

# 1. DETERMINACIÓ ECOLÒGICA I GENÈTICA DE LES RELACIONS HOSTE-PATOGEN. COMPETÈNCIA, INVASIVITAT, TOXIGENITAT I RESISTÈNCIA DELS MICROORGANISMES

RICARD GUERRERO  
Departament de Microbiologia i Institut  
de Biologia Fonamental.  
Universitat Autònoma de Barcelona

Les superfícies externes del cos dels animals i de les plantes són autèntics ecosistemes on habiten i interaccionen nombroses espècies de diferents microorganismes, protozous, fongs, algues, bacteris i virus. Aquesta «flora» i «fauna» microscòpica aprofita, segons les seves peculiaritats genètiques i metabòliques, diversos nínxols ecològics; en el cos humà, l'àrid desert del front o del palmell de les mans, els boscos freds de l'avantbraç, les selves humides de l'aixella o del pubis i les aigües corrents, nutrícies i més o menys anaeròbiques del tracte digestiu.

Els microorganismes residents damunt o dins un organisme superior, hoste, poden establir amb aquest relacions que hom ha classificat de parasítiques, comensalístiques, simbiòtiques, etc. Llevat d'uns quants exemples en què el resultat final sobre l'hoste és indubtablement lesiu o profitós (parasitisme o simbiosi extrems), les fronteres entre les esmentades relacions sovint es troben solament a l'ull de l'observador.

Un paràsit (etimològicament de *παρα* = junt, al llarg de, i *σιτος* -ου: blat, menjar) no té per què danyar el seu hoste, ésser patògen. Per contra, els paràsits amb més èxit arriben a un equilibri amb l'hoste que assegura la supervivència, el creixement i la multiplicació indefinida d'ambdós, paràsit i hoste.

## **Accions no lesives o clarament profitoses dels microorganismes envers l'hoste**

El cos humà es troba en contacte constant amb els microorganismes, des del moment que neix fins al que mor. Després de mort, els microorganismes també hi són presents, i provoquen la destrucció i mineralització del cos.

El nombre i distribució taxonòmica dels microorganismes residents al cos humà, com també els llocs de residència, són ben diversos. La flora bucal és totalment diferent de la vaginal, i la de l'epidermis és diferent de la del tracte digestiu. La causa d'aquesta diversitat depèn de nombrosos

factors, però entre ells es destaquen tres com a essencials: 1) les característiques físico-químiques de l'hàbitat (els mencionats boca, vagina, pell, budells, etc.); 2) la competència biològica amb els altres microorganismes coexistents, i 3) la capacitat genètico-metabòlica de cada microorganisme en concret.

La pell humana és un bon exemple d'hàbitat diversificat i poblat per diferents microorganismes, la més gran part dels quals normalment són residents (comensals) innocus. La taula 1 presenta una llista dels principals microorganismes (incloent-hi els virus) que es troben en condicions no patogèniques (Marples, 1969).

No solament la presència o absència d'un determinat microorganisme en una part determinada del cos humà depèn d'aquests factors; també cal tenir en compte les conseqüències de la relació amb l'hoste. Vegem-ne dos exemples:

El *Trichomonas vaginalis* (V. taula 3) és un flagel·lat habitual a la vagina i a la uretra anterior que normalment passa desapercebut, perquè no causa cap problema. Un canvi d'algunes condicions de l'hàbitat, per exemple l'alteració del pH, és suficient per a permetre la proliferació del protozou i origina molèsties (pruïges vaginals de l'embaràs). Aquest és un cas de canvi poblacional degut a modificació de les condicions del medi, bé per acció directa o bé per alteració prèvia de la composició global de la microflora local.

Aquesta segona alternativa és la més freqüent. Hi ha casos realment greus, com és el de l'*Escherichia coli*, resident normal de l'intestí en un nombre importantíssim (hom calcula entre deu mil i cent mil milions), i que sols actua d'una forma patogènica si arriba a teixits fora del tracte intestinal o, dins aquest, quan els altres microorganismes coexistents queden reduïts significativament en llur població (colimeningitis i diarrees del lactant).

Hem vist suara que els microorganismes cobreixen tota la superfície del cos i fins i tot habiten en les parts externes dels tractes respiratori i gènito-urinari (V. taula 2), i també que ocupen pràcticament tot el tracte digestiu.

Està perfectament demostrat que la flora microbiana resident del tracte intestinal té un efecte altament beneficiós per a l'hoste, mitjançant la ultra-digestió de diverses substàncies, la producció de certes vitamines, defensa contra patògens, etc.

Hom desconeix encara la possible acció beneficiosa dels microorganismes dels tractes respiratori i gènito-urinari, però no hi ha dubte que, essent normalment innocus, ocupen un nínxol ecològic que si fos buit podria ésser envaït per altres microorganismes oportunistes patògens.

## **Interrelacions microbianes**

Observacions realitzades amb animals gnotobiòtics («sense microbis»),

TAULA 1

Alguns microorganismes residents i visitants freqüents de la pell humana en condicions normals

TIPUS DE RELACIÓ	TIPUS D'EFFECTE
<b>RESIDENTS</b>	<i>Patògens potencials</i>
	<i>Staphylococcus aureus</i> (a la capa còrnia)
	<i>Mima (Herellea)</i> Virus ubíquus (herpes peribucal, etc.)
	<i>Innocus habitualment</i>
	Cocs grampositius Difteroides aeròbics
	<i>Corynebacterium acnes</i> Llevats lipofílics i no-lipofílics (herpes peribucal, etc.)
<b>VISITANTS FREQUENTS</b>	
	<i>Staphylococcus aureus</i> (als fol·licles pilosos i a les glàndules sudorípares)
	<i>Streptococcus</i> spp.
	Fongs de la tinya Llevats patògens Virus de les berrugues
	Microorganismes del sòl
	Bacils gramnegatius
	Cocs grampositius

per exemple conills porquins (*Cavia*), assenyalen que l'absència de microbis a l'intestí determina un engrossiment manifest del cec, un desenvolupament pobre del sistema limfàtic i una producció d'immunoglobulina fortament minvada.

Els animals gnotobiòtics han permès d'inferir relacions realment sorprenents entre la flora habitual i la resistència o susceptibilitat de l'hoste a les malalties. Per exemple, rates gnotobiòtiques amb alimentació rica en sucres no manifesten càries dentals, mentre que en ésser infectades amb *Streptococcus* ho fan ràpidament. Una relació encara més complexa entre flora normal i patogènica és palesa en el cas d'*Entamoeba histolytica*, l'agent causal de la disenteria amebiana: el protozou patogen no pot produir la malaltia en conills porquins gnotobiòtics, mes quan hom els infecta prèviament amb *Escherichia coli* o *Enterobacter aerogenes* (bacteris innocus en condicions normals), l'ameba desencadena la disenteria (Porter, 1953). Així doncs, microorganismes típics de la flora normal dels budells poden potenciar la virulència d'un patogen, el qual, per ell mateix, no aconsegueix de sobreviure a l'intestí.

