

# Perspectivas de la microbiología: el futuro inmediato.

Recent advances and future trends in Microbiology.

RUIZ-BRAVO, A. y JIMÉNEZ-VALERA, M.

Departamento de Microbiología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. 18071 Granada. España.

## RESUMEN

El impacto de las nuevas tecnologías está determinando notables cambios en la Microbiología. En este trabajo se revisan algunos de los avances de mayor trascendencia habidos en los últimos años: la secuenciación completa de genomas bacterianos; la identificación de microorganismos por técnicas genotípicas; el desarrollo de la microbiología clínica; el reconocimiento y las posibilidades de aplicación de la biodiversidad microbiana. A partir de la situación actual, se discuten las perspectivas de desarrollo de la Microbiología en los próximos años.

**Palabras clave:** Avances en Microbiología. Secuenciación de genomas. Identificación genotípica. Infecciones emergentes. Antimicrobianos. Biodiversidad.

## ABSTRACT

The technologic changes that have taken place during the past years lead the microbiological sciences to a new era. This review describes some recent advancements in several fields of Microbiology: the sequentiation of the complete genomes of free-living microorganisms; the genotype-based microbial identification; major technologic changes in clinical microbiology; the concept of biodiversity and its potential developments in the applied microbiology. The impact of technological advancements in Microbiology and the future trends are discussed. Antimicrobial agents.

**Key words:** Advancements in Microbiology. Genome sequentiation. Genotype-based identification. Emergent infections. Biodiversity.

Recibido: 27-3-1996.

Aceptado: 25-4-1996.

BIBLID [0004-2927(1996) 37:2; 171-181]

Desde los años 70, se han sucedido una serie de avances conceptuales y tecnológicos en las ciencias biológicas, que han determinado cambios importantes en la configuración de áreas como la Microbiología. La relación de los más

relevantes hitos incluye el descubrimiento de las endonucleasas de restricción de clase II, por Smith y Wilcox, en 1970, y sus posteriores aplicaciones como herramientas en la tecnología del DNA recombinante, iniciada tres años más tarde con la construcción del primer plásmido híbrido y su introducción, por transformación, en *Escherichia coli*; el desarrollo, en 1975, de la metodología de obtención de anticuerpos monoclonales, mediante construcción de hibridomas de plasmocitomas y células B inmunes, debido a Milstein y Köhler; y la amplificación específica de DNA mediante la reacción en cadena de la polimerasa, ideada por Kary Mullis en 1983 (revisado en 1).

La aplicación de los avances tecnológicos ha entrado en una dinámica exponencial, y su impacto sobre la estructura del conocimiento científico se ha podido apreciar, especialmente, en los países con mayor actividad en estas áreas, cuyo máximo exponente siguen siendo los Estados Unidos de Norteamérica. Con motivo de su elección como "president-elect" de la American Society for Microbiology, Stanley Falkow, uno de los principales responsables del desarrollo que, desde los años 60, ha experimentado la investigación sobre los mecanismos moleculares de patogénesis por bacterias, realizó algunas consideraciones sobre el momento actual de la microbiología y sus perspectivas inmediatas. El Prof. Falkow se refirió a los cambios "turbadores" ocurridos en la ciencia de la microbiología durante los últimos 5 años y constató que algunos Departamentos de Microbiología en Estados Unidos habían cambiado su denominación por considerar que el estudio de los microorganismos no iba a ser ya interesante o relevante; se refirió a la inminente secuenciación completa de los genomas de los más importantes microorganismos y al comienzo de la "era post-genómica" y declaró que, si bien no creía "ni por un momento que la tecnología fuese a dejar atrás a la creatividad, es ya tiempo de reconocer que la tecnología ha construido el camino por el cual nos acercamos a la microbiología", que es "muy diferente del que hemos venido utilizando en el pasado reciente" (2).

Estas reflexiones de un microbiólogo de gran relieve son un reflejo del impacto que el desarrollo tecnológico está teniendo sobre el área de Microbiología, y no solamente en los aspectos aplicados, sino en las actividades científicas y en el propio nivel académico. Como dice Doern (3), los cambios tecnológicos ocurridos en los últimos 20 años exceden en varios órdenes de magnitud a los que tuvieron lugar en los primeros 100 años de vida de la Microbiología. En este trabajo se revisan algunos de los aspectos más destacables que han supuesto cambios en la historia más reciente de esta ciencia y que se proyectan hacia el futuro inmediato de la actividad de los microbiólogos.

