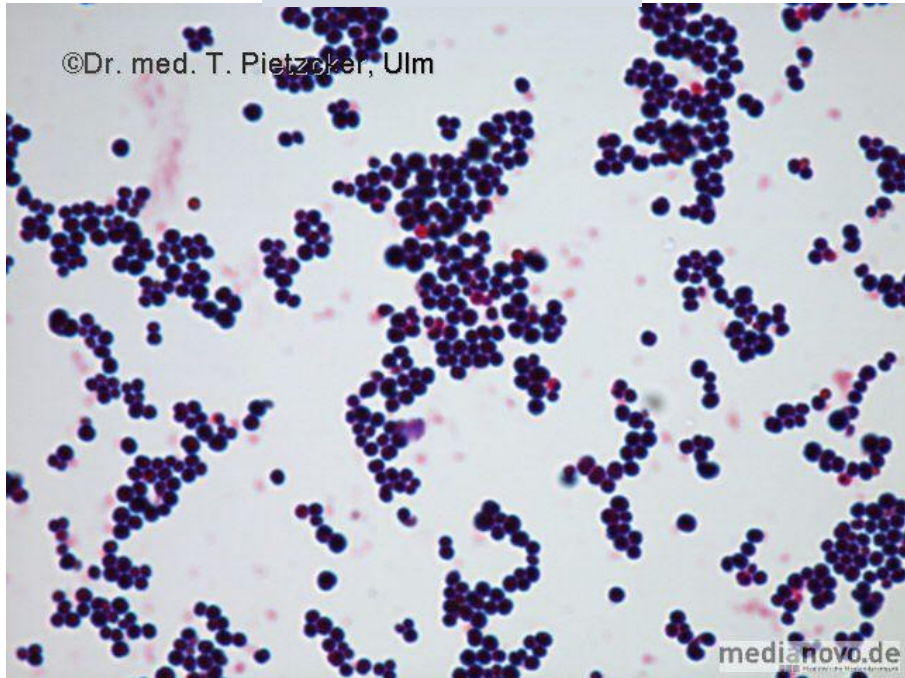
Tinción de Gram



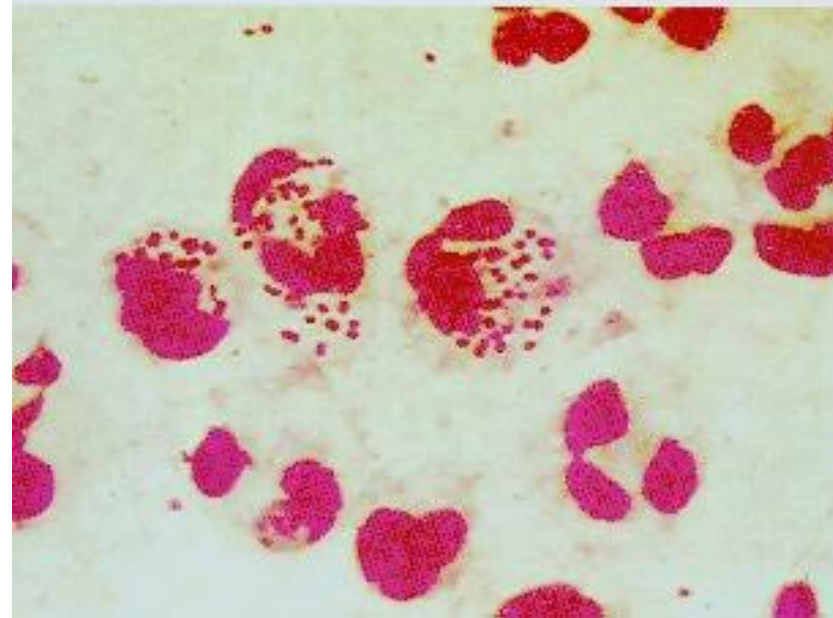
Técnicas que mejora la observación colorantes



Bacterias Gram +



Bacterias Gram -

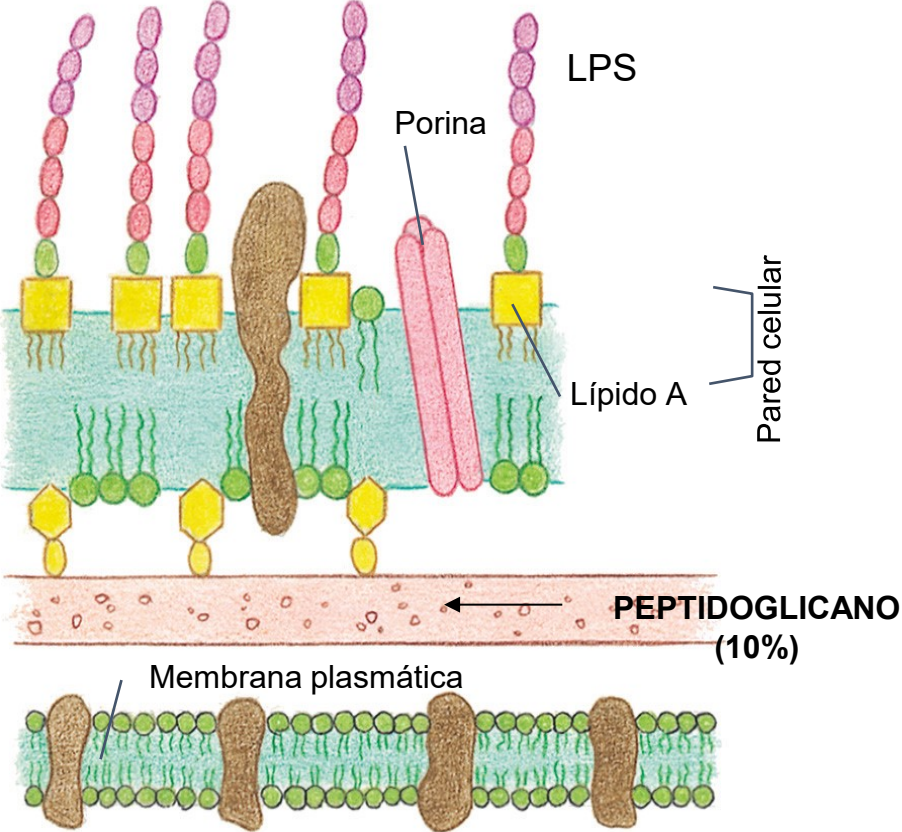
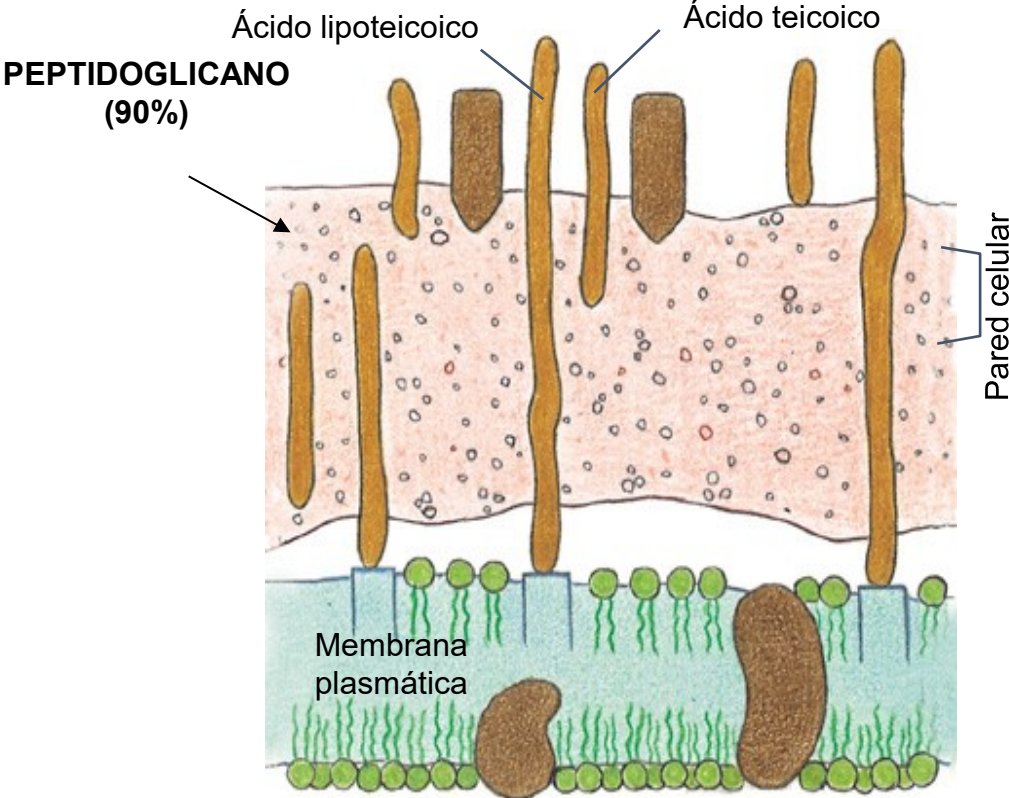


Tinción basada en la estructura de la pared

TIPOS DE PARED:

GRAM POSITIVAS (retienen el cristal violeta)

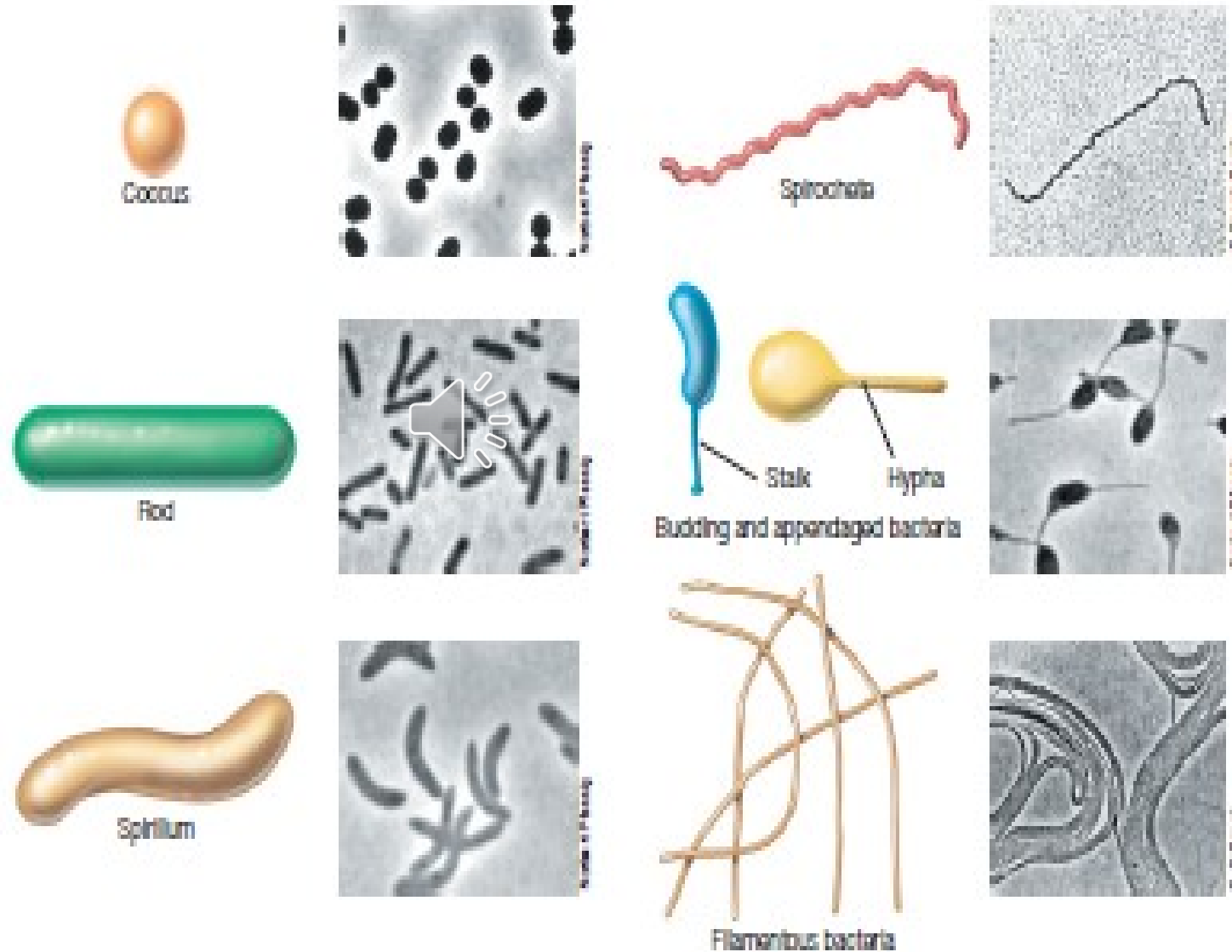
GRAM NEGATIVAS (no retienen el cristal violeta)



Morfología bacteriana: Formas y arreglos celulares

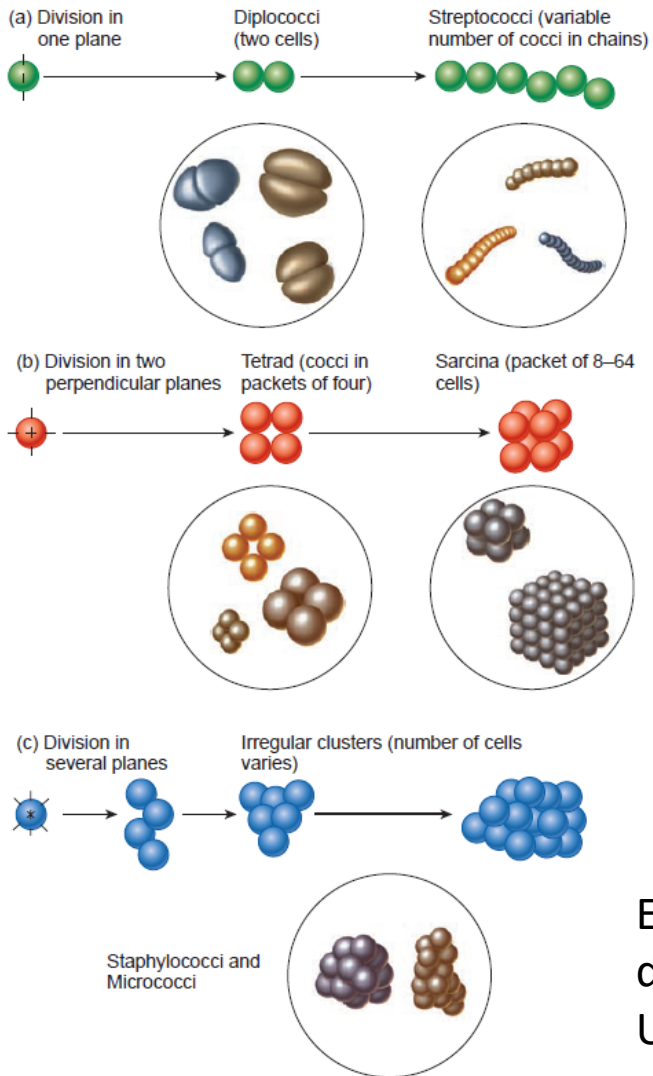
- **Formas**

- Bacilos
- Cocos
- Espirilos
- Vibrio (coma)
- Cuadrados
- Estrellas
- filamentosas