L'efecte protector de la flora normal envers diverses infeccions és, però, evident. Disposem de molts exemples, dels quals esmentarem els més significatius:

1. Les rates normals desenvolupen resistència a les espores de *Bacillus anthracis* molt precoçment. El nombre d'espores necessari en una dosi per a matar el 50 % d'un grup de animals passa de  $10^4$  a  $10^9$  en un termini curt després de néixer. Les rates gnotobiòtiques mai no presenten aquesta resistència, que hom pot atribuir a la presència dels bacteris normals.
2. Els conills porquins gnotobiòtics o famolencs són fatalment infectats per *Shigella flexneri*, mentre que els animals normals són del tot resistent (Gordon i Pesti, 1971).
3. Els conills porquins normals són resistent a la inoculació oral de *Vibrio cholerae*. Però hi són susceptibles després d'afamegament, alcalinització de l'estómac, injeccions intraperitoneals de morfina o tractament amb estreptomina (Freter, 1955). El vibrió colèric no s'estableix als budells dels ratolins normals, mentre que colonitza luxuriantment els dels ratolins gnotobiòtics (Miller i Sack, 1968).
4. Igualment, els ratolins normals són bastant resistent a *Salmonella*, però s'hi fan susceptibles després d'ésser tractats amb antibiòtics. Hom demostrà que mentre la dosi letal de *Salmonella typhimurium* era normalment més gran de  $10^6$  cfu/ml (cfu = «colony forming unit», unitat formadora de colònia), aquesta dosi era reduïda a  $10^{-1}$  cfu/ml quan hom tractava prèviament els ratolins amb estreptomina. Amb *Salmonella enteritidis* eren necessàries  $10^6$  cfu/ml per a infectar el 50 % dels ratolins normals, però la dosi quedava en  $10^3$  cfu/ml després d'afamegament o d'injecció de morfina, i en menys de 10 cfu/ml després de tractament



amb estreptomycina. Aquests fenòmens foren interpretats adientment en ésser demostrat que l'eliminació del cec de *Bacteroides* (responsable del 90 % de la flora bacteriana de les femtes) era la causa principal de l'augment de la susceptibilitat dels ratolins. I no solament afectava el nombre de bacteris sinó també la concentració de llurs productes metabòlics, àcids butíric i acètic, els quals resultaven bactericides per a *Salmonella* (Meynell, 1963).

Els antibiòtics exògens alteren la flora de manera que les espècies resistents es multipliquen damunt llurs competidors habitualment més nombrosos. Els estafilococs i els llevats són els microorganismes oportunistes resistents als antibiòtics més freqüents (Sack, 1969).

Tots aquests fets són directament comparables amb l'observació ecològica general que les comunitats establertes en un biòtop impedeixen l'establiment de noves poblacions invasores, i reafirmen la importantíssima acció protectora que els microorganismes residents exerceixen sobre l'hoste, en el nostre cas el cos humà.

## **Desenvolupament de la flora microbiana de l'intestí**

En tots els animals investigats hom ha trobat microorganismes al tub digestiu. Aquesta flora microbiana és bastant estable al llarg de la vida de l'individu, i proporciona al seu hoste una sèrie de beneficis, alguns dels quals ja han estat esmentats.

Són ben coneguts els casos del rumianats i dels isòpters (tèrmits) que alberguen una nombrosa població de protozous i de bacteris digestors de cel·lulosa, que permeten als hostes una vida més lliure tròficament, basada en l'herba o en la fusta, cosa que no poden fer quasi tots els altres animals. El protozou simbiònt *Myxotricha paradoxa* és un exemple de com poden resultar complexes les relacions entre éssers vius. El *Myxotricha* és albergat per l'intestí d'un isòpter australià, però ensems ell alberga tres bacteris simbiònts: dos a la superfície i un a l'interior (Margulis, 1971). Hom desconeix els possibles beneficis que el protozou obté de la seva simbiosi amb unes espiroquetes i uns bacteris desconeguts adossats a la seva paret cel·lular (figura 1).

Com veiem, les possibilitats de complicacions biològiques no queden limitades als mamífers o a l'home. Cada organisme actual és el resultat d'un procés continu d'assaigs i de perfeccionaments, els quals són els constituents de l'evolució de les espècies. La flora microbiana dels mamífers és ben coneguda, i en alguns animals ha estat objecte d'una intensa experimentació.

Els mamífers a l'úter són normalment estèrils, i hi són colonitzats pels bacteris des del moment del part. Schaedler, Duboc i Costello (1965) estudiaren l'evolució de les poblacions bacterianes en diverses seccions del tub digestiu d'una soca especial de ratolins (la NCS). Llurs experiments



FIG. 1.—Simbiosi complexa entre tres diferents bacteris i el protozou *Myxotricha paradoxa*, el qual, al seu torn, és simbiònt del tracte intestinal d'un isòpter australià. Els bacteris són les formes allargades i el·lipsoïdals tallades longitudinalment a prop o en contacte amb la paret de *Myxotricha*; el tercer bacteri no es veu a la micrografia.

demostren una colonització sistemàtica i ordenada de totes tres seccions del tracte gastro-intestinal: estómac, intestí prim i intestí gros. Els lactobacils i els estreptococs anaeròbics són més ràpids a ocupar l'àrea nua i a dominar l'hàbitat (figura 2). Els flavobacteris arriben a concentracions tan altes com els lactobacils fins al desè dia; després, desapareixen de sobte. Els coliformes (fermentadors lents de la lactosa), els enterococs i, molt després, a partir del dia setzè, *Bacteroides* (anaeròbic estricte), queden reclusos a l'intestí gros. Una vegada establerta, aquesta flora resta més o menys estable per a tota la vida del animal.

A la taula 2 s'indica la constitució de la flora microbiana normal de diverses seccions del tub digestiu de tres mamífers: ratolí (NCS), gos i home. Hom pot veure les xifres absolutes (a la vora de  $2 \times 10^9$  cfu/ml per a *Bacteroides* al còlon), i fer-se una idea de la composició relativa en cadascuna de les seccions. (Adaptat de Sack, 1969, pàg. 37.)