## LA SECUENCIACIÓN DE GENOMAS ENTEROS

El conocimiento de los fenómenos de transferencia de material genético entre bacterias y de los mecanismos de recombinación permitió la realización de

mapas genéticos que mostraban la posición de genes concretos en los replicones bacterianos. Pero las distancias intergénicas calculadas por análisis basados en la recombinación no coinciden con las reales sobre el replicón, lo que impulsó el desarrollo de métodos físicos, de los que el más inmediato sería la secuenciación, es decir, la dilucidación del orden en que se presentan las bases púricas y pirimidínicas. Sin embargo, las técnicas de secuenciación resuelven fragmentos pequeños de DNA, y el posterior ensamblaje de las secuencias parciales es extremadamente dificultoso. Así, el primer genoma secuenciado, en 1977, fué el de un bacteriófago, con 5.386 pares de bases. Posteriormente, se ha abordado la secuenciación de DNA de mayor tamaño, como cromosomas enteros del genoma de levaduras, pero como resultado del esfuerzo conjunto de un gran número de investigadores durante varios años. En la actualidad, están en marcha varios proyectos de secuenciación de genomas completos de diversos organismos, incluyendo el conocido proyecto de secuenciación del genoma humano. Todos estos proyectos han recurrido a una metodología (que ahora podemos denominar como "clásica") consistente en un lento y laborioso proceso de ruptura del cromosoma en trozos (por encima de las 40.000 bases cada uno), obtenidos por acción de endonucleasas de restricción, de forma que los trozos consecutivos se solapan entre sí. Estos trozos se subdividen a su vez en fragmentos menores que son secuenciados y ordenados en base a sus propios solapamientos, y una vez completadas las secuencias de los fragmentos mayores, se procede a reconstruir la secuencia del genoma entero. Estas dificultades determinaron que el desarrollo de la técnica de electroforesis de campo pulsado en gradiente de agarosa fuese, desde su primera aplicación en 1985, la técnica dominante en la construcción de mapas físicos; de 93 disponibles en 1994, 80 habían sido realizados por este método (4). Pero en 1995, el panorama experimentó un cambio radical: el trabajo en colaboración de los equipos dirigidos por Craig Venter en el Institute for Genomic Research (Gaithersburg, Maryland) y por el Premio Nobel Hamilton Smith en la Johns Hopkins University (Baltimore, Maryland), permitió conseguir, en un tiempo récord (cerca de 13 meses), el hito histórico de obtener la secuencia de nucleótidos del genoma entero de un organismo de vida libre, *Haemophilus influenzae* Rd (1,8 millones de pares de bases), a la que se adjudicó el número de acceso L42023 del "Genome Sequence Data Base" (5). La eficacia de la estrategia de Venter y Smith quedó contrastada con la casi simultánea secuenciación, por los mismos equipos, del genoma completo de otra bacteria, *Mycoplasma genitalium*. La conmoción en el mundo científico (reflejada en las amplias reseñas aparecidas en "Science", "ASM News", "Nature", etc...) se justifica, no ya por el hecho en sí de disponer de las secuencias completas de dos bacterias (con las extraordinarias perspectivas que esto supone para el conocimiento de nuevos genes y funciones), sino por la disponibilidad de una metodología que elimina la necesidad de esforzarse en obtener un mapa previo del genoma y, por tanto, es aplicable a una vasta colección de especies

microbianas de las que no se dispone de mapas genómicos. La metodología seguida por los equipos de Smith y Venter prescindió de los fragmentos intermedios; el genoma del organismo elegido (una cepa avirulenta del patógeno humano *H. influenzae*) fué fragmentado en unos 24.000 trozos; una vez secuenciados, el ingente problema de ensamblar las secuencias según su orden en el genoma se resolvió mediante aplicación de programas informáticos, entre los que resultó decisivo el software TIGR ASSEMBLER, creado en el Institute for Genomic Research.

Las consecuencias prácticas de la disponibilidad en DataBase de secuencias de genomas bacterianos enteros son a cual más interesante: se posibilita la exploración de la organización del genoma; se identifican nuevos genes, algunos de los cuales suministran explicaciones coherentes para aspectos concretos de la fisiología de la bacteria; se suministra información utilísima para abordar estudios de biología evolutiva y sustentar el trazado de árboles filogenéticos, así como para elaborar cebadores ("primers") que faciliten el clonaje de genes y los subsiguientes desarrollos biotecnológicos (producción de antibióticos, enzimas, vacunas, etc...).