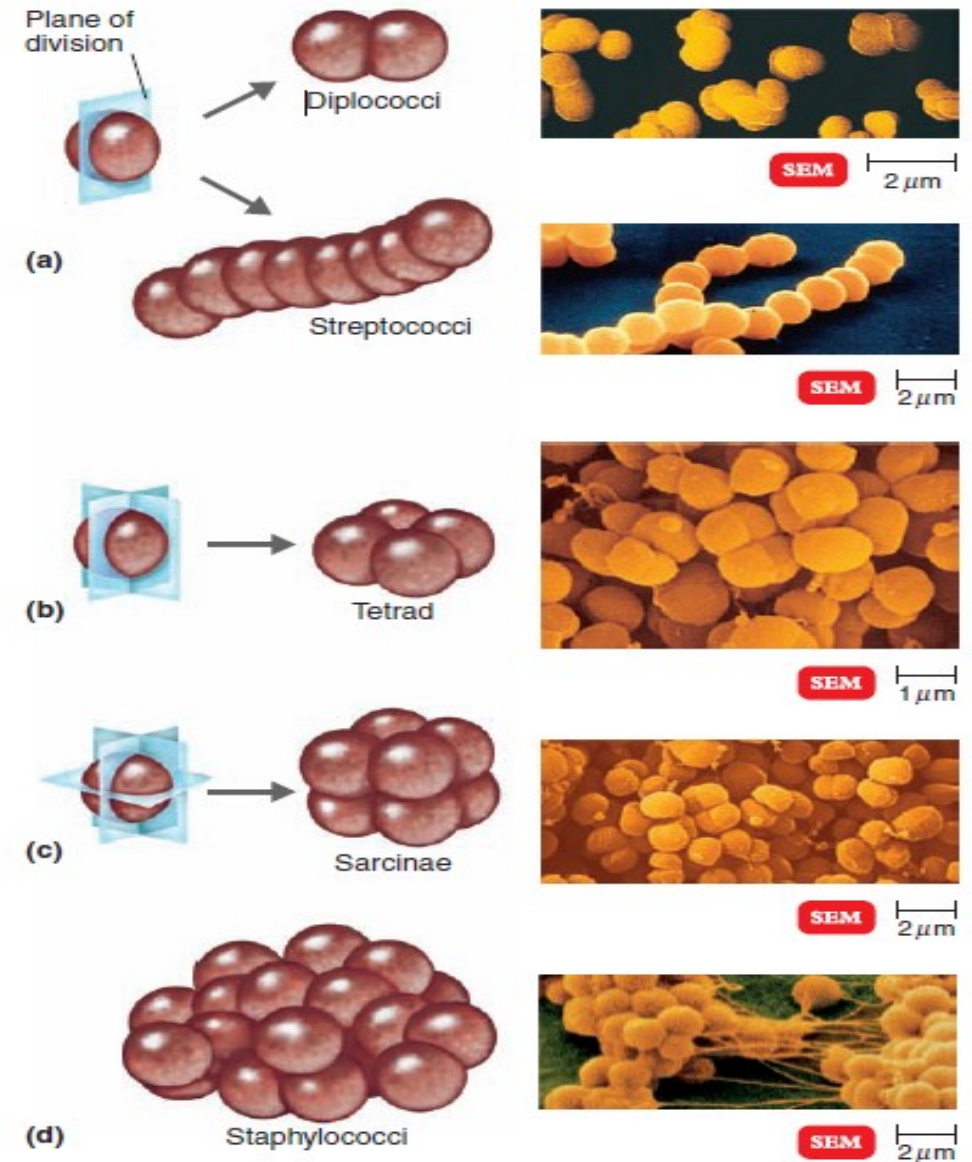
Esta determinada genéticamente y en general son monomorfas

Agrupaciones bacterianas: relación con la división celular



- **Arreglos:**
 - individuales
 - Pares
 - Tétadras
 - Octadas
 - Cadenas
 - Paquetes

En algunas especies luego de la división las hijas pueden permanecer Unidas entre si.



Multicelularidad en bacterias: células asociadas de forma permanente

Actinomicetos



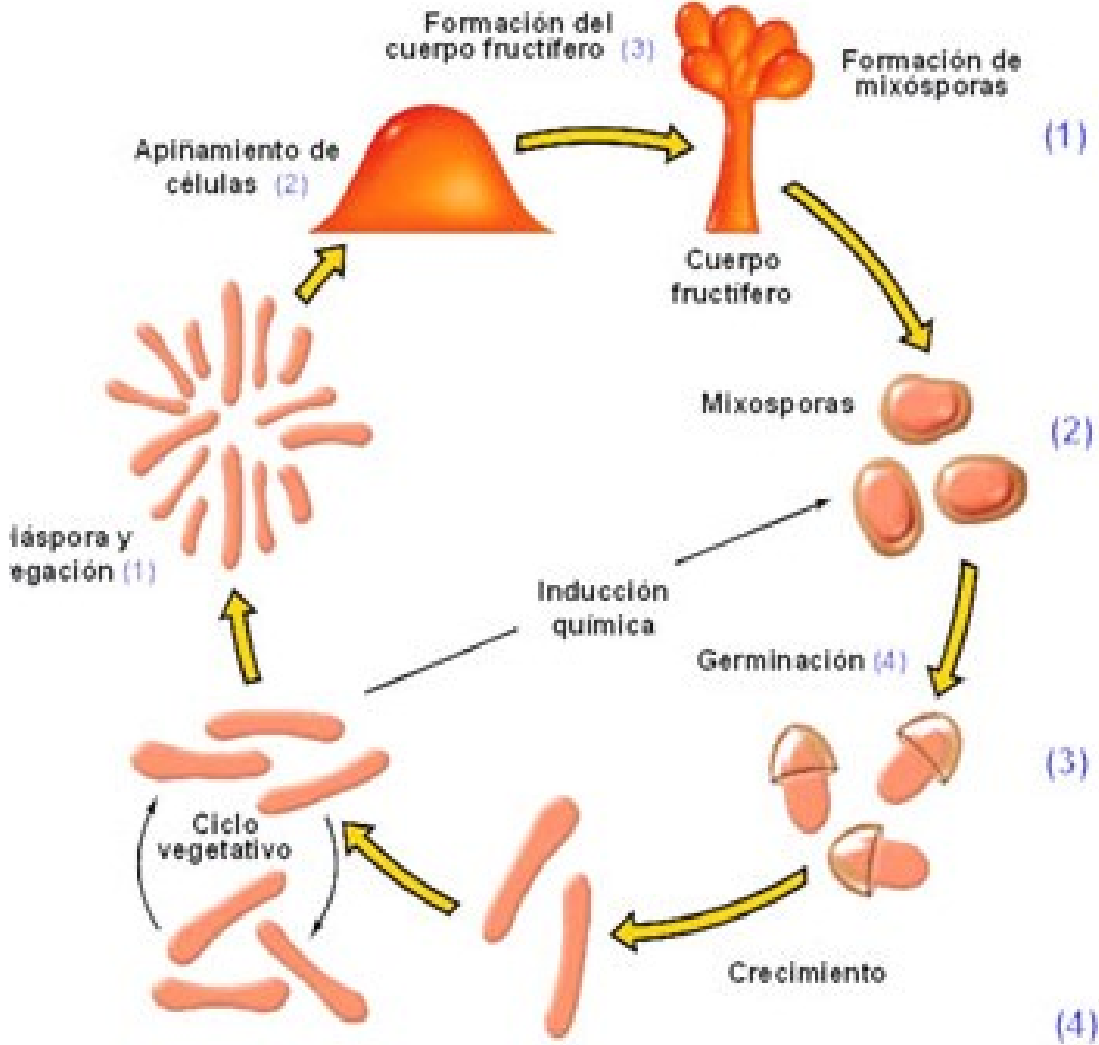
Filamentos de cianobacterias

Puentes de unión entre células y los heterocistos .
Permiten la comunicación intercelular

Cuerpos circulares de *Thermus* rodeados de pared

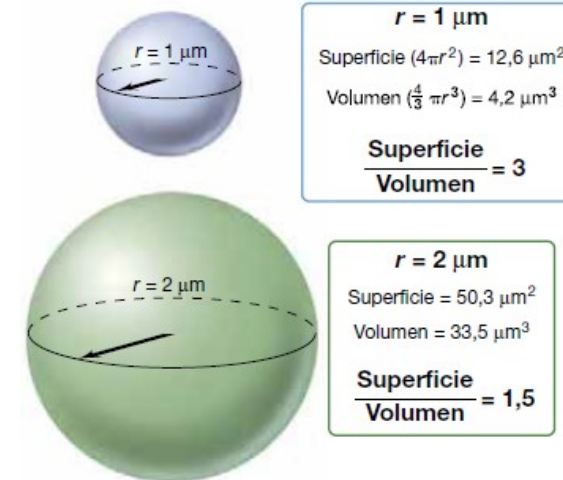


Pluricelularidad (incipiente): *Myxococcus*

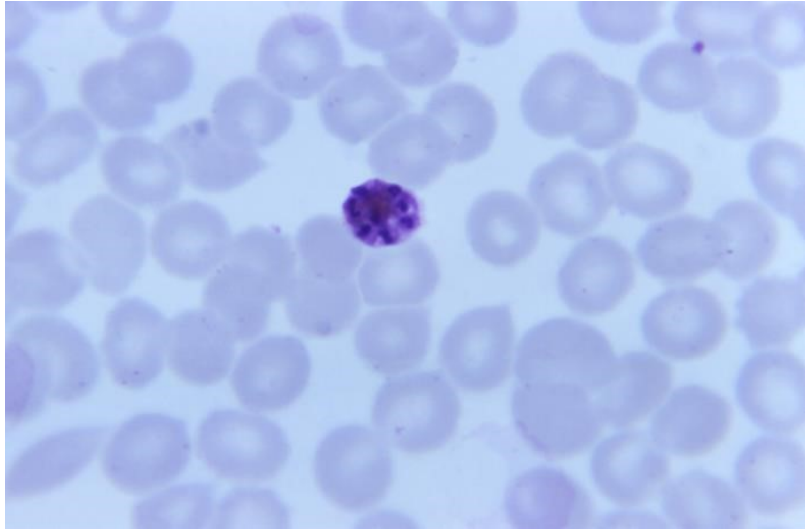


La forma no es trivial... es una característica dirigida genéticamente y ha evolucionado para maximizar la aptitud para la especie en un en particular hábitat.

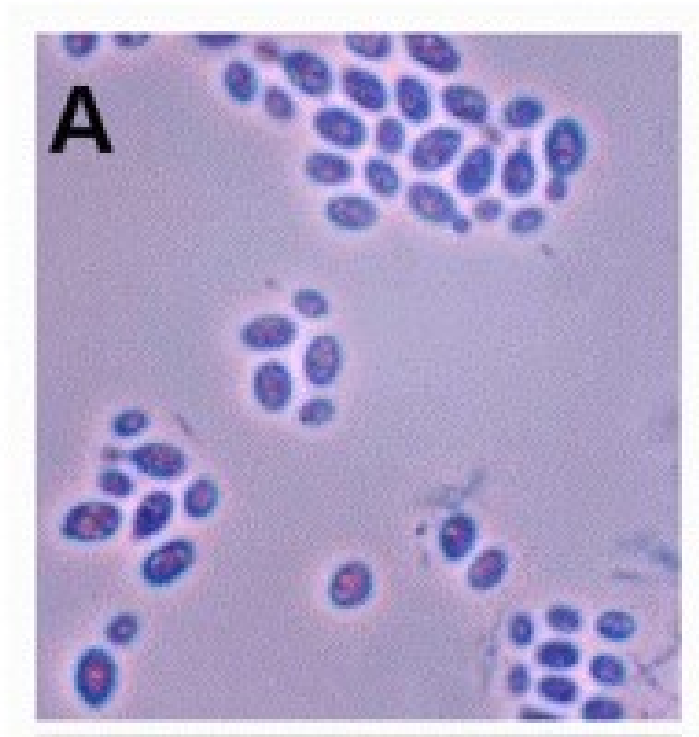
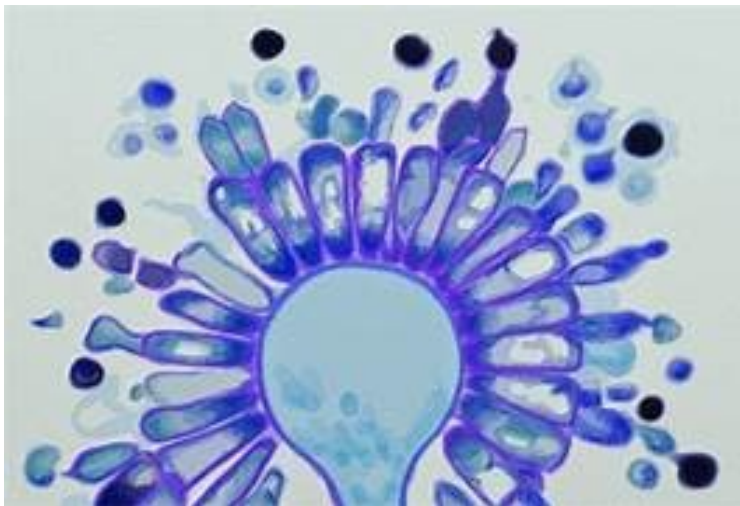
Relación entre la forma y el modo de vida de las bacterias		
Cocos	Bacilos	Espirilos y vibrios
<p>- Forma redondeada.</p> <p>- Poca relación con el exterior.</p> <p>- Viven en medios ricos en nutrientes.</p> <p>- Se transmiten por el aire.</p> <p>- Muy resistentes.</p> <p>- Suelen ser patógenas.</p> <p>S/V aprox 5.8</p>	<p>- Forma alargada, cilíndrica</p> <p>- Obtienen nutrientes de manera más eficaz.</p> <p>- Viven en medios pobres en nutrientes (suelos, aguas).</p> <p>- Menos resistentes.</p> <p>- Suelen ser saprofitas.</p> <p>S/V de alrededor de 10</p>	<p>- Forma de hélice.</p> <p>- Viven en medios viscosos.</p> <p>- Pequeño diámetro.</p> <p>- Atraviesan fácilmente las mucosas.</p> <p>- Patógenas por contacto directo o mediante vectores.</p> <p>S/V e 16</p>



Tinciones para protistas y hongos



isi3n de *Plasmodium malariae* con la tinci3n de Giemsa (azul oscuro). Se pueden ver hasta 8 merozoitos dentro de la c3lula infectada.



Im3genes de levaduras (*Saccharomyces*). (A) Extensi3n en un portade c3lulas de lavadura teñidas con azul de metileno;