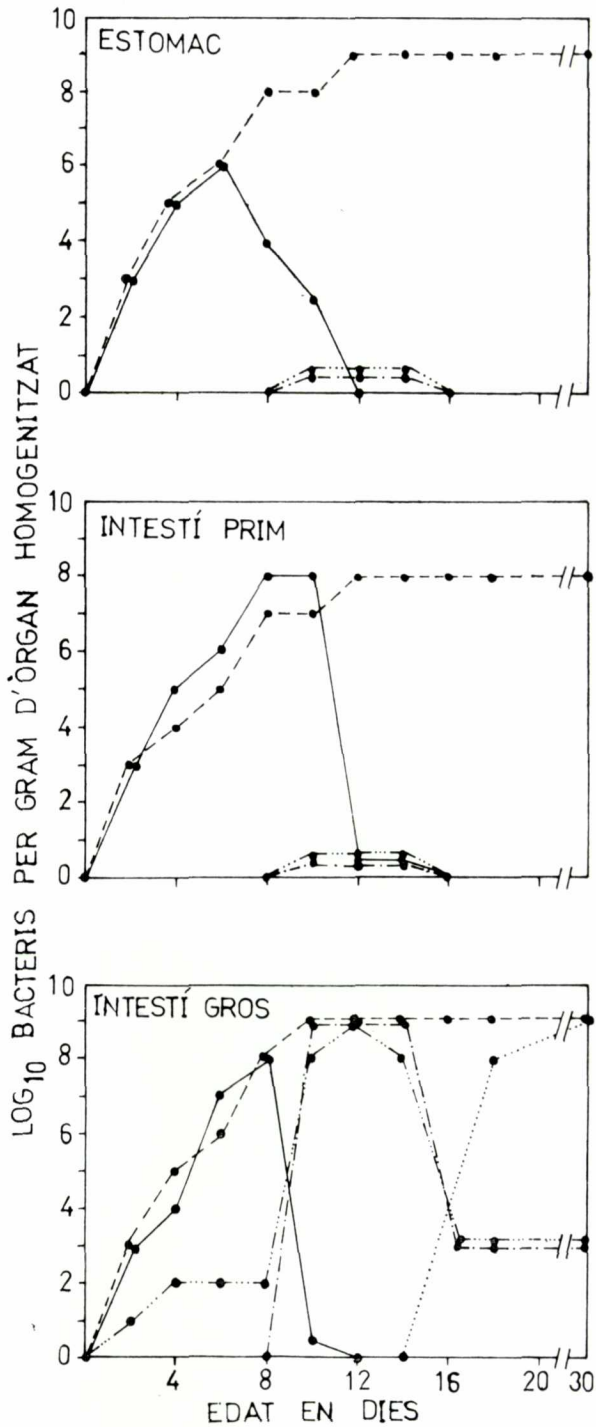


FIG. 2. — Desenvolupament de la flora entèrica en els primers dies de vida d'uns ratolins experimentals.  
 Lactobacils i estreptococs anaerobis: - - - -  
 Flavobacteris: ———  
 Coliformes: - · - · -  
 Enterococs: ·····  
 Bacteroides: ·····

TAULA 2

Població microbiana normal de tres regions del tracte gastro-intestinal del ratolí, del gos i de l'home. (Les xifres indiquen la dimensió estimada de la població en  $\log_{10}$ .)

REGIÓ		Ratolí	Gos	Home
Estómac	Coliformes	2,0	4,4	—
	Clostridis	1,7	5,2	—
	Estreptococs	6,0	5,5	0,3
	Lactobacils	7,7	4,2	0,9
	Llevats	6,7	—	—
	<i>Bacteroides</i>	—	—	—
Ili	Coliformes	4,0	5,2	4,0
	Clostridis	—	6,2	—
	Estreptococs	6,7	7,0	1,2
	Lactobacils	8,0	5,8	2,4
	Llevats	6,7	—	2,8
	<i>Bacteroides</i>	—	—	4,2
Còlon	Coliformes	6,0	7,2	6,8
	Clostridis	1,7	7,8	3,2
	Estreptococs	6,7	9,3	5,5
	Lactobacils	6,6	9,0	7,1
	Llevats	6,6	—	1,3
	<i>Bacteroides</i>	9,4	9,3	9,3

### Establiment de la patogènia. Virulència

Els bacteris causen malalties mitjançant dos mecanismes bàsics: invasió dels teixits i producció de toxines. Aquests dos fenòmens són difícilment separables, ja que la invasivitat pot ésser ajudada per una certa toxicitat propera i la toxigènia necessita algun grau de multiplicació del microorganisme dins els teixits. Típicament disposem d'exemples de patògens quasi exclusivament invasors, com *Streptococcus (Diplococcus) pneumoniae*, quasi exclusivament toxigènics, com *Clostridium tetani*, o també espècies alhora invasores actives i productores de toxines, com *Streptococcus pyogenes*.

Els termes «patogenicitat» i «virulència» no tenen una clara distinció semàntica. La patogenicitat denota la capacitat del microorganisme per a produir el procés infecció i les lesions subsegüents. La virulència introdueix a la patogènia la qualificació gradativa, i és mesurada quantitativament en termes de la dosi mitjana suficient per a matar en un període de temps el 50 % dels animals inoculats (Lwoff, 1959).



La virulència d'una soca bacteriana depèn de la seva invasivitat, de la seva toxigenicitat o de la combinació d'ambdues. La variació en la virulència pot dependre de canvis en el patogen, en l'hoste, o en tots dos. La modificació del patogen pot ésser conseqüència d'alteracions genètiques, heretables, o de canvis fenotípics no heretables.

Les alteracions genètiques heretables poden ésser degudes a mutacions, processos de recombinació genètica entre bacteris, lisogenització, adquisició de plàsmids, etc.

Les mutacions són canvis en l'estructura del material genètic dels organismes, àcid desoxiribonucleic (DNA) als bacteris i éssers eucariòtics, i tant DNA com RNA (àcid ribonucleic) als virus.

El material genètic dels bacteris hom postula (hi ha diversos casos demostrats) que és constituït per una sola molècula de DNA bicatenari unida covalentment (sense extrems lliures), és a dir, circular. Aquesta molècula és anomenada, per analogia amb els éssers eucariòtics, «cromosoma», però, a diferència dels autèntics cromosomes del eucariònt, 1) està pràcticament nua, no té les proteïnes bàsiques que caracteritzen aquests, i 2) el seu nombre és sempre d'un, encara que pot haver-n'hi més d'una còpia per citoplasma bacterià (els éssers eucariòtics en tenen sempre més d'un, en estat diploide, essent un cas extrem de reducció el del cuc paràsit *Ascaris univalis*, que en té solament dos).

El cromosoma bacterià més ben estudiat és el de l'*Escherichia coli*. Té una longitud aproximada estirat d'1,2 mm (unes 1000 vegades la llargada del bacteri!), i per tant hom suposa que ha d'ésser supercargolat dins la cèl·lula. La figura 3 indica una de les diverses hipòtesis a l'abast.