## AVANCES EN MICROBIOLOGÍA CLÍNICA

La secuenciación de genomas no es un caso aislado de avance tecnológico. Por su conexión directa con la medicina, la microbiología clínica siempre ha revestido un especial relieve; en este campo, la introducción de nuevos métodos de trabajo (incluyendo el tratamiento informático de datos y la creación de programas especializados) ha supuesto cambios muy significativos en temas como la identificación de microorganismos (uso de sustratos miniaturizados, métodos automatizados), el estudio de la susceptibilidad a antimicrobianos (automatización), detección de bacteremia y de fungemia (automatización) y técnicas de inmunodetección de antígenos y de anticuerpos. La llegada de la biología molecular ha repercutido en todas estas áreas: no sólo por disponer de reactivos obtenidos por tecnología de DNA recombinante (p.e., antígenos para inmunoblot en el diagnóstico del SIDA), sino sobre todo por la introducción de técnicas como el uso de sondas de hibridación para identificar genes o fragmentos de DNA, sin y con amplificación previa por PCR y, conjuntamente, el empleo de métodos de detección del DNA cada vez más sensibles: tinción con bromuro de etidio y revelado con UV; uso de oligoradionucleótidos; uso de oligonucleótidos conjugados con enzimas capaces, ya sea de convertir un sustrato en compuesto coloreado, o de generar quimioluminiscencia (6). Estas técnicas permiten, no solo la identificación de un microorganismo patógeno, sino la detección de secuencias relacionadas con determinantes de virulencia o con resistencia a antimicrobianos (7). Estos avances técnicos plantean, sin embargo,

la necesidad de disponer de personal experto y cualificado para la evaluación y validación de nuevos métodos, antes de implantarlos sin conocer sus limitaciones y sus ventajas reales frente a métodos más tradicionales.

El potencial de las nuevas técnicas de diagnóstico molecular, debidamente empleadas, se ha puesto de manifiesto en algunos casos concretos de infecciones cuyo diagnóstico de laboratorio desafiaba a los métodos clásicos. Este fué el caso de la identificación del virus de la hepatitis C: a partir del RNA purificado del plasma de un chimpancé previamente infectado por inoculación de un fármaco hemoderivado contaminado, Choo et al. (8) construyeron una librería de cDNA; el análisis de los productos de expresión de los clones (alrededor de  $10^6$ ) permitió encontrar uno que reaccionaba con los anticuerpos presentes en el suero de un enfermo de hepatitis no A/no B, y la ulterior búsqueda de clones que solaparan con el así detectado permitió reconstruir el genoma de un virus RNA relacionado con la familia *Flaviviridae*.

En el caso de que el patógeno problema sea una bacteria, una estrategia simplificadora consiste en buscar secuencias de DNA muy conservadas en los procariotas; se recurre generalmente a secuencias correspondientes al rRNA 16S, pero hay otras alternativas posibles, como ciertas secuencias correspondientes al factor de elongación G o a las ATPasas implicadas en la translocación de protones (9). Esta metodología ha permitido resolver la identificación del agente causal de la angiomasitosis bacilar; los intentos por cultivar los bacilos visibles en los tejidos de los enfermos fueron repetidamente negativos, pero Relman et al. (10), usando como "primers" secuencias del DNA que codifica para el rRNA 16S, amplificaron mediante PCR material genético cuya secuenciación reveló el parentesco con una bacteria de posición taxonómica dudosa, *Rochalimea (Bartonella) quintana*; el éxito de posteriores aislamientos confirmó esta clasificación genotípica. La misma estrategia se aplicó a la identificación del bacilo asociado a la enfermedad de Whipple: se recurrió a la amplificación por PCR a partir de "primers" que reconocían secuencias muy conservadas del gen para el rRNA de 16S; el análisis de zonas específicas del material amplificado reveló el parentesco del agente causal con especies de *Streptomyces* y *Actinomyces* (11).

Una estrategia ingeniosa aplicada a la identificación de agentes virales fué la desarrollada por Chang et al. (12) para la detección de virus asociados al sarcoma de Kaposi, de alta incidencia en los enfermos de SIDA: se extrajo el DNA de tejido tumoral y de tejido normal del mismo hospedador; ambos fueron cortados con las mismas endonucleasas de restricción; los fragmentos procedentes del DNA de tejido tumoral se ligaron a oligonucleótidos "adaptadores" y se mezclaron con un exceso de los fragmentos procedentes de tejido normal; en tales condiciones, los fragmentos "normales" presentes en el DNA de tejido tumoral hibridaron mayoritariamente con sus homólogos del DNA extraído de tejido normal, sólo que aquellos poseían adicionalmente las secuencias "adaptadoras" y estos no, por lo que se formaron heteroduplex en los que las secuencias

“adaptadoras” se localizaban sólo en uno de los flancos; usando como “primers” las mismas secuencias “adaptadoras”, tras una serie de ciclos de PCR, el DNA extraño se amplificó exponencialmente, mientras que el DNA normal lo hizo de forma lineal. Esta estrategia condujo a la detección dos amplicones cuyas secuencias mostraron relación con el genoma de los herpesvirus; nuevas investigaciones han confirmado la asociación del sarcoma de Kaposi con un agente viral provisionalmente denominado herpesvirus humano 8 (HHV-8).