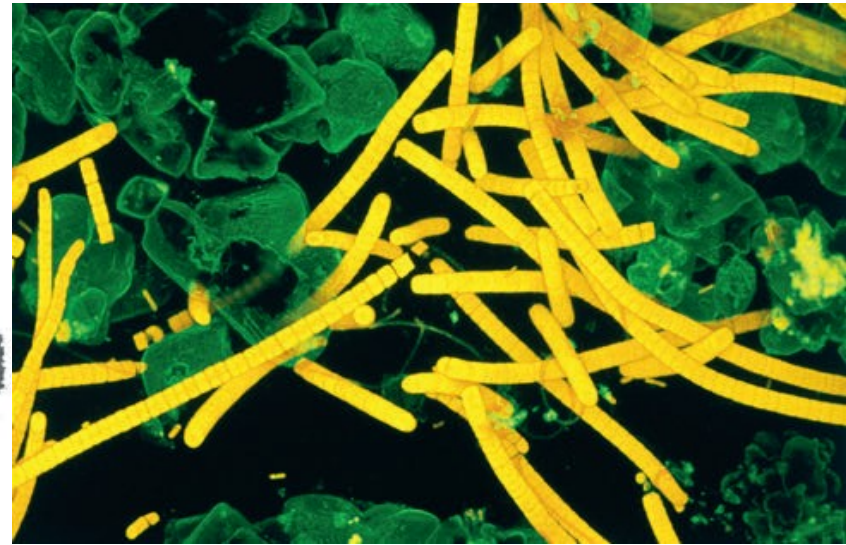
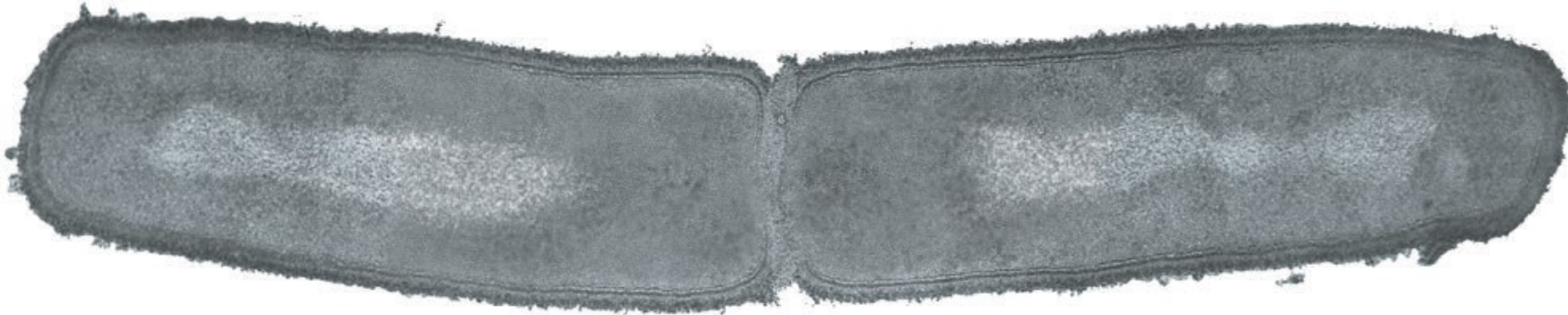
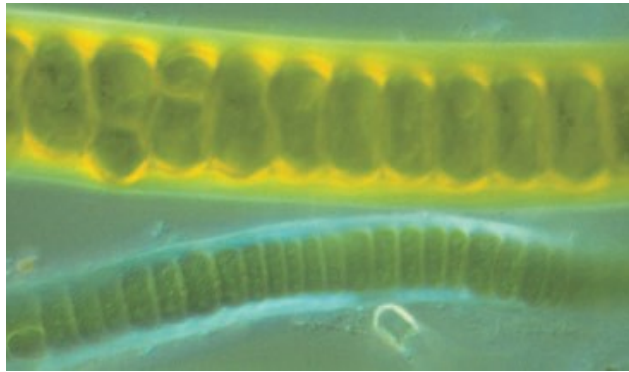
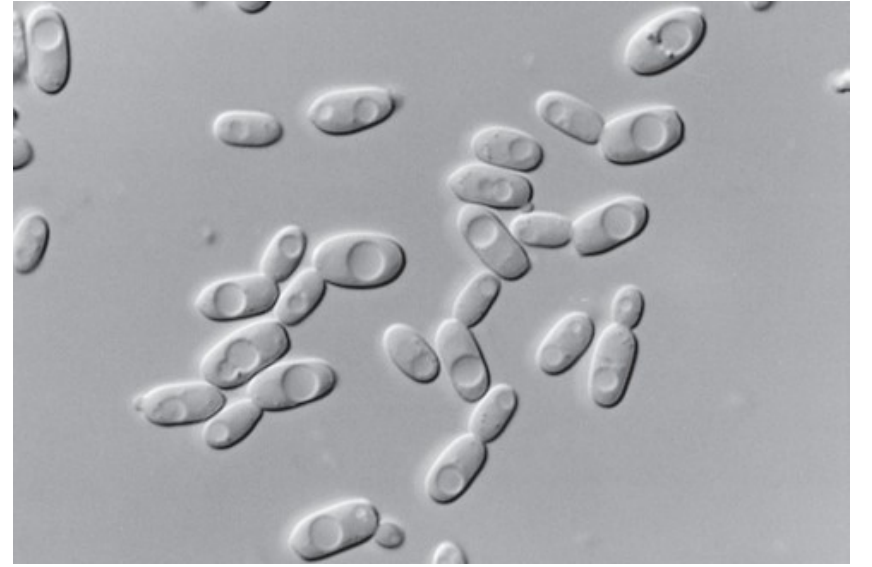
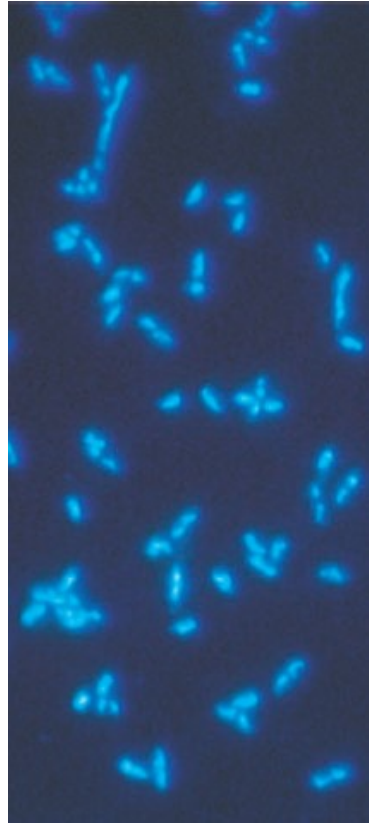
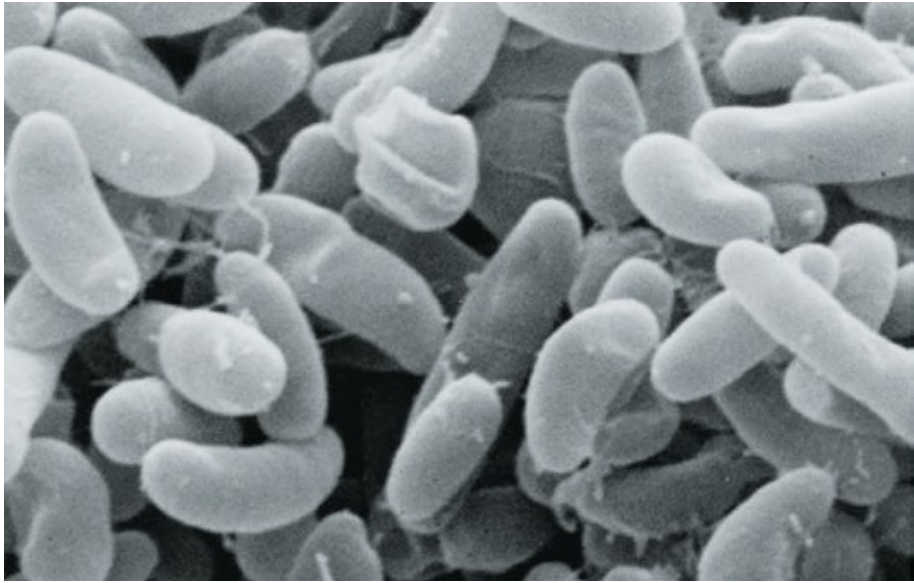
Azul de algod3n para teñir hongo ..en este caso *Aspergillus*

Técnicas utilizadas para incrementar el rango de resolución

Microscopio de campo oscuro.
Microscopio de contraste de fases.
Microscopio de luz ultravioleta.
Microscopio de fluorescencia.
Microscopio de polarización.
Contraste diferencial
Microscopia confocal
Microscopía de dos fotones
Microscopia de alta resolución

Microscopio electrónico resolución es de 0.2nm

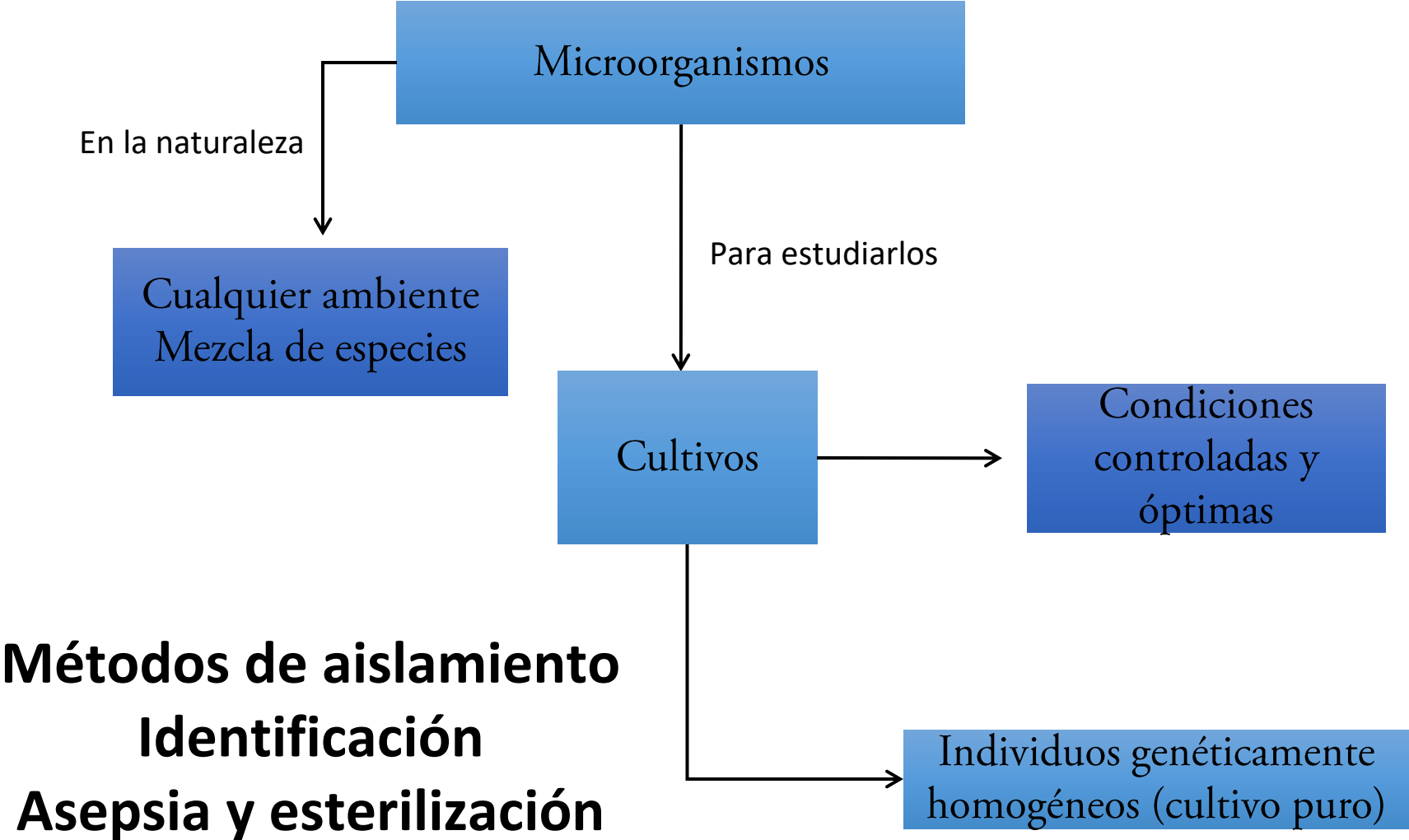
Transmisión electrónica
Microscopia por escaneo electrónico



Técnicas empleadas para el estudio de los MO

1. Observación de los microorganismos: microscopia
2. Cultivo e Identificación: desarrollo de las técnicas asépticas, esterilización, medios de cultivo, cultivos puros, técnicas de enriquecimiento, identificación de los agentes patógenos, diversidad microbiana
3. Técnicas moleculares

Métodos de estudio de los MO



Cultivo de microorganismos e identificación

- Se requiere de un medio para obtener la proliferación artificial de los MO.
- Debe tener nutrientes adecuados.
- Condiciones de crecimiento óptimas: T, pH, O₂ (aerobio, anaerobio) técnicas asépticas, obtención de cultivo puro, pruebas bioquímicas
- La población de los MO que han sido estudiados es baja, la mayoría son no cultivables
- **Obtención de cultivos puros**
- **Establecimiento de las técnicas asépticas**

Los avances importantes en técnicas de cultivo microbiano se produjeron en el siglo XIX.

Etapas o períodos en el desarrollo de la Microbiología

1. **Primer periodo**, eminentemente **especulativo**, que se extiende desde la antigüedad hasta llegar a los primeros microscopistas.
2. **Segundo periodo**, de lenta acumulación de observaciones (desde 1675 -hasta la mitad del siglo XIX), que arranca con el descubrimiento de los microorganismos por Ho Leeuwenhoek (1675).
3. **Tercer periodo**, de cultivo de microorganismos, que llega hasta finales del siglo XIX, donde las figuras de Pasteur y Koch encabezan el logro de cristalizar a la Microbiología como ciencia experimental bien asentada.
4. **Cuarto periodo** (desde principios del siglo XX hasta nuestros días), en el que los microorganismos se estudian en toda su complejidad fisiológica, bioquímica, genética, ecológica, etc.

Grandes controversias del siglo XIX....

Hasta aquí la humanidad conoce las actividades microbianas sin saber nada de los MO
..después del microscopio se plantearon las preguntas:

- (1) ¿Ocurre la generación espontánea?
- (2) ¿Cual es la relación entre las transformaciones que sufren las infusiones y los gérmenes que crecen en ellas? Porque se pudren las bebidas e infusiones
- (3) ¿Cuál es la naturaleza de las enfermedades infecciosas? **¿Teoría de los humores, Castigo divino?**

Las respuestas a estas preguntas fundamentales surgieron del trabajo de dos investigadores muy importantes en el campo de la microbiología: los franceses Louis Pasteur y el médico alemán Robert Koch. Desarrollo del método científico.

11-La disputa sobre la generación espontánea

- ▶ La hipótesis de que los organismos vivos se derivan de la materia no viva se llama la **generación espontánea (abiogénesis)**. De acuerdo a la generación espontánea, una "fuerza vital" forma la vida.
- ▶ La hipótesis alternativa, que los organismos vivos se derivan de vida preexistente, se llama la **biogénesis**.

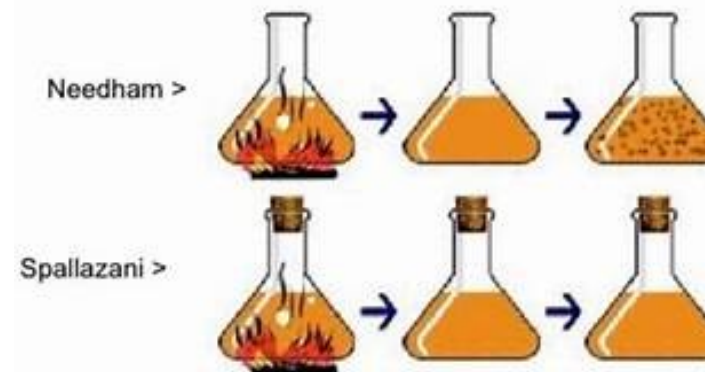


DEFENSORES DE LA TEORIA GENERACIÓN ESPONTÁNEA

-Aristóteles
-John Needham (1731)
-Felix Archimede Pouchet (1859)

DEFENSORES DE LA BIOGENESIS

-Francesco Redi (1626 –1698)
-Lázaro Spallanzani (1729-1799)
-Jhon Tyndall (1820-1893)
-Louis Pasteur (1822-1895)



Los experimentos se interpretan erróneamente (Needham) como que al calentar los frascos el aire pierde su "fuerza vital" (vitalismo

La disputa sobre la generación espontánea

- Francesco Redi (1626-1697): el principal opositor de la generación espontánea realizó experimentos que descartan la generación espontánea de animales
- Y postulo
 - *“Omne vivo ex ovo” todo ser vivo precede de otro ser vivo*

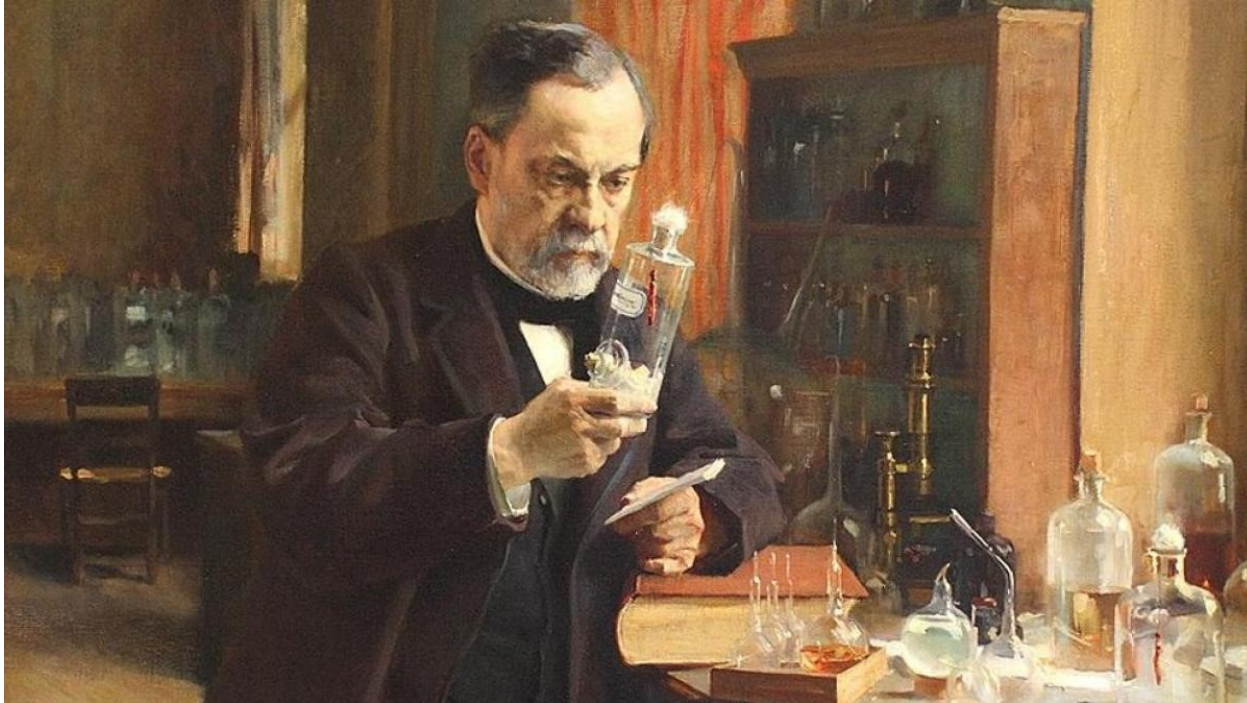


Mostró que los gusanos que aparecían sobre la carne en descomposición provenían de huevos de moscas.