És una molècula enorme, la més gran coneguda a la biosfera, amb un pes aproximat de 2.200 milions de dàltons o uma («unitat de massa atòmica»). El pes mitjà, calculat per mètodes moleculars precisos, és d'unes 196 uma/Å. És composta per uns 3,5 milions de parelles de bases (purina-pirimidina) i té doncs una «cabuda» genètica (deixant una part de les bases per a les zones intergèniques) d'uns 3000 gens, dels quals es coneixen avui prop de 500 (Taylor i Trotter, 1972, i comunicacions personals més recents), més del 15 % del màxim contingut genètic possible.

Les mutacions es produeixen per canvis a la seqüència de bases, per transició, transversió, intercalació o deleció (més o menys llarga). Aquest canvis determinen sovint, però no sempre, la modificació del producte genètic, per exemple un enzim, i això pot tenir com a conseqüència l'alteració d'una funció metabòlica, o d'una estructura, del bacteri.

Les mutacions afecten les propietats invasives i toxigèniques de molts bacteris, per la qual cosa hom suposa que les esmentades propietats són normalment codificades i regulades per llur material genètic, bé procedent del mateix cromosoma bacterià o bé procedent de material extracromosòmic, plàsmids.

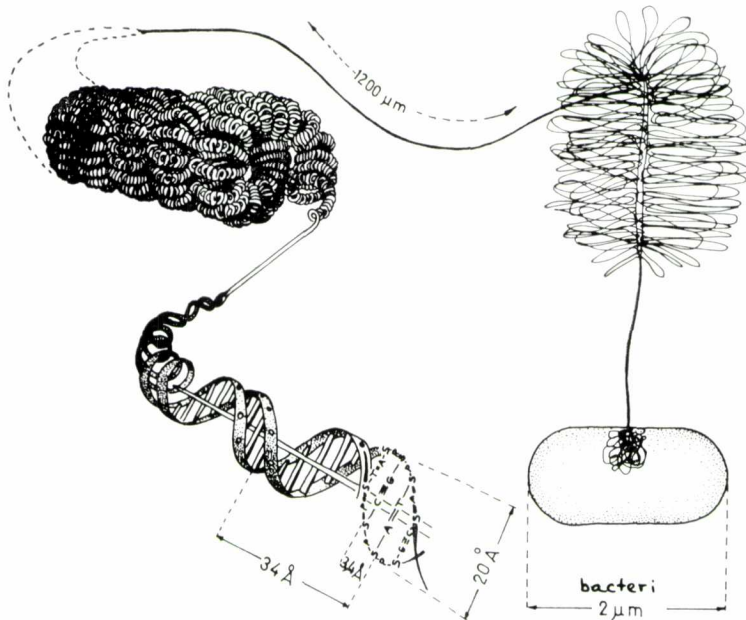


FIG. 3.— Esquema d'una possible organització del DNA dins d'un bacteri.

### Modificació de la invasivitat

Com hem esmentat, moltes superfícies del cos humà ofereixen hàbitats idonis per a la implantació i àdhuc la proliferació de microorganismes, molts d'ells apatògens normalment (V. taula 1). Hi ha però molts exemples de microorganismes residents que són responsables o coadjuvants de malalties, de vegades perfectament identificades i de vegades conseqüència de processos inconspicuos i/o complexos. A la taula 3 (adaptada d'Isenberg i Painter, 1974) són inclosos alguns microorganismes residents que en ocasions poden resultar invasors patogènics.

Els bacteris clarament patògens, identificats com a agents causals de processos infecciosos típics, tenen o bé un gran poder invasor o bé una gran capacitat toxicogènica, o ambdues coses en graus variables. Cal dir que molts microorganismes no són ni molt menys patògens estrictes, la vida dels quals depengui de l'activitat vital de l'hoste (com és el cas dels virus) o dels seus productes, i que per tant encara no han pogut ésser reproduïts en cultius axènics (rickètsies, clamidis, *Mycobacterium leprae*, *Treponema pallidum*).

Alguns bacteris patògens són residents habituals de medis naturals, aigües o terres, i en alguns casos extrems, com el de *Clostridium tetani*, la infecció pot ésser considerada quasi com un accident que li esdevé al microorganisme, el qual vivia tranquil·lament en el seu hàbitat natural, el sòl, i no voldria ficar-se en embolics d'animals hostes que poden morir-se,

TAULA 3

Microorganismes residents en el cos humà que poden resultar invasors patogènics ocasionals, amb menció de llur localització habitual i alguns dels processos infecciosos que poden determinar

<i>Microorganisme</i>	<i>Localització anatòmica</i>	<i>Procés infecció</i>
BACTERIS		
<i>Achromobacter</i> spp.	Nas, tracte gènito-urinari, pell	Meningitis, uretritis, infecció de cremades
<i>Actinomyces</i> spp.	Boca, gola, amígdals, dents	Actinomicosi, càlculs salivals
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Femtes	Tractes urinari i respiratori, conjuntivitis, meningitis
<i>Bacteroides</i> spp.	Femtes, boca, gola	Endocarditis bacteriana, abscessos
<i>Clostridium</i> spp.	Femtes, pell, vagina	Miositis per clostridis, cel·lulitis
<i>Corynebacterium</i> spp.	Nasofaringe, pell, vagina	Endocarditis bacteriana
Enterobacteriaceae ( <i>Escherichia</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Proteus</i> , etc.)	Femtes, vagina, boca, uretra	Diverses malalties dels tractes respiratori, digestiu i urinari, meningitis, abscessos, peritonitis, etc.
Enterococs	Femtes	Infecció ferides i sang, endocarditis
Estreptococs víridans	Saliva	Endocarditis
<i>Fusobacterium</i> spp.	Boca, saliva, femtes	Mossegades humanes infectades, gangrena
<i>Haemophilus</i> spp.	Nasofaringe, conjuntiva, vagina	Laringotraqueobronquitis, meningitis, conjuntivitis, etc.)
<i>Lactobacillus</i> spp.	Boca, femtes, vagina	Escasses referències d'endocarditis i abscessos pulmonar (una citació)
<i>Moraxella</i> sp..	Nas, tracte gènito-urinari	Conjuntivitis
<i>Mycobacterium</i>	Prepuci, clítoris, pulmó, femtes, amígdals, pell	Hom en sospita la contribució en alguns processos infecciosos atípics
<i>Neisseria</i> spp.	Gola, boca, nas	Rarament meningitis
<i>Nocardia</i> spp.	Boca, nasofaringe	Nocardiosi
<i>Peptostreptococcus</i> spp.	Boca, femtes, vagina	Formació d'abscessos, gangrena
<i>Pseudomonas</i> spp.	Femtes, pell	Infeccions cremades, ferides tracte urinari i respiratori, meningitis
<i>Staphylococcus aureus</i>	Nas, pell	Infecció a qualsevol àrea del cos, malalties nosocomials.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Pell, nas, vagina	Endocarditis flebitis nosocomial, acne
<i>Veillonella</i> spp.	Saliva	Endocarditis bacteriana