## DESAFÍOS EN LA MICROBIOLOGÍA DE LAS INFECCIONES

Pero la ilimitada confianza en las nuevas técnicas sería una actitud errónea. La experiencia, incluso muy reciente, nos indica la necesidad de estar preparados para los desafíos planteados por nuevas formas de infección. De hecho, la inquietud frente a la emergencia de nuevos agentes patógenos o la reactivación de agentes clásicos, que se suponían controlados y que reaparecen con nuevas distribuciones geográficas, nuevos modos de transmisión o nuevos factores de virulencia, ha sido una de las constantes en las grandes organizaciones sanitarias de los países más adelantados. El laureado pionero de la genética bacteriana, Joshua Lederberg, ha llamado la atención sobre la “complacencia” generada por la “era de los antibióticos”, que ha propiciado una serie de situaciones amenazantes como la aparición de micobacterias multirresistentes, graves brotes de cólera, salmonelosis y disentería por *Escherichia coli*, infecciones agudas por cocos y la neumonía por hantavirus (vectorizado por roedores), además de la pandemia por HIV (13). Una relación parecida es la elaborada por el director del NIAID (USA), Anthony S.Fauci; en el pasado, un solo agente infeccioso causaba devastadoras epidemias (*Yersinia pestis* en la Edad Media, *Influenzavirus* en la pandemia de 1918), pero en los últimos 20 años hemos asistido a la emergencia de la legionelosis, síndrome del choque tóxico, enfermedad de Lyme, fiebre Ebola y SIDA, mientras que los agentes de otras infecciones (caso de la tuberculosis) han desarrollado resistencias que comprometen el éxito de los tratamientos (14). La inquietante expansión del SIDA ha revelado la existencia de “nuevos” agentes infecciosos, como los herpesvirus humanos designados HHV-6 y HHV-8. Una amenaza potencial de emergencia de nuevos agentes infecciosos proviene de la introducción de nuevas terapias que conducen a situaciones sin precedentes: tal es el caso de los xenotrasplantes, de los que el ejemplo de mayor actualidad es el de médula ósea de primate a enfermos de SIDA, basado en la insensibilidad de la células de primate al HIV; muchos virólogos temen que el inhabitual ambiente de células humanas proporcione oportunidades de desarrollar su virulencia (e incluso incrementarla, por recombinaciones u otras modificaciones genéticas) a virus de primate que no estamos, actualmente, en condiciones de detectar (15, 16).

El brote de neumonía por hantavirus en el suroeste de USA, en mayo de 1993, es paradigmático de la emergencia de infecciones: la confusión inicial en los medios clínicos se debió a que el agente era desconocido en Norteamérica y a que la presentación clínica era completamente inusual (neumonía en vez de infección renal); sin embargo, justo es reconocer que el uso, primero de las pruebas serológicas clásicas (inmunofluorescencia, ELISA), bien establecidas por laboratorios del "Antiguo Mundo", y posteriormente de PCR para amplificar cDNA a partir del RNA vírico presente en muestras tisulares de necropsia, permitió resolver y confirmar los diagnósticos (17).

Pero los avances en el diagnóstico de laboratorio deben acompañarse de la mejora constante en las posibilidades de tratamiento y control. El desafío de las resistencias está impulsando la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos. Entre las adquisiciones más recientes para el arsenal terapéutico figuran nuevas fluorquinolonas (levofloxacin, trovafloxacin) y macrólidos (azitromicina, claritromicina, roxitromicina). Se ha señalado que una estrategia potencialmente interesante sería el desarrollo de agentes antibacterianos dirigidos frente a dos dianas distintas en la célula procariótica, lo que disminuiría drásticamente las probabilidades de aparición de resistencias. Otra investigación en auge es la búsqueda de agentes antifúngicos, estimulada por la creciente importancia de las micosis, sobre todo en los individuos inmunocomprometidos, que suponen una situación clínica cada vez más frecuente por varias causas: la práctica cada vez más desarrollada del trasplante de órganos; la quimioterapia antitumoral; la manipulación del sistema inmune (p.e., tratamientos de enfermedades autoinmunes); y la pandemia de SIDA. Este último (gravísimo) problema, la infección por HIV, está siendo uno de los principales motores de la investigación sobre agentes antiretrovirales (18).