Faltaba aire fresco?

Pasteur y la polémica sobre la generación espontánea

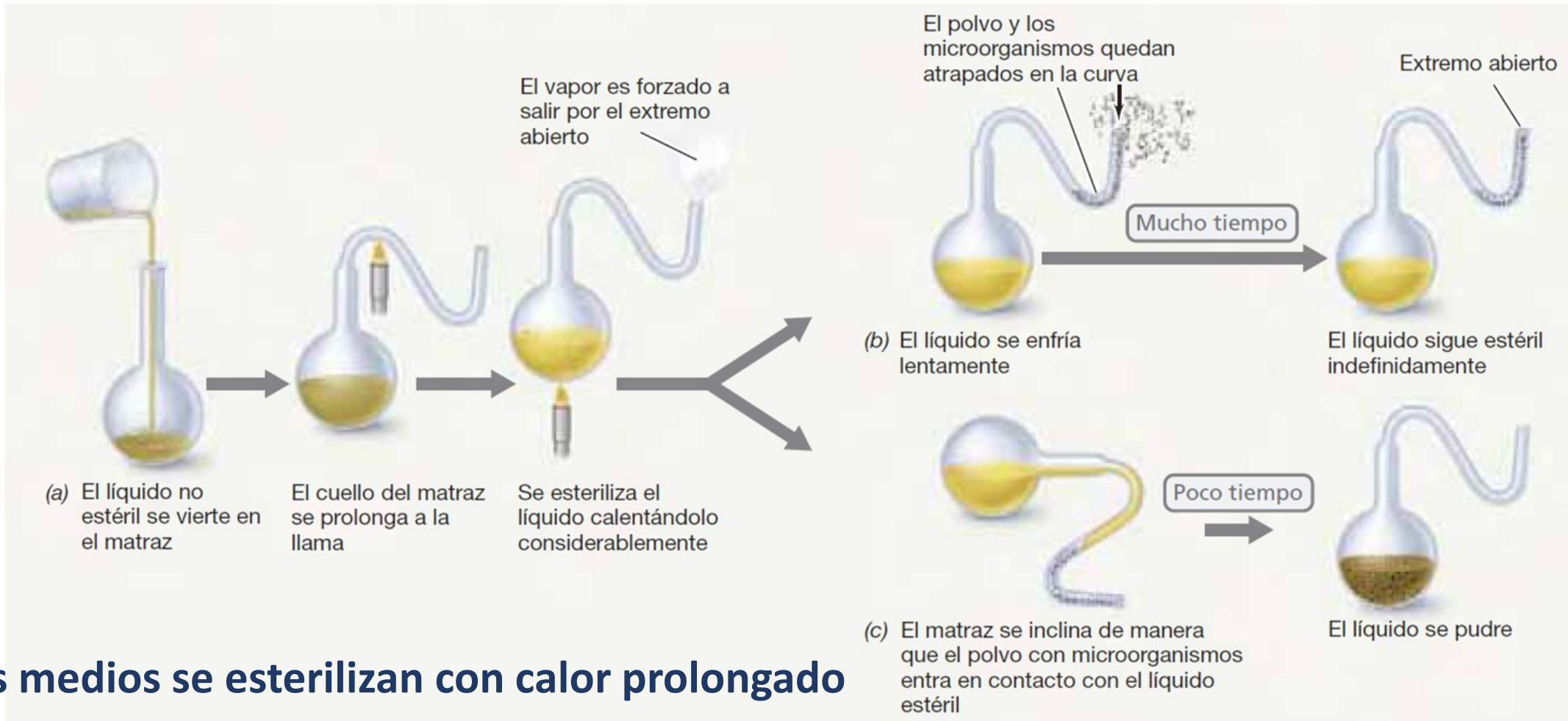
los MO están en el aire



Predijo que los MO en los materiales en putrefacción eran descendientes de células que entraron desde el aire o de células que inicialmente estado presente en los materiales en descomposición.

- Experimentos con frascos abiertos al aire dotados de largos cuellos curvados (“cuellos de cisne”).
 - Una vez llevados a ebullición, no aparecen microorganismos si el frasco no se mueve
 - Aparecen microorganismos si el líquido alcanza el cuello curvo
 - “Trampas” para capturar microorganismos

Pasteur y la polémica sobre la generación espontánea



Los medios se esterilizan con calor prolongado

Los medios se contaminan con MO que estaban en el aire, surge otro concepto ¡¡Importancia de la esterilización!!

Debate sobre los fermentos. Dos teorías sobre el origen de las fermentaciones: química y biológica

Estudiando las enfermedades del vino

¿Cuál es la causa del proceso químico que hace posible la obtención del vino, pero altera e inutiliza otros alimentos?

- Pasteur (1857) trabajó sobre un problema que había surgido entre los destiladores de Lille cuando en sus barricas la fermentación alcohólica fue sustituida por una indeseable fermentación láctica.
- Sus estudios duraron hasta 1876, Pasteur identificó distintos microorganismos responsables de diferentes procesos fermentativos. Así, en 1860 vincula la fermentación alcohólica a ciertos tipos de levaduras, y en 1866, en sus *Études sur le vin* resume sus hallazgos al respecto, inaugurando la **Microbiología Aplicada**,



Debate sobre los fermentos. Estudiando las enfermedades del vino

- ▶ **1857:** que las bacterias eran responsables de la fermentación láctica que “arruinaba el vino y la cerveza”. Propone como solución la Pasteurización para evitar la segunda fermentación.
- ▶ **1860-** Demuestra que las levaduras son las responsable de la fermentación alcohólica y que pueden vivir con y sin oxígeno
- ▶ Descubre la fermentación butírica y otros tipos de fermentaciones.
- ▶ Introduce el concepto de la “*vie sans l’air*” (anaerobiosis)
- ▶ Reconciliación de las dos teorías: Buchner aísla un preparado libre de células de levadura..**Nace el concepto de ruta metabólica fermentativa (zimasa). Buchner, mezcla enzimática aislada de levadura. NACE LA BIOQUIMICA 1897**

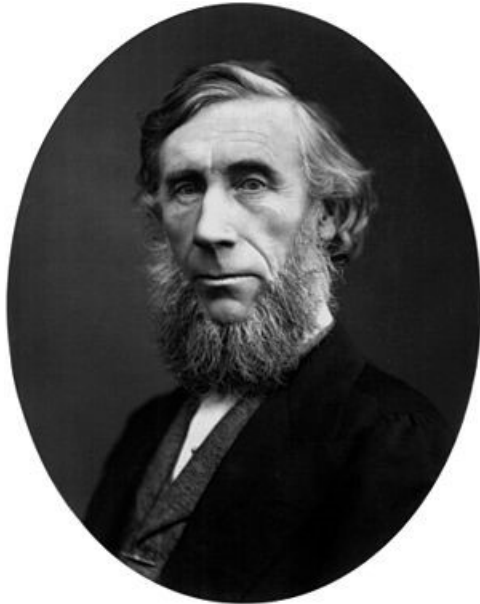
Fermentación y Pasteurización

- Dio fin a la teoría de la generación espontánea
- Relacionó las enfermedades con los microorganismos
- Identificó los MO responsables de la fermentación.
- Utilizó el calor para matar a los microorganismos. Técnica de esterilización llamada actualmente **Pasteurización** que sentó las bases de las técnicas asépticas



Golpe final a la teoría de la generación espontánea

John Tyndall (1820-1893)



**Pasteur, Tyndall: Los
Microbios también
derivan de otros
microbios**

Demostró que el polvo transportaba MO
Demostró que en ausencia de polvo los
medios de cultivo permanecían estériles.

**Proporciono evidencias de formas de
bacterias excepcionalmente resistentes al
calor confirmando mas tarde por Cohn**

Aplicando la esterilización por calentamiento
discontinuo que actualmente se conoce como
tindalización

-
- 1857 Pasteur: fermentación
- 1861 Pasteur: desaprobación de la generación espontánea
- 1864 Pasteur: pasteurización
- 1867 Lister: cirugía aséptica
- 1876 *Koch: teoría germinal de la enfermedad
- 1879 Neisser: *Neisseria gonorrhoeae*
- 1881 *Koch: cultivos puros
Finley: fiebre amarilla
- 1882 *Koch: *Mycobacterium tuberculosis*
Hess: medio sólido (agar)
- 1883 *Koch: *Vibrio cholerae*
- 1884 *Metchnikoff: fagocitosis
Gram: procedimiento de coloración de Gram
Escherich: *Escherichia coli*
- 1887 Petri: placa de Petri
- 1889 Kitasato: *Clostridium tetani*
- 1890 *von Bering: antitoxina diftérica
*Ehrlich: teoría de la inmunidad
- 1892 Winogradsky: ciclo del azufre
- 1898 Shiga: *Shigella dysenteriae*
- 1908 *Ehrlich: sífilis
- 1910 Chagas: *Trypanosoma cruzi*
- 1911 *Rous: virus productores de tumores (Premio Nobel 1966)

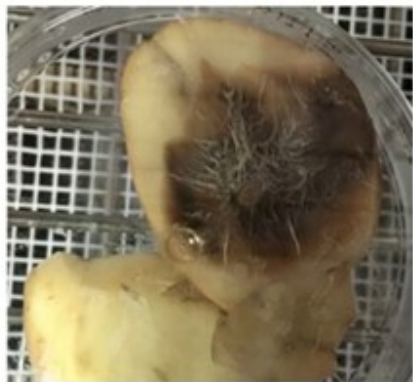
**Edad de oro
de la
Microbiología
(1857-1914)**

¿Qué otros descubrimientos impulsan el desarrollo de la microbiología?

- El desarrollo de técnicas para el estudio de los MO patógenos y otros como entidades particuladas. Medios de cultivo sólidos**
- El papel de los microorganismos en las enfermedades**

Cultivos puros

Koch observó que cuando se incubaba una superficie sólida en el aire, se desarrollaron masas de células microbianas llamadas colonias, cada uno con una forma y color característicos. Estas observaciones se podían usar como criterio taxonómico.

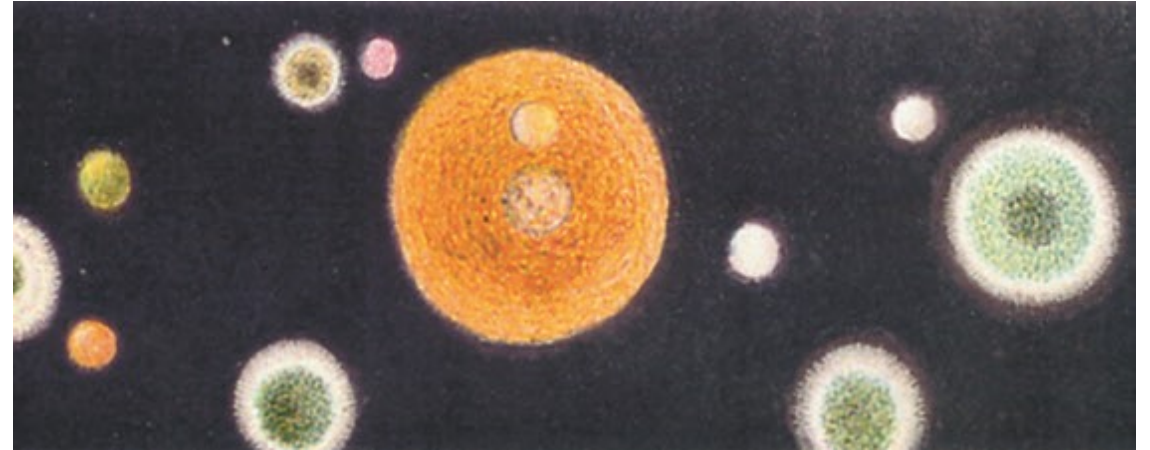


Potato slice



Agar plate

Ya con los métodos adecuados



Un cultivo puro es aquel en que todos los MO provienen de una sola célula y en la colonia eran todas iguales.

Establecimiento de las técnicas de aislamiento de MO y de los medios de cultivo en medio sólido, preparado en las cajas de Petri

Dos teorías sobre forma de microorganismos: pleomorfismo y monomorfismo

El [monomorfismo](#) sostiene que cada bacteria tiene una forma única e inmutable (ley de la constancia), siendo el paradigma de Robert Koch.

El [pleomorfismo](#), defendido por Béchamp, argumenta que los microbios cambian de forma y funciones según el medio ambiente.

Su resolución dependió de cultivos puros (Robert Koch, 1888)

Medios sólidos a base de rodajas de patata

Medios sólidos a base de gelatina

Medios sólidos a base de agar-agar

Petri (en el laboratorio de Koch) inventa la placa que lleva su nombre

Medios de enriquecimiento y medios diferenciales (Beijerinck,

Winogradsky

Necesidad de Obtención de cultivos puros monomorfismo vs pleomorfismo

Koch, Pasteur y Cohn

- Obtención de cultivos puros (Koch-Hesse- Brefeld).
Constancia morfológica contra pleomorfismo necesidad de obtener cultivos puros y aislar una sola célula
- Nace una nueva ciencia ..OBTENCION DE CULTIVOS PUROS A PARTIR DE UNA CELULA AISLADA

Medios sólidos a base de rodajas de papa

Medios sólidos a base de gelatina (hongos)

Medios sólidos a base de agar-agar (de la cocina al laboratorio Fanny Eilshemius)



Avances técnicos: microscopios y técnicas de tinción

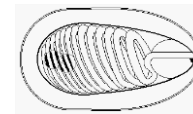
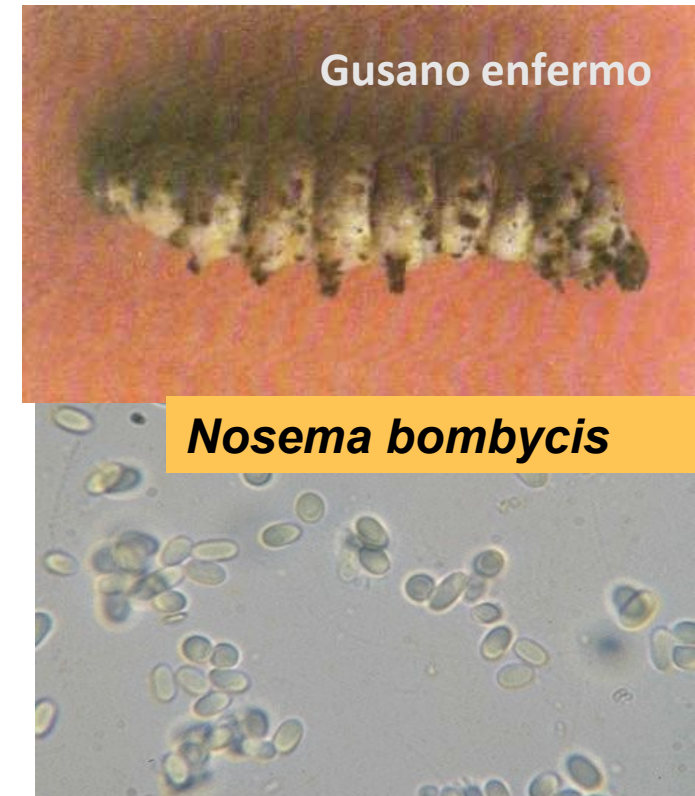
- Koch mejoras del microscopio, objetivo de inmersión
- Koch desarrolla algunos métodos de coloración
 - Tinciones para observar bacterias (azul de metileno, fuchsina, violeta de genciana, etc), 1877 y siguientes
- Ziehl y Neelsen: tinción diferencial BAAR (1883)
- Hans C. Gram: tinción diferencial Gram (1884)