## FONGS

<i>Candida albicans</i>	Boca, orella, amígdales, femtes, genitals externs, vagina	Candidiasi, septicèmia, pneumonitis, endocarditis
<i>Cryptococcus neoformans</i>	Pell, membranes mucoses	Meningitis, pneumonitis
Dermatòfits	Pell, especialment als peus	Dermatofitosis
<i>Geotrichum candidum</i>	Femtes, gola, esputs	Rarament pneumonitis
<i>Pytyrosporium</i> spp.	Pell del cap i d'altres llocs	Probablement pitiriasi versicolor

## PROTOZOUS

<i>Giardia intestinalis</i>	Femtes	Giardiasi
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Vagina, uretra anterior	Tricomoniasi

com suggereix el fet que en aquests darrers el clostridi té poc poder invasiu, es reproduïx molt malament (manca d'anaerobiosi) i tracta d'esporejar com més aviat millor.

En envair el cos, els microorganismes patògens es troben amb els fagòcits. Molts bacteris són destruïts ràpidament si són fagocitats (*Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*), però d'altres poden sobreviure i àdhuc multiplicar-se dins els fagòcits, la qual cosa condueix de vegades a la destrucció d'aquestes cèl·lules. Bacteris com *Mycobacterium tuberculosis*, *Brucella abortus*, *Salmonella typhosa*, etc., tenen unes complexes relacions metabòliques i enzimàtiques amb el fagòcit. Per part del patògen, aquestes relacions estan determinades pels diversos trets genotípics de cada soca, i algunes d'elles van essent desvetllades. Quan els bacteris i la cèl·lula humana estan en equilibri, les esmentades relacions determinen un estat de parasitisme intracel·lular persistent. Els patògens que es comporten com a paràsits intracel·lulars donen lloc freqüentment a malalties cròniques, com la tuberculosi.

És interessant de fer notar que, des del punt de vista del patògen, aquest darrer tipus de relació adaptativa és més apropiat per a augmentar el temps de permanència a l'hoste, i segurament també la seva eficàcia biològica («fitness»). Els microorganismes que, com *Mycobacterium tuberculosis*, acompanyen l'hoste durant anys, permetent que aquest es reproduïxi, es mantindran més temps en nombre important d'individus de les poblacions que parasiten que no pas aquells altres atacants virulents que causen uns danys ràpids, com *Yersinia pestis* o *Vibrio cholerae*.

## Invasivitat i toxigenicitat com a trets genètics

Les soques bacterianes que resisteixen la fagocitosis ho fan gràcies a tenir components antifagocítics a la superfície cel·lular. Aquests són sovint



càpsules perfectament visibles al microscopi. Les càpsules són estructures polimèriques hidròfiles que envolten la paret bacteriana i que inhibeixen la ingestió pels fagòcits. Hom ha analitzat l'estructura química de moltes càpsules, i podem citar, entre els grampositius, el cas del pneumococ tipus 3, amb càpsula composta per un polímer de glucosa i àcid glucurònic, i el del *Bacillus anthracis*, integrada per un polipèptid d'àcid D-glutàmic.

En totes les soques amb càpsula resistents a la fagocitosi que hem estudiat, hom pot detectar la pèrdua d'aquesta estructura per mutació. Això és una demostració que la producció de càpsula, i per tant, l'esmentada resistència, és un tret genètic (el qual pot expressar-se o no, ja que molts bacteris solament ho fan si es troben determinades substàncies a llur entorn). Un exemple d'importància per a la història de la biologia és el del pneumococ capsulat, S, i acapsulat, R. Les soques acapsulades són fagocitades amb facilitat, i per tant resulten pràcticament avirulentes (en experiments amb ratolins). El canvi R  $\rightarrow$  S es pot fer per adquisició d'un sol gen portat per un tros curt de DNA, en un experiment de recombinació genètica entre bacteris (soca S donadora de DNA i soca receptora R) denominat transformació, el qual va assolir un gran significat per a la fundació de la genètica bacteriana. En molts altres bacteris, tant grampositius com gramnegatius (*Escherichia*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Brucella*, etcètera) es coneixen soques S i R, virulentes i no, caracteritzades per la presència o absència de càpsules i que poden mutar d'un tipus a l'altre.

Referint-nos a altres tipus d'estructures bacterianes, podem prestar atenció a la paret cel·lular. Els bacteris gramnegatius presenten una complicació estructural de la qual manquen els grampositius: per sobre de la capa glucopeptídica tenen una estructura complexa, integrada per proteïnes, fosfolípids i lipopolisacàrids (LPS), que ha estat denominada «membrana externa». La figura 4 (basada en Costerton i col·lab., 1974), presenta una moderna esquematització de la paret cel·lular de molts bacteris gramnegatius.

Aquesta membrana externa de la paret (el nom no resulta moltafortunat, ja que recorda la «membrana interna», la qual no pertany a la paret cel·lular sinó que és la membrana citoplasmàtica de la cèl·lula), conté unes cadenes laterals externes, els LPS, que corresponen als antígens O, i també a moltes endotoxines. Els LPS tenen una gran importància en el diagnòstic i en la patogènia. Mentre que la part lipídica (lípid A, responsable de la toxicitat) és bastant constant als enterobacteris, el polisacàrid (responsable de l'especificitat antigènica) canvia molt entre espècies i soques. Al mapa cromosòmic d'*Escherichia coli* i *Salmonella typhimurium* s'han identificat molts mutants de paret amb constitució de polisacàrids alterats o absents. Per contra, el lípid A deu tenir una funció essencial a la paret cel·lular, perquè no han estat trobats mutants que no en tinguin (Roantree, 1967; Taylor i Trotter, 1972).

Des de fa temps hom reconeix damunt la paret cel·lular de molts bacteris la presència d'unes estructures anomenades fimbries o pèls («fimbriae,

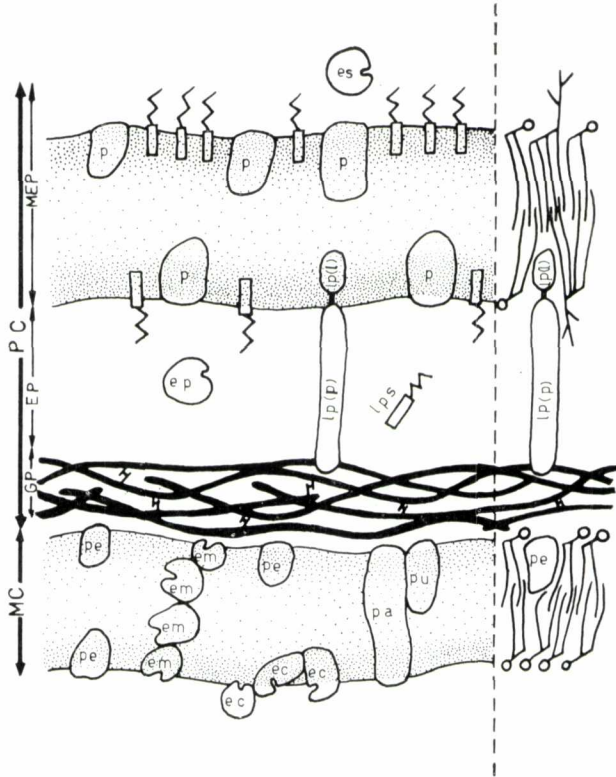


FIG. 4. — Esquema de la constitució fonamental de la membrana citoplasmàtica i paret cel·lular d'un bacteri gramnegatiu. (Vegeu el text.)

pili»), molt més curtes que els flagels i que neixen entre ells. Algunes fimbries han estat indubtablement relacionades amb la conjugació bacteriana (per electromicrografia directa, absorció específica de bacteriòfags que ataquen només els mascles, com R17, MS2, M13, etc.). Però hi ha molts més tipus de fimbries de funció desconeguda. Qualsevol electromicrografia d'una *Escherichia coli* mascle revela l'existència, almenys, de dues classes més de fimbries, a part de les sexuals, més amples i llargues. De molts altres bacteris ha estat citada la presència de fimbries, àdhuc bacteris no flagellats com són els cocs i concretament el gonococ.

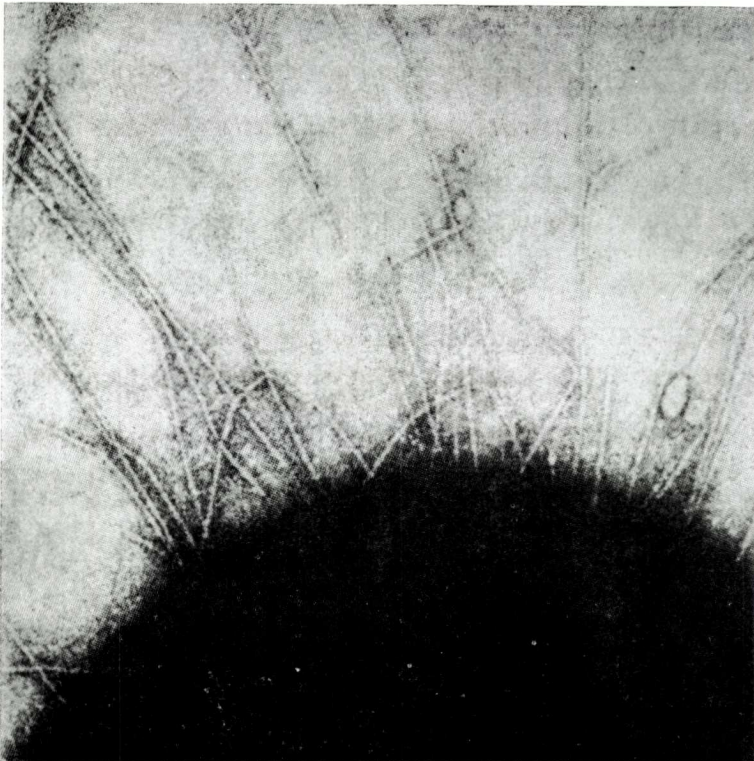
Fa més d'un decenni que Douglas Kellogg, a Atlanta, observà que la *Neisseria gonorrhoeae* podia ésser dividida en quatre grups, distingibles per la morfologia colonial en plaques d'agar. En proves amb voluntaris trobà que dos d'aquests tipus produïen gonorrea, mentre que els altres dos no. Ha estat demostrat recentment que els gonococs virulents tenen fimbries en llur superfície, i els avirulents no.

La capacitat de produir fimbries està determinada genèticament, en-

cara que, com hem vist en altres casos, aquesta capacitat pot expressar-se o no, depenent dels factors ambientals, per exemple abundància de ferro, o del tipus de residència (els gonococs subcultivats repetidament en medis axènics perden la virulència i les fimbries).

Per relacionar la patogènia amb la presència de fimbries han estat aportades diverses hipòtesis. Una d'elles proposa que les fimbries fan que els gonococs s'enganxin a les cèl·lules hostes, amb què eviten d'ésser arrossegats cap enfora, i als espermatozoides, amb què penetren més fàcilment al tracte reproductiu femení. Thomas Buchanan i W. A. Pearce, de la Universitat de Washington, demostraren que fimbries purificades i aïllades de gonococs virulents s'enganxen fàcilment a cèl·lules humanes, bé que la capacitat d'unió varia segons el tipus cel·lular. Per exemple, les cèl·lules de la cèrvix o de la vagina enganxen unes mil fimbries per cèl·lula, però les cèl·lules HeLa n'enganxen solament entre una i deu, cadascuna. El 1975, Buchanan i els seus col·laboradors desenvoluparen un assaig ràdio-immunològic i mostraren que els humans produeixen anticossos per a les fimbries en

FIG. 5.— Fimbries sobre la superfície d'un gonococ, la presència de les quals augmenta la patogenicitat del bacteri.





ésser infectats pel gonococ. Buchanan trobà almenys sis tipus antigènics de fímbríes, i que la infecció amb una soca de gonococ no protegia de la infecció amb una altra soca posseint fímbríes antigènica diferents.

Una de les raons que justifica que la gonorrea continuï essent endèmica a les poblacions humanes és l'aparent falta d'immunitat. Aquesta manca pot ésser deguda a la diversitat antigènica de les fímbríes i de les superfícies gonocòciques, a més de la secreció per part del gonococ i del meningococ d'un enzim que trenca alguns anticossos, per exemple els del tipus  $I_gA_1$ , produïts en resposta a la infecció (Kolata, 1976).

La toxigenicitat d'espècies bacterianes virulentes és igualment subjecte de variació genotípica. En alguns casos la producció de toxina pot perdre's per simple mutació. En d'altres, com és l'exemple conspicu del bacil diftèric, la capacitat de produir toxina s'adquireix per un mecanisme de lisogenització o àdhuc de transferència plasmídica.