Con todos estos avances ya estaban todos los métodos adecuados para el estudio de las preguntas que faltaban



Reconocimiento de la relación entre los microorganismos y las enfermedades

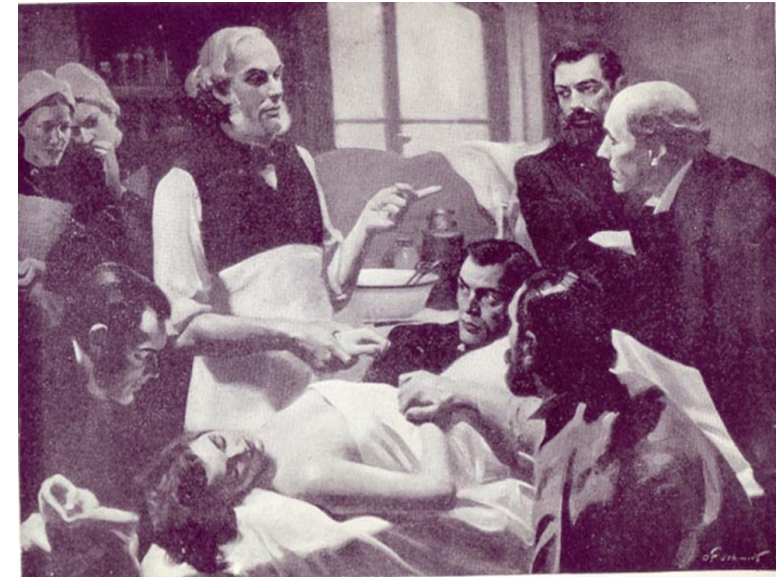
- Agostini Bassi (1773-1856) Mostró que la enfermedad de los gusanos de seda estaba causada por un hongo
- Pasteur (1869) es llamado a Provenza para resolver una enfermedad del gusano de seda (pebrina). Identifica al protozoo *Nosema bombycis* como el responsable
- Davaine (1863-1868): la sangre de ganado afectado por carbunco contiene grandes cantidades de microorganismos



Esporas

Otras evidencias...

- Joseph Lister (1827-1912)
 - Proporcionó evidencias indirectas de que los microorganismos eran los agentes causantes de putrefacción de las heridas
 - Desarrollo un sistema de cirugía aséptica con el fin de evitar que los MO infectasen las heridas (**esterilizaba con calor, aplicaba fenol en vendajes, y en aerosoles**)
 - Sus pacientes tenían menos enfermedades postoperatorias
 - **Lister introduce el uso del fenol y de sales de mercurio (asepsia en quirófano) desinfección**

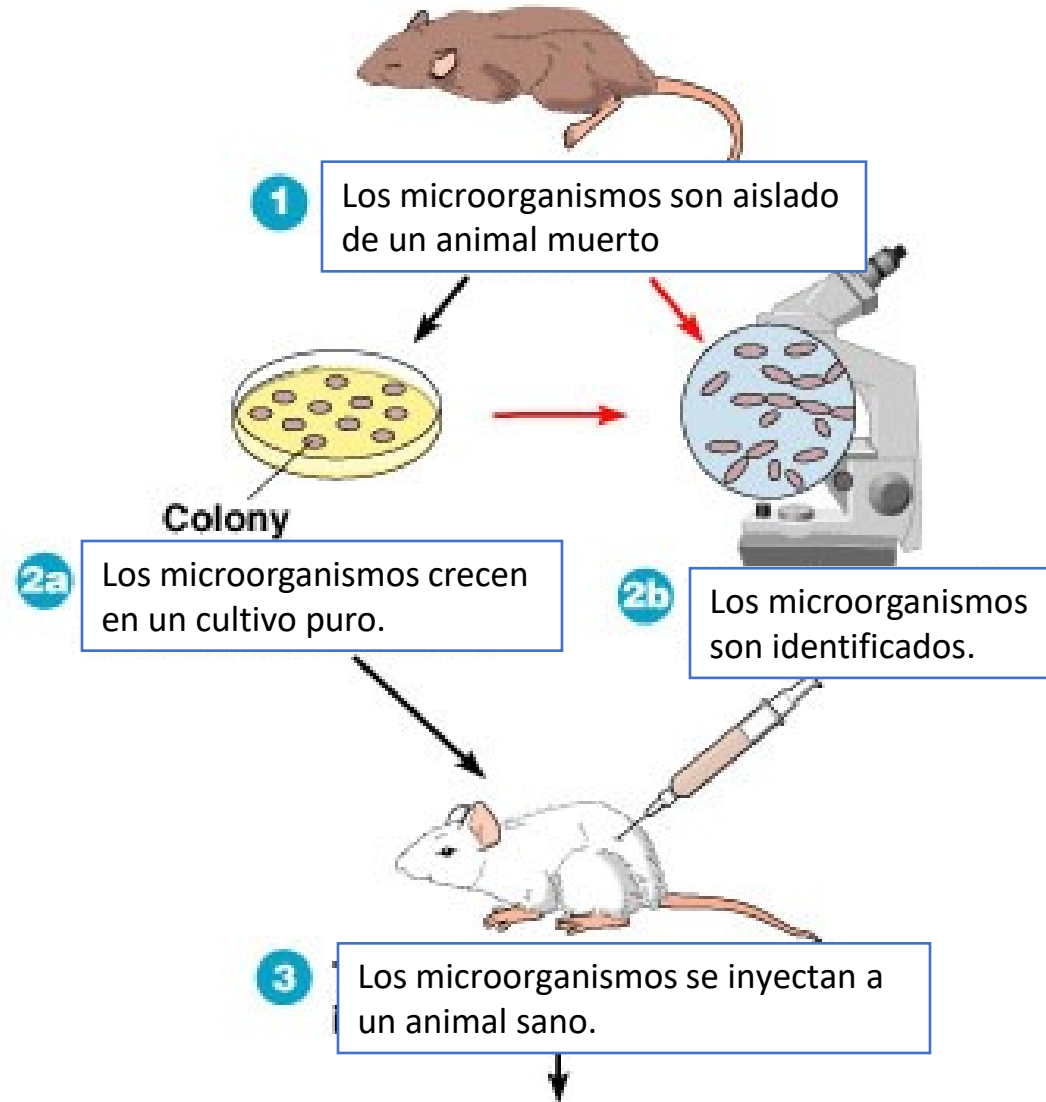


Prueba definitiva del papel de los MO en las enfermedades infecciosas

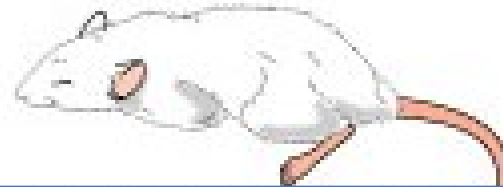
- Koch (1876): con su técnica de cultivo puro aísla y propaga experimentalmente por primera vez una bacteria patógena (la responsable del carbunco o ántrax)
- Primeras microfotografías de *Bacillus anthracis* teñido con azul de metileno
- Confirma que esta bacteria presenta una fase resistente (endosporas)
- La enfermedad se puede reproducir experimentalmente al reinocular bacilos a animales de laboratorio
- **Esta secuencia de pasos o criterios se conocen actualmente como los postulados de Koch**
 - Todavía se emplean actualmente para establecer la relación entre un microorganismos particular y una enfermedad

Postulados de Koch

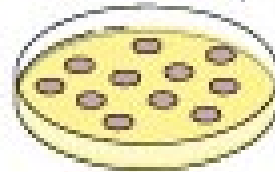
- Los postulados de Koch son usados para probar la causa de una enfermedad infecciosa.



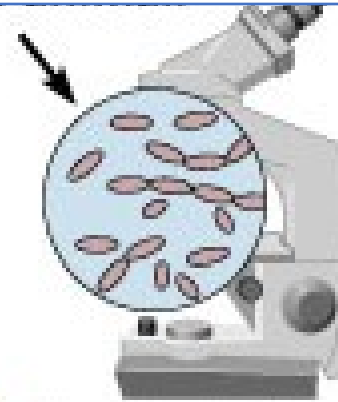
Postulados de Koch



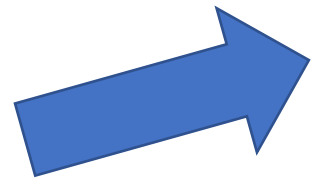
4 La enfermedad se reproduce en el segundo animal: los microorganismos son aislados de este animal.



5a Los microorganismos patógenos crecen en un cultivo puro



5b Los microorganismos idénticos se identifican.



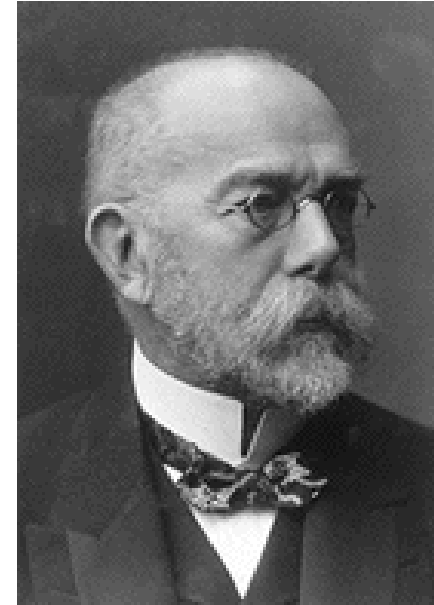
Importancia del cultivo puro

Postulados de Koch (1882)

- El agente patógeno debe estar presente en los individuos enfermos
- El microorganismo debe poder aislarse del huésped enfermo en cultivo puro
- El microorganismo crecido en cultivo puro, al inocularse en animales sanos, induce en ellos la enfermedad
- De estos animales experimentales inoculados y ya enfermos, se puede volver a aislar el microorganismo

La escuela de Koch aísla numerosos agentes patógenos

- Cólera (1883)
- Difteria (1884)
- Tétanos (1885)
- Neumonía (1886)
- Meningitis (1887)
- Peste (1894)
- Sífilis (1905)
- Tuberculosis



Robert Koch

Antibioterapia

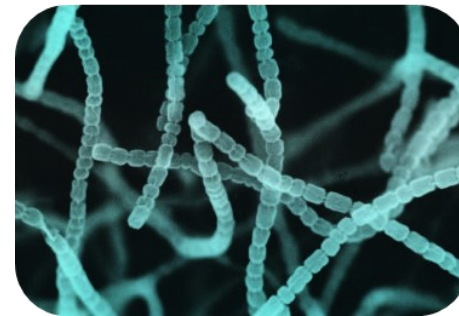


Fleming (1929): extracto crudo de penicilina (del hongo *Penicillium notatum*)

Chain y Florey (1940): purificación penicilina. Uso en 2ª Guerra Mundial

Descubrimiento estreptomomicina (Waksman, 1944) de *Streptomyces griseus*

Tras la Guerra, se descubren numerosos antibióticos, producidos sobre todo por Actinomicetos



Auge de la microbiología general: litotrofía y autotrofía

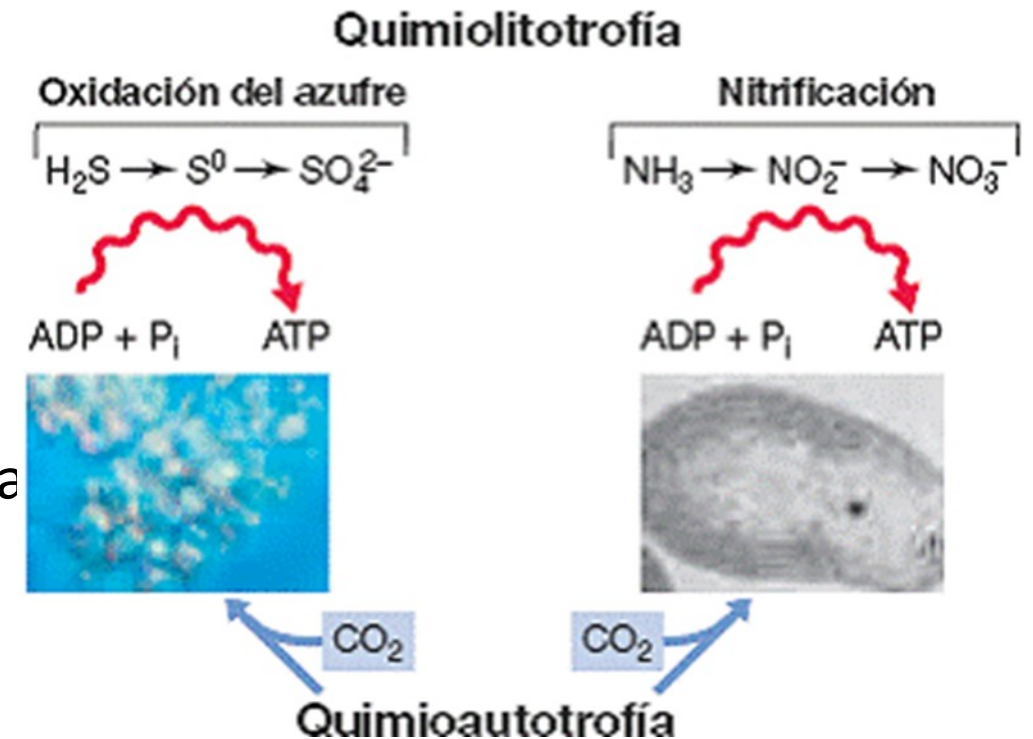
Las técnicas de cultivo de enriquecimiento se utilizan para fomentar selectivamente el crecimiento de microorganismos específicos. Se emplean medios de cultivo y condiciones de incubación selectiva que son diseñado deliberadamente para favorecer solo ciertos tipos de microbios.

- Sergei Winogradsky (1856-1953) y Martinus Beijerinck (1851-1931)
 - Estudiaron los microorganismos del suelo y descubrieron numerosos procesos metabólicos interesantes (ej., la fijación de N_2 , ciclo del S)
 - **Pioneros en el empleo de medios de enriquecimiento y medios selectivos**
 - 1888: Bacterias del hierro crecen en medios minerales
 - 1890: Bacterias nitrificantes fijan CO_2 con la energía de la oxidación del amonio o nitrato quimiolitio-autotrofía



Auge de la microbiología general: litotrofía y autotrofía

- Sergei Winogradsky : **Descubridor de la quimio litotrofía**, es decir, la oxidación de compuestos inorgánicos acoplada a la obtención de energía utilizable
- 1889: Bacterias del azufre (*Beggiatoa sp*) oxidan sulfuros o S y obtienen energía de este proceso, litotrofía
- 1890: Bacterias nitrificantes fijan CO₂ con la energía de la oxidación del amonio o nitrato → quimiolitoautotrofía
- Describe el proceso de nitrificación y fijación de N
- Desarrollo de medios de cultivo especiales para MO del suelo, medios de sin compuestos orgánicos ya que estos organismos no crecían en los medios de cultivo que utilizaba Pasteur



Litótrofos (comedores de piedra?)



VACUNACIÓN : consiste en conferir inmunidad (resistencia a una enfermedad en particular) mediante la administración de una vacuna

- **1798 Jenner:**

- demostró que la inoculación de material procedente de la viruela vacuna (virus de la vacuna o “*cowpox*”) proporciona inmunidad a los seres humanos contra la viruela. NOTA: Esto fue anterior al reconocimiento de los microorganismos como agentes causantes de las enfermedades

- **Pasteur y Roux**

- Observaron que incubando sus cultivos de cólera de gallina durante intervalos largos de tiempo entre cada transferencia se atenuaban las bacterias. Perdían su capacidad para generar la enfermedad

- **Pasteur y sus colaboradores**

- Desarrollaron vacunas contra la cólera del pollo, el carbunco (anthrax) y la rabia

Principales personajes que influyeron en los inicios de la Microbiología

SIGLO XVII

- Robert Hooke
- Antonie van Leeuwenhoek
- Francisco Redi

SIGLO XVIII

- Edward Jenner
- Lazaro Spallanzani
- John Needham

SIGLO XIX

- Joseph Lister
- Cohn
- Luis Pasteur
- Robert Koch
- Christian Gram
- Winogradsky
- Beijerinck

CONCLUSIONES

- La Microbiología se dio a conocer al mundo gracias a personajes (tanto inventores como profesionales) que aportaron de manera trascendental, en especial durante el siglo XIX donde fueron mayores los aportes.
- Se destacaron los logros de cada investigador, los cuales dejaron sembrados las bases de esta rama tan extensa y que inspira a cada investigador que se inicia en esta ciencia.

Técnicas empleadas para el estudio de los MO

1. Observación de los microorganismos: microscopia

2. Cultivo e Identificación

técnicas asépticas, esterilización, medios de cultivo, cultivos puros, técnicas de enriquecimiento, identificación de los agentes patógenos, diversidad microbiana

<https://prezi.com/eu7ymodemtyw/timeline-the-evolution-of-life-on-earth/>

- Microcopia
- Desarrollo de la técnica aséptica, un conjunto de prácticas que permiten la preparación y el mantenimiento de medios y soluciones estériles (es decir, sin la presencia de organismos vivos) medios y soluciones nutrientes
- La técnica aséptica es fundamental para el aislamiento y mantenimiento de cultivos puros de bacterias.
- Los cultivos puros son aquellas que contienen células de un solo tipo de microorganismo y son de gran valor para el estudio de microorganismos.
- Por último, técnicas de cultivo de enriquecimiento, que permiten el aislamiento de la naturaleza de microbios que tienen características metabólicas particulares, facilitan el descubrimiento de diversos microorganismos.
- Los avances en el cultivo microbiano son directamente responsables del éxito en la lucha contra las enfermedades infecciosas, el descubrimiento de la diversidad microbiana, y el uso de microbios como sistemas modelo para descubrir las propiedades fundamentales de todas las células vivas.

Composición elemental de los MO

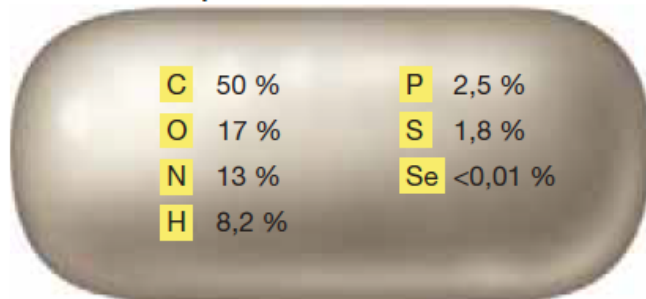
Grupo →	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
Periodo ↓	1																	2
1	H																	He
2	Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
3	Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
4	K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
5	Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
6	Cs	Ba	Lu	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn

- Esencial para todos los microorganismos
- Cationes y aniones esenciales para la mayoría de los microorganismos
- Metales traza (Tabla 3.1), algunos de ellos esenciales
- Utilizado para funciones especiales
- No esencial, pero se metaboliza
- No esencial, no se metaboliza

Diseño de medios de cultivo

(a)

Elementos esenciales como porcentaje de peso seco de la célula



(b)

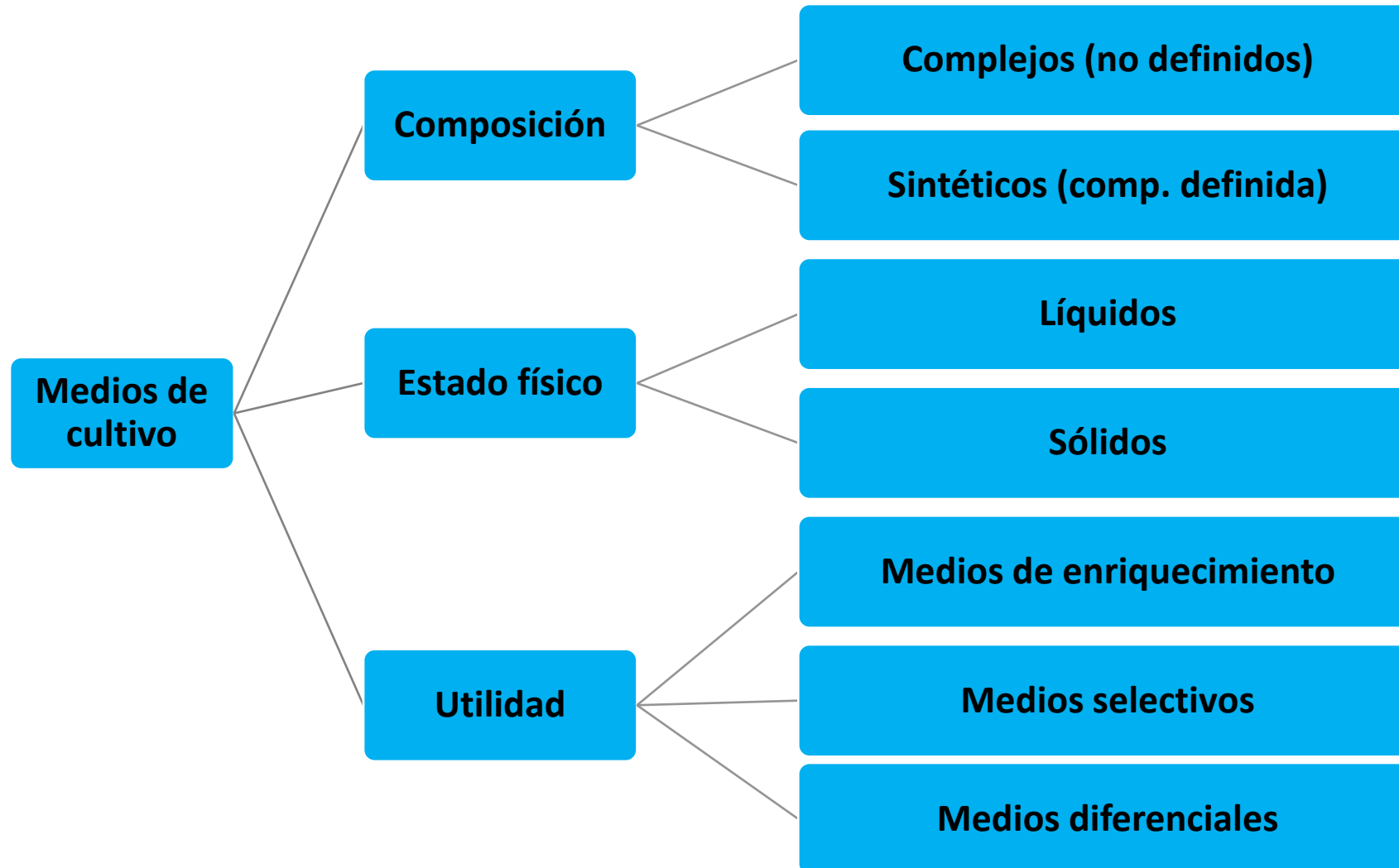
Composición macromolecular de una célula

Macromolécula	Porcentaje de peso seco
Proteínas	55
Lípidos	9,1
Polisacáridos	5,0
Lipopolisacáridos	3,4
DNA	3,1
RNA	20,5

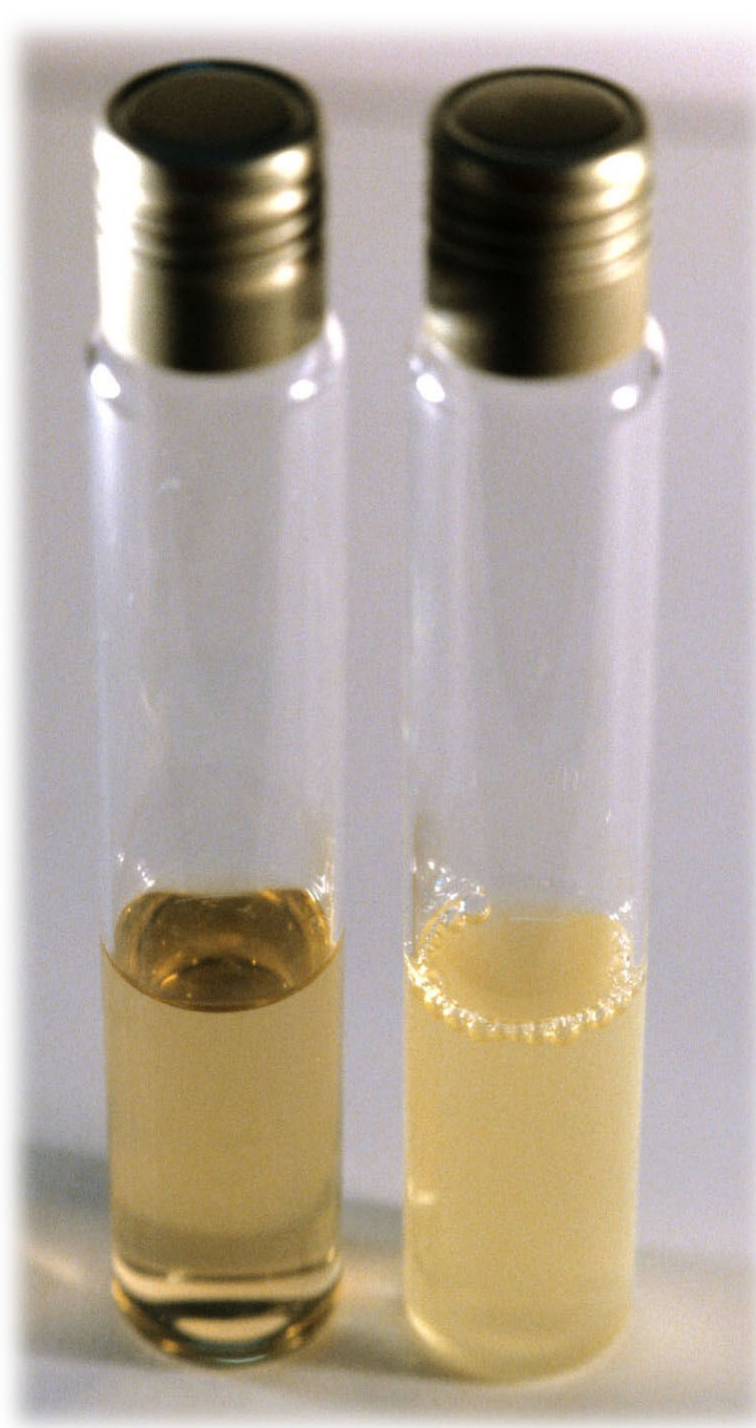
(c)



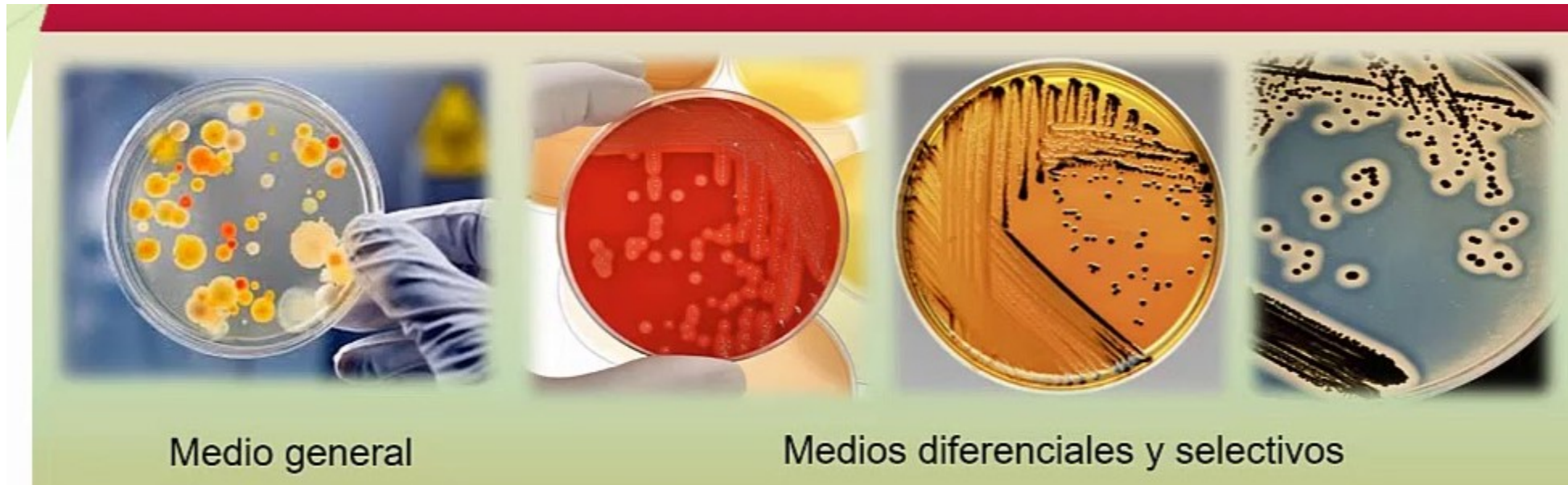
Clasificación de los Medios de cultivo de MO



Medios de cultivo líquido



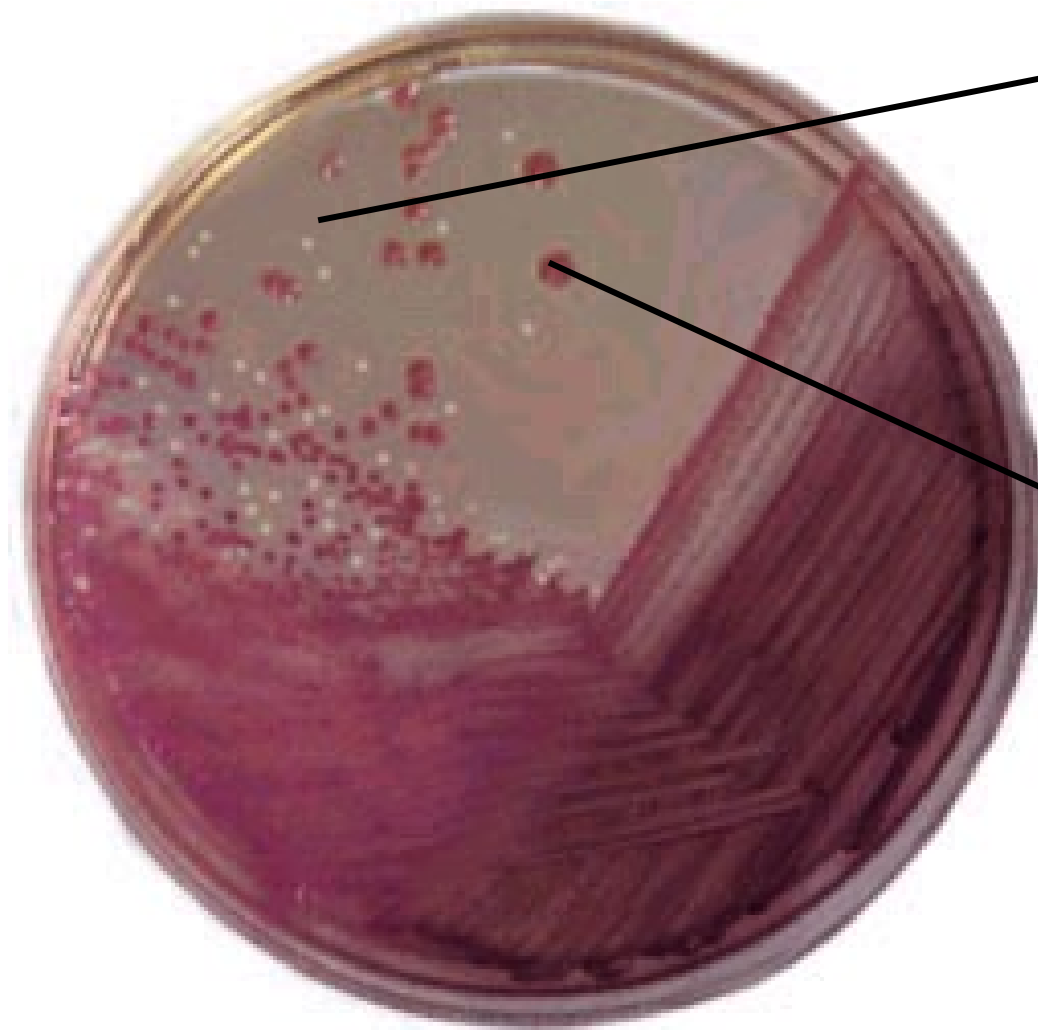
Medios de cultivo sólidos



Medio general

Medios diferenciales y selectivos

Como se ve un aislamiento bacteriano en un medio sólido, selectivo y diferencial (Mac Conkey)