El *Corynebacterium diphtheriae* té soques toxigèniques i atoxigèniques. Solament produeixen toxina diftèrica aquelles soques que han estat infectades amb un bacteriòfag atenuat específic (anomenat  $\beta$ ), el qual ha quedat incorporat al material genètic bacterià. Mentre el material genètic del virus és dins el bacteri i és controlat per aquest, hi ha secreció d'una potent exotoxina.

El virus pot independitzar-se i formar la seva càpsida, amb la qual cosa el bacteri és destruït. Però si no ho fa, la propietat toxigènica es transmet de generació en generació, com un caràcter genètic heretable. Hom ha qüestionat si el material genètic de  $\beta$  s'integra físicament en el cromosoma del *Corynebacterium* o bé si es manté autònom, com fan els plàsmids i àdhuc alguns bacteriòfags, per exemple el P1 de l'*Escherichia coli*.

Un procés similar de lisogenització determina la producció de toxina de l'escarlatina per *Streptococcus pyogenes*. Sembla també probable que altres bacteriòfags atenuats siguin responsables de la toxigenicitat de diferents bacteris patògens.

Exemples com el del bacteriòfag  $\beta$  (o bé l'episoma  $\beta$ , ja que la diferència en molts casos és bastant subtil, depenent sols de l'activitat o de la inactivació de gens morfogenètics per la càpsida vírica) ens fan palesa la importància dels mecanismes d'herència extracromosòmica als bacteris, tant des del punt de vista teòric com del pràctic. Seguidament, veurem un dels casos més notables d'aquest tipus d'herència i de les més recents aportacions de la genètica bacteriana.

## **Determinació genètica dels fenòmens de resistència**

El mes d'agost de 1972 ingressava a l'hospital de la Universitat de Califòrnia, a Davis, una heroïnòmana que patia una endocarditis produïda per *Candida parapsilosis*. El microorganisme demostrà ésser resistent al fàrmac utilitzat en casos similars, fluorocitosina (FC), i la pacient morí al cap de pocs dies.



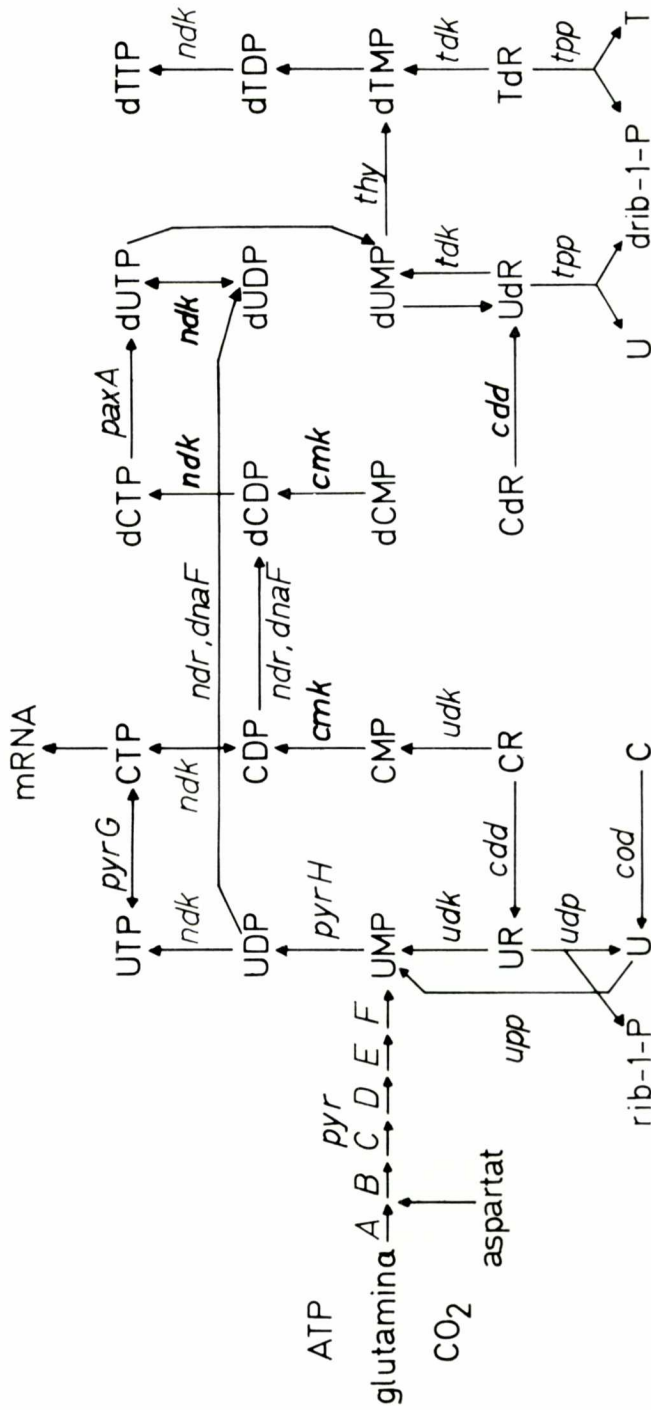


FIG. 6.— Vies de síntesi i interconversió de les pirimidines. (Vegeu en el text la significació del gen *cod*.)

Les vies d'interconversió de pirimidines mostrades a la figura 6 indiquen el perquè del tractament: els humans no tenim l'enzim citosindesaminasa (codificat per gen *cod*) i per tant som bastant insensibles a la FC (la qual no es pot ribosilar directament a citidina *in vivo*). Els llevats, com els bacteris, tenen normalment l'enzim codificat per *cod*, i per tant poden incorporar l'anàleg de la citosina a llurs àcids nucleics, i això causa una forta letalitat. L'anàlisi enzimàtica de la soca de *Candida parapsilosis* aïllada *post mortem* demostrà que efectivament el microorganisme havia perdut la capacitat citosindesaminàsica, mentre que conservava les altres activitats enzimàtiques (uracilpirofosforilasa, codificada per *upp*, citidindesaminasa, per *cdd*, etc.) (J. L. Ingraham, comunicació personal).

Així doncs, una simple mutació, al gen *cod*, pogué marcar en l'exemple esmentat una diferència tan gran com per fer el patògen insensible al tractament. En aquest cas, com en molts altres, una mutació cromosòmica pot fer resistent un microorganisme a una determinada droga.

La mutació, però, és un esdeveniment molt poc freqüent. I, cas de produir-se, confereix resistència a una sola substància. No obstant això, l'any 1959, Ochai i Akiba citaren independentment al Japó un nou fenomen de resistència múltiple a drogues, que podia transferir-se amb una alta freqüència d'uns enterobacteris a uns altres, tant *in vivo* com *in vitro*. Aquesta transferència tenia caràcter infecciós i es produïa com una reacció en cadena. Tsutomu Watanabe i d'altres investigadors occidentals compregueren immediatament la importància del descobriment i iniciaren un estudi a fons dels plàsmids que foren denominats després factors R, o de resistència a antibiòtics.