Colonia Lactosa negativa

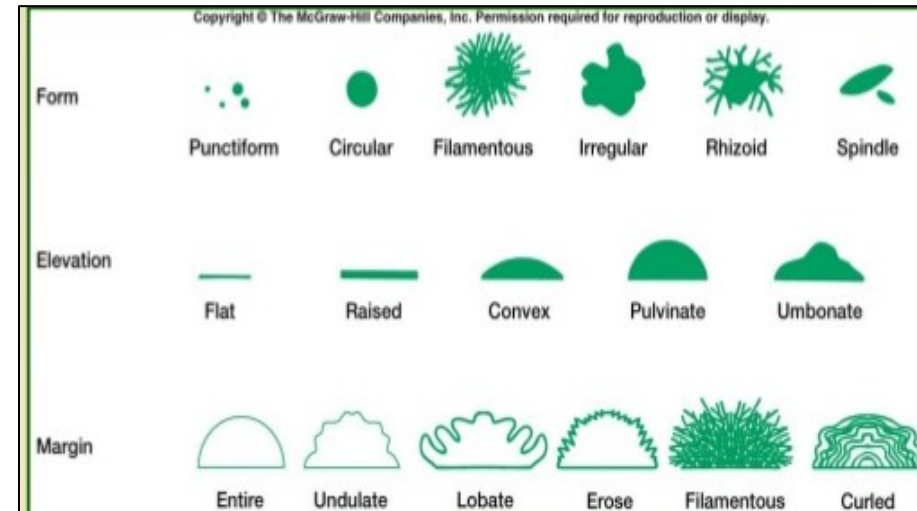


Colonia Lactosa positiva

Agrupaciones macroscópicas (colonias)



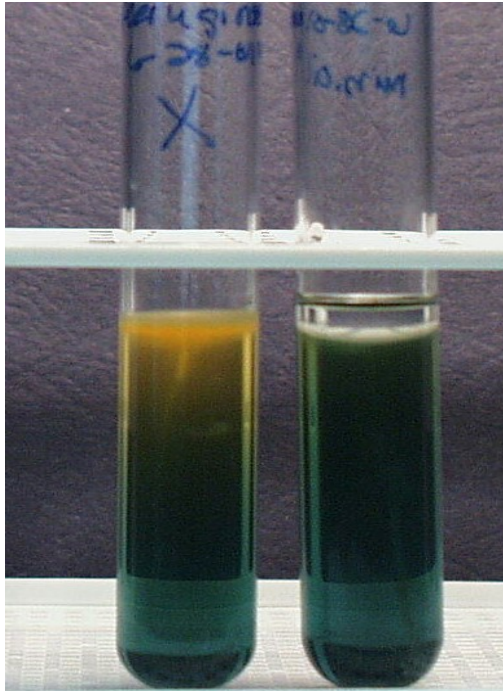
Formas en medio sólido



La morfología y tamaño de la colonia (solo medio sólido) se utilizan para identificar las especies de bacterias.

Pruebas bioquímicas para la identificación

Pseudomonas aeruginosa
Siembra en medio OF
Metabolismo oxidativo



API



	OMPG	ADH	UDC	ODC	IGIT	PLS	URE	TDA	IND	[VP]	GLU	GLU	MAN	INO	SOR	RHL	SAC	MEL	AMY	ARA	COI	
Negativo																						
Positivo																						

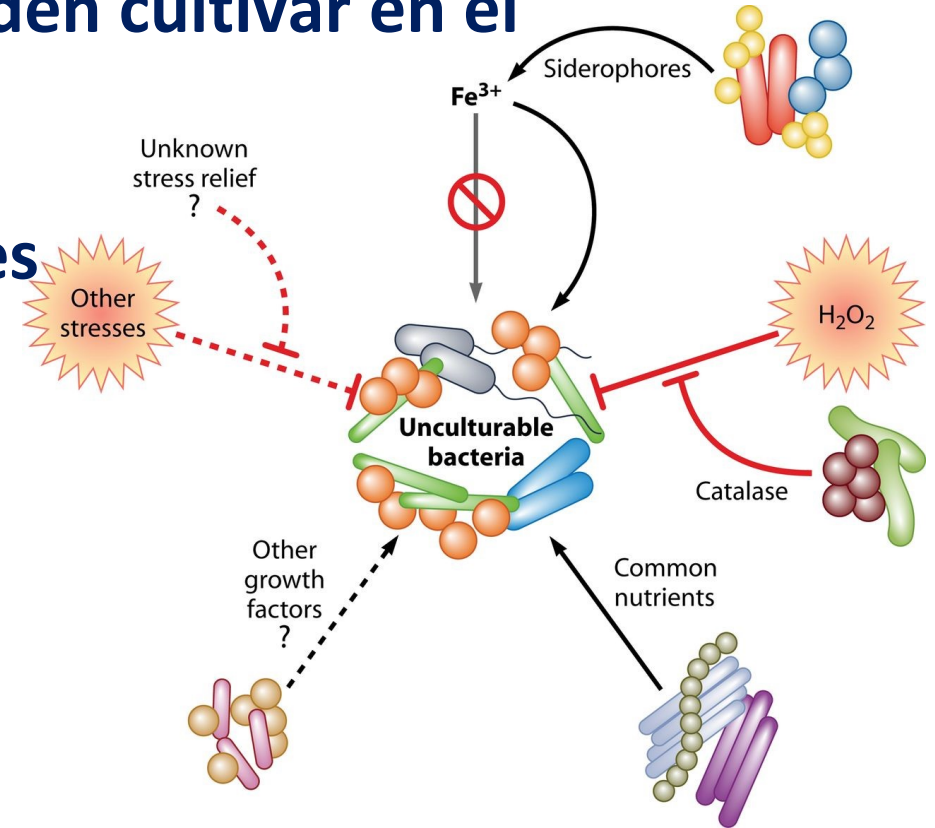
API® sistema miniaturizado y estandarizado de identificación, que asocia una galería de pruebas bioquímicas (10 – 20 sustratos) y una base de datos. (manual o digital). Metodo de referencia mundial.

La mayoría los procariotas no se pueden cultivar en el laboratorio



Microorganismos viables no cultivables

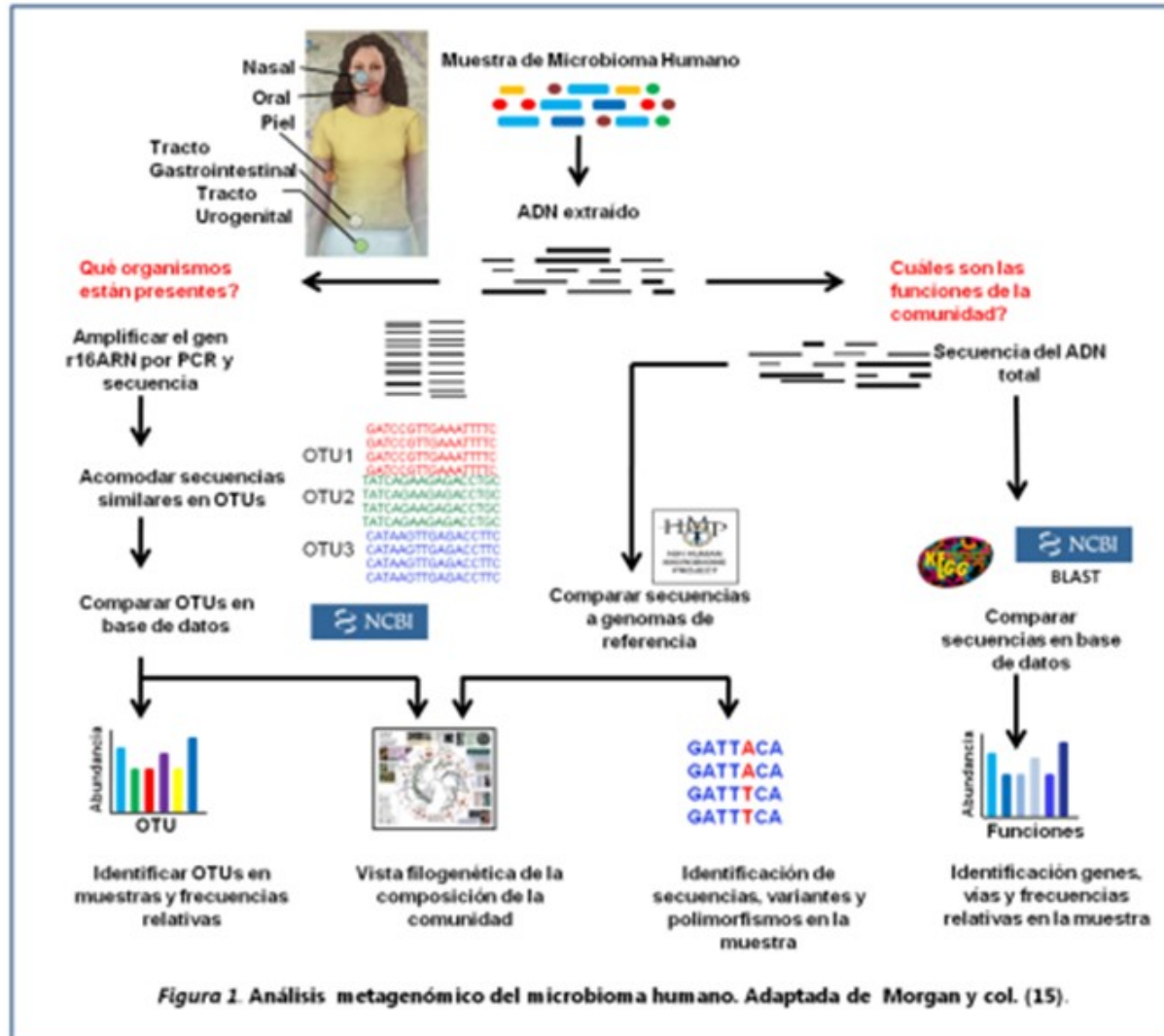
“¿quiénes están allí?” y “¿qué están haciendo”



Siglo XX y XXI: Impacto de las Ciencias “Ómicas”: Genómica, Transcriptómica, Proteómica, Metabolómica, Metagenómica, Culturómica

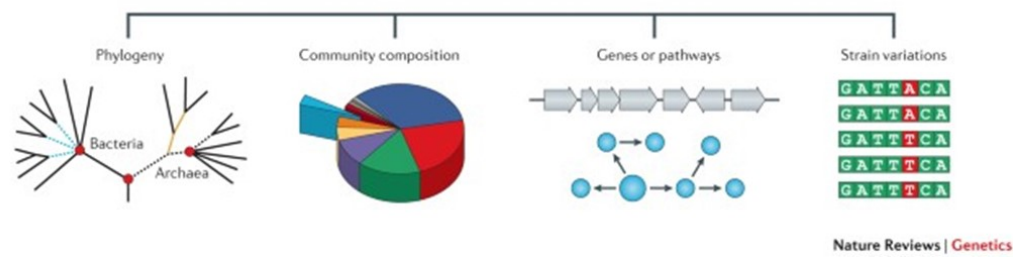
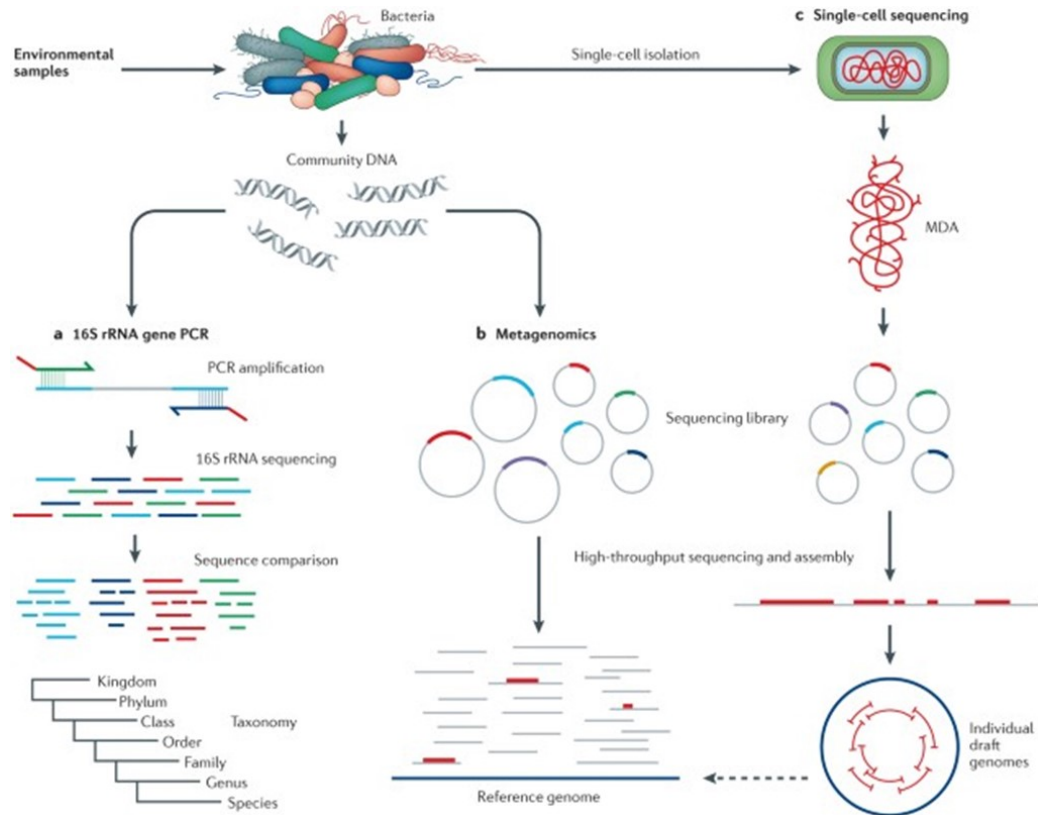
Microbiología sin cultivos: Enseñanzas de la secuenciación de 16S rRNA sobre la diversidad microbiana en ecosistemas

Metagenómica: secuenciando lo desconocido

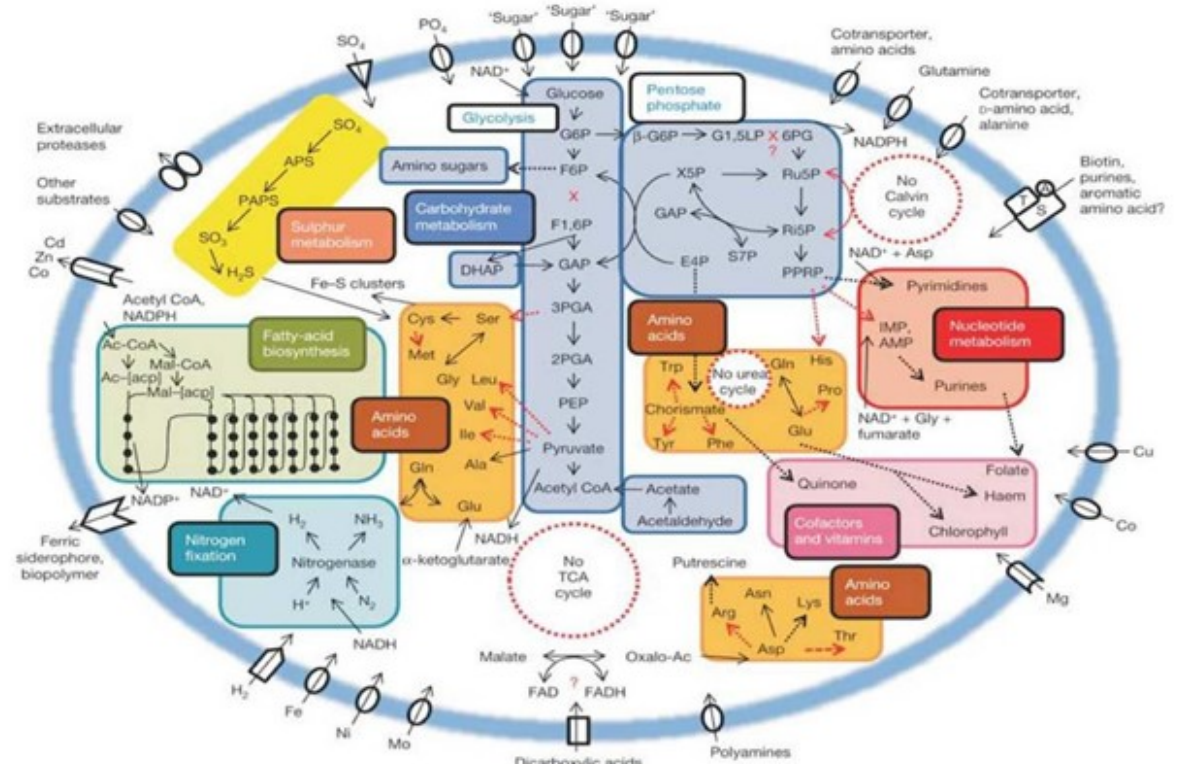


Mientras que los métodos basados en cultivos permitieron el descubrimiento de unas 30 *Phyla* (Divisiones) bacterianas, los métodos de búsqueda de diversidad basados en el número de secuencias distintas de 16S rRNA en distintos ecosistemas expandieron hoy ese número a más de 100 (y continúa)...

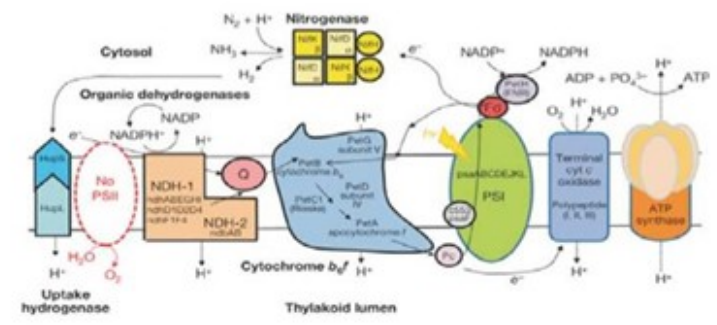
Identificación -microbiomas



Predicciones sobre el metabolismo

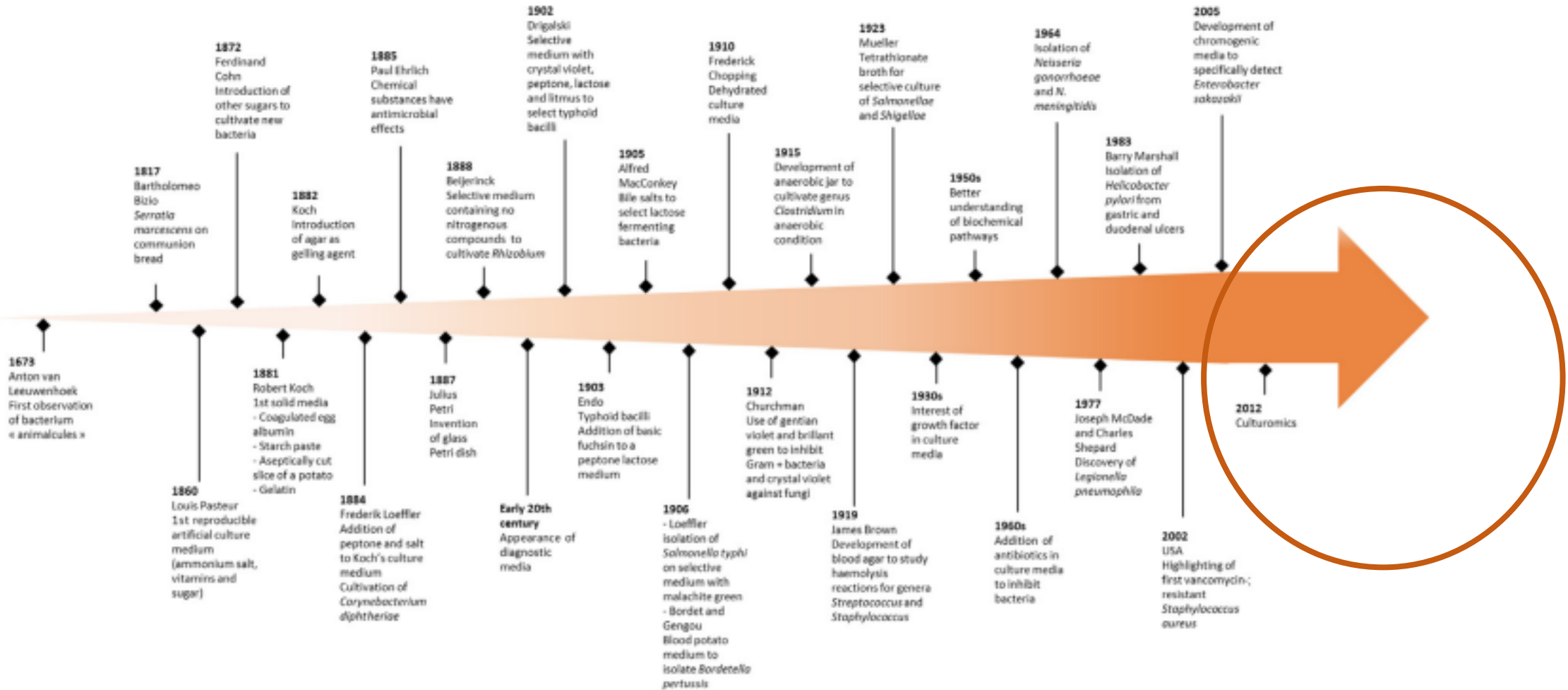


Predicción del metabolismo de la cianobacteria



Predicción del transporte de electrones

Evolución de los medios de cultivo



IG. 1. Evolution of culture media: from the first bacterial culture (1673) to culturomics.

Etapas o períodos en el desarrollo de la Microbiología

- 1. Primer periodo**, eminentemente **especulativo**, que se extiende desde la antigüedad hasta llegar a los primeros microscopistas.
- 2. Segundo periodo**, de lenta acumulación de observaciones (desde 1675 -hasta la mitad del siglo XIX), que arranca con el descubrimiento de los microorganismos por Leeuwenhoek (1675).
- 3. Tercer periodo**, de cultivo de microorganismos, que llega hasta finales del siglo XIX, donde las figuras de Pasteur y Koch encabezan el logro de cristalizar a la Microbiología como ciencia experimental bien asentada.
- 4. Cuarto periodo** (desde principios del siglo XX hasta nuestros días), en el que los microorganismos se estudian en toda su complejidad fisiológica, bioquímica, genética, ecológica, etc.,

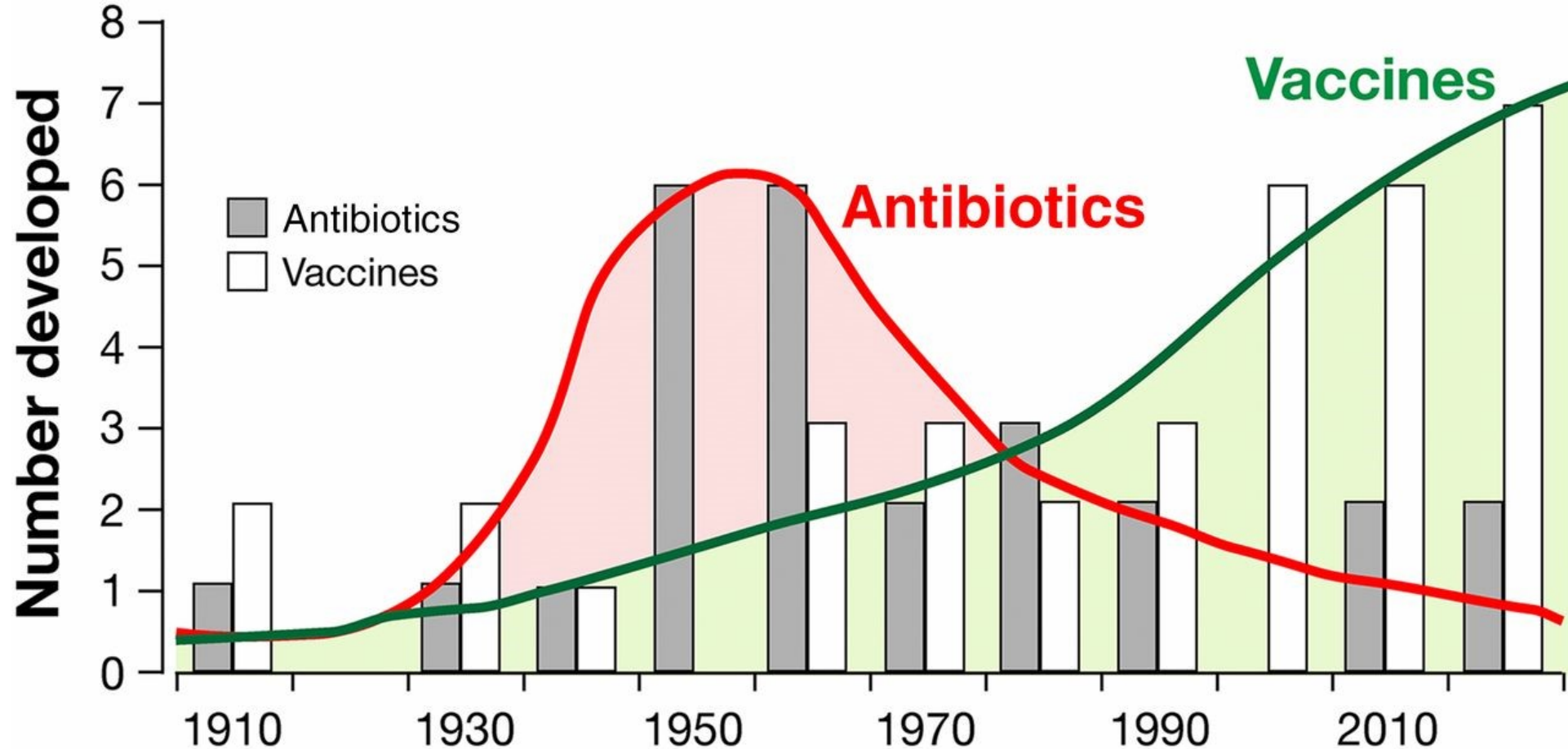
Asepsia, quimioterapia-siglo XX

- Paul Ehrlich: idea de las “balas mágicas”
 - Colabora con industria química y descubre el salvarsán, contra la sífilis
 - “Quimioterapia”
- Domagk (1935): rojo de prontosilo contra neumococos
 - Época de las sulfamidas

Antibioticoterapia Moderna

- Fleming (1929): extracto crudo de penicilina (del hongo *Penicillium notatum*)
- Chain y Florey (1940): purificación penicilina. Uso en 2ª Guerra Mundial
- Descubrimiento estreptomycinina (Waksman, 1944) de *Streptomyces griseus*
- Tras la Guerra, se descubren numerosos antibióticos, producidos sobre todo por Actinomicetos

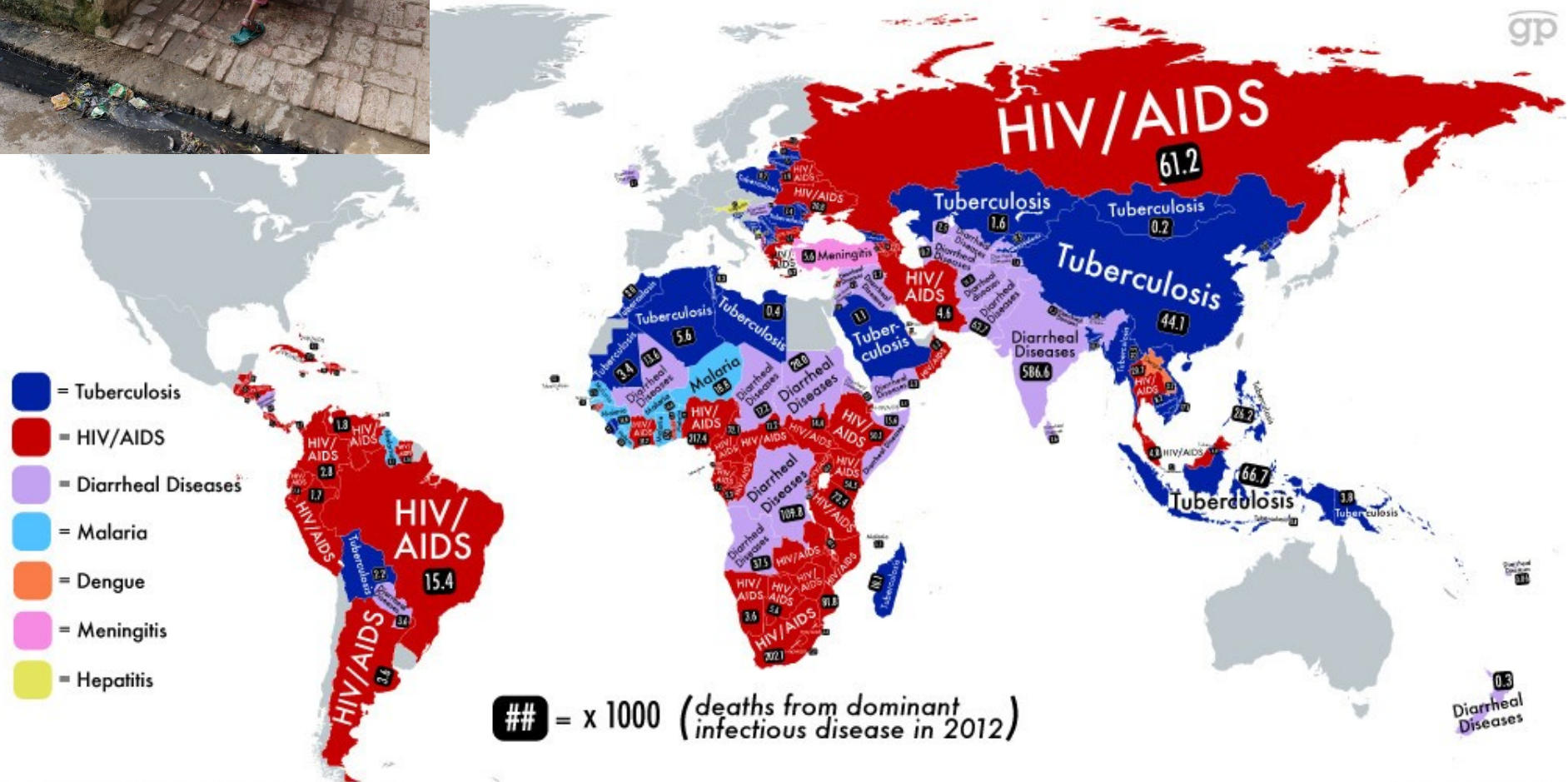
El apogeo y ocaso de los antibióticos en el siglo XX y la importancia de las vacunas en el siglo XXI



David E. Bloom, Steven Black, David Salisbury, Rino Rappuoli
Proceedings of the National Academy of Sciences Dec 2018, 115 (51) 12868-12871; DOI: 10.1073/pnas.1717157115

Siglo XXI:

A PESAR DE ESTOS AVANCES LA PROBLEMÁTICA DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS PERSISTE SOBRE TODO EN PAISES POBRES



Que impidió que la ciencia de la microbiología se desarrollara antes de la era de Hooke y van Leeuwenhoek?

.Que gran descubrimiento realizo Cohn gracias a su estudio de la resistencia de los microorganismos al calor?

Defina el termino *estéril*. .Como refuto Pasteur la teoría de la generación espontanea con los experimentos de los matracas de cuello de cisne?

Además de terminar con la controversia de la generación espontanea, .que otros avances atribuimos a Pasteur

.De que manera aseguran los postulados de Koch que la causa y el efecto de una enfermedad determinada están claramente diferenciados?

Que ventajas ofrecen los medios solidos para el aislamiento de microorganismos?
.Que es un cultivo puro?

Que significa el termino *cultivo de enriquecimiento*? Que significa el termino *quimiolitotrofia*?
.En que sentido los quimiolitotrofos son como las plantas?