La història posterior és prou coneguda, i no cal repetir-la. Citarem, com o referència bàsica, tres llibres sobre aquest tema, el de Wolstenholme i O'Connor, 1969, el de Schlessinger, 1975, i el de Falkow, 1975, on qualsevol interessat podrà fer-se una idea bastant completa de l'estat de la situació.

La importància del tema, tant des del punt de vista doctrinal i molecular de la genètica bacteriana com del de l'aplicació a les situacions pràctiques, és transcendental. El 1971, uns pocs mesos després que hagués estat introduïda la gentamicina a la pràctica clínica, aparegueren bacteris resistents a aquest antibiòtic (i ensems també al cloramfenicol, l'ampicil·lina i la sulfonamida). Avui en dia es coneixen factors de R que codifiquen resistència contra quasi tots els antibiòtics coneguts. Encara que experimentalment es poden «curar» els bacteris de llurs plàsmids utilitzant substàncies com el taronja d'acridina (V. referències a Guerrero i Parés, 1969), el bromur d'etidí, el cobalt, etc., aquest tractament no es pot aplicar en l'hoste humà, i els factors R continuen essent un perill potencial per a la humanitat (Anderson, 1968; So i collab., 1975).

Els factors R són constituïts per molècules de DNA bicatenari, circular, amb pesos moleculars que varien des d'un megadàlton ( $10^6$  uma) a cent megadàltons ( $10^8$  uma), un marge comparable a la distribució de pesos dels DNA dels virus bacterians. Però és una molècula molt complexa, amb



FIG. 7. — Micrografia electrònica d'un plàsmid de resistència a antibiòtics. És constituït per una molècula circular, tancada, de DNA bicatenari.

capacitat d'independització de diverses parts (factor de transferència, RTF, factor de resistència, RF, constituint un cointegrat plasmídic) o àdhuc portant una existència fragmentària separada (factors delta més factors de resistències independents, constituint un agregat plasmídic). Cada dia es descobreixen noves interrelacions i nous tipus moleculars, la qual cosa ens permet d'albirar un dels caps d'investigació futura més atractius.



Per a finalitzar aquest petit resum d'algunes de les idees actuals sobre les relacions ecològiques entre hostes i patògens, i els mecanismes genètics que determinen la patogenicitat, caldria dir que la comprensió d'aquestes relacions i d'aquests mecanismes serà un pas més, però de la màxima importància, en el llarg camí iniciat per la nostra espècie des del moment de la seva diferenciació evolutiva, camí que comporta, en trepitjar-lo, dues obligacions nostres amb la resta de la biosfera: utilitzar-la i interpretar-la, ambdues coses d'una manera racional.

## BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON, E. S.: «The ecology of transferable drug resistance in the enterobacteria». *Ann. Rev. Microbiol.* 22:131-180. 1968.
- COSTERTON, J. W., INGRAM, J. M., CHENG, K. J.: «Structure and function of the cell envelope of gramnegative bacteria». *Bacteriol. Rev.* 38:87-100. 1974.
- FALKOW S.: «Infectious multiple drug resistance». Pion Ltd. 1975.
- FRETER, R.: «The fatal enteric cholera infection of the Guinea pig achieved by inhibition of normal enteric flora». *J. Infect. Diseases* 97:57-65. 1955.
- GORDON, H. A., PESTI, L.: «The gnotobiotic animal as a tool in the study of host microbial relationships». *Bacteriol. Rev.* 35:390-429. 1971.
- GUERRERO, R., PARÉS, R.: «Efecte paradoxal del taronja d'acridina envers l'acció d'un factor episòmic de *Citrobacter intermedium* C3». *T. Soc. Cat. Biol.*, 27:81-90. 1969.
- ISENBERG, H. D., PAINTER, B. G.: «Indigenous and pathogenic microorganisms of man». Dins *Manual of medical microbiology* (E. H. Lennete, E. H. Spaulding & J. P. Truant, ed.) pp. 45-58. *American Soc. for Microbiol.*, 2.<sup>a</sup> ed. 1974.
- KOLATA, G. B.: «Gonorrhea: More of a problem but less of a mystery». *Science* 192:244-247. 1976.
- LWOFF, A.: «Factors influencing the evolution of viral diseases at the cellular level and in the organism». *Bacteriol. Rev.* 23:109-124.
- MARGULIS, L.: «Symbiosis and evolution». *Scient. Amer.* 225.2:48-57. 1971.
- M3fi921; M. J.: «Life on the human skin». *Scint. Amer.* 220.1:108-115. 1969.
- MEYNELL, G. G.: «Antibacterial mechanisms of the mouse gut. II. Role of Eh and volatile fatty acids in the normal gut». *Brit. J. Exptl. Pathol.* 44:209-219. 1963.
- MILLER, C. E., SACK, R. B.: «Serotypic changes of *Vibrio cholerae* in germ-free mice». *Advances in Germ-Free Research and Gnotobiology*. Chemical Rubber Co. Cleveland, Ohio. 1968.
- PORTER, R. J.: «Amebiasis». *Ann. Rev. Microbiol.* 7:273-294. 1953.
- ROANTREE, R. J.: «Salmonella O antigens and virulence». *Ann. Rev. Microbiol.* 21:443-466. 1967.
- SACK, R. B.: «The ecology of the gastrointestinal tract». *Biology of populations* (B. L. Sladen & F. B. Bangs, eds.) pp. 35-46. American Elsevier Pub. Co. 1969.
- SCHAEDLER, R. W., DUBOS, R., COSTELLO, R.: «The development of the bacterial flora in the gastrointestinal tract of mice». *J. Exptl. Med.* 122:59-66. 1965.
- SCHLESSINGER, D. (ed.): «Microbiology-1974». *Amer. Soc. for Microbiol.* 1975.
- SO, M., CRANDALL, J. F., CROSA, J. H., FALKOW, S.: «Extrachromosomal determinants which contribute to bacterial pathogenicity». Dins: *Microbiology-1974* (D. Schlessinger, ed.) pp. 16-26. *Amer. Assoc. for Microbiol.* 1975.
- TAYLOR, A. L., TROTTER, C. D.: «Linkage map of *Escherichia coli* strain K-12». *Bacteriol. Rev.* 36:504-524. 1972.
- WOLSTENHOLME, G. E. W., O'CONNOR, M. (eds.): «Bacterial episomes and plasmids». J. & A. Churchill Ltd. 1969.