## VACUNAS

En cuanto a la prevención de las enfermedades infecciosas, hay mucha tarea pendiente a todos los niveles. El más sofisticado de ellos se refiere al desarrollo de vacunas por uso de nuevas tecnologías, también puesto a prueba por la necesidad de encontrar procedimientos de inmunoprevención de la infección por HIV (19, 20). El abaratamiento de la producción de antígenos recombinantes ha permitido a la OMS recomendar la inclusión de la vacuna frente al virus de la hepatitis B en el protocolo universal de vacunaciones infantiles, siendo así que esta vacuna estaba antes restringida a los grupos de riesgo. Por otra parte, el uso de las vacunas clásicas, en campañas masivas (junto con la mejora de las condiciones sanitarias), ha determinado sensibles descensos en la mortalidad infantil durante la última década, según un informe de UNICEF (21): en 1983, murieron 2,500,000 niños por sarampión, 1,100,000 por tétanos y 700,000 por

tosferina; las mismas enfermedades se cobraron respectivamente 1,100,000, 600,000 y 400,000 víctimas en 1992; en cuanto a la poliomielitis, de 500,000 casos de infección con secuelas de parálisis registrados en 1980 se pasó a 360,000 casos en 1983 y a 140,000 casos en 1992, esperándose que en 1995 se haya alcanzado a inmunizar el 80% de los niños en todo el mundo, con lo que esta podría ser la segunda enfermedad infecciosa erradicada del mundo. Una de las líneas de investigación sobre inmunoprevención con futuro prometedor es el diseño de "supervacunas", que permitan reducir el elevado número de inoculaciones necesarias para cumplir el actual calendario vacunal.

## BIODIVERSIDAD, ECOLOGÍA, BIOTECNOLOGÍA

Las ciencias experimentales no escapan a las imposiciones de la moda, y una de las modas en Microbiología es hablar de biodiversidad. Sin embargo, no se trata en este caso de un capricho de los microbiólogos sino de una visión plenamente justificada. El mero recorrido del complejo edificio que ofrece la taxonomía bacteriana nos ofrece un panorama de variedad en la organización, de versatilidad metabólica que permite el uso de las más variadas estructuras químicas como sustratos para el crecimiento, y de adaptación a una pléyade de nichos ecológicos, incluyendo los ambientes más extremos que se encuentran en la biosfera. Pero esta apreciación es sólo un mínimo reflejo de la realidad, y ello por dos razones: (i), la taxonomía de las bacterias conocidas no recoge, en muchos casos, su auténtica diversidad; así, hay taxones mucho más heterogéneos que otros del mismo rango; un ejemplo podría ser el género *Bacillus*, cuyas 51 especies válidamente descritas tienen un contenido en G + C que va del 32 al 69%; una de estas especies, *Bacillus sphaericus*, ha sido subdividida en 5 grupos con diferentes secuencias de rRNA y en más de 16 taxones fenéticos, cada uno de los cuales podría constituir una especie independiente (22); y (ii), resulta cada vez más evidente que la Microbiología conoce una pequeña fracción del total de especies procariotas existentes en la naturaleza. Algunos datos numéricos pueden dar una idea de las proporciones en este último punto. Según datos recogidos por Bull et al. (23), frente a 4,760 especies bacterianas descritas, habría un total de 40,000 especies en la naturaleza, lo que quiere decir que conocemos un 12% del mundo bacteriano (en el caso de los virus, el porcentaje conocido desciende al 4%). Pero hay cálculos menos optimistas; Tiedje (24) afirma que el análisis del DNA procedente de muestras de suelo sugiere la presencia de unas 10,000 especies en un gramo de tierra, y un cálculo por extrapolación (no confirmado experimentalmente) arroja una estimación de 300,000 a  $10^6$  especies de procariotas. La biología molecular ha generado una técnica de gran rendimiento para la aproximación al conocimiento de la biodiversidad microbiana in situ: el uso de sondas de rRNA. El éxito de esta molécula se debe

en gran parte a la coexistencia en ella de partes muy conservadas durante la evolución y partes que muestran un mayor grado de variación; las primeras son útiles para reconstruir la filogenia de taxones alejados entre sí, las segundas permiten clasificar especies dentro de un género (25). La elección de "primers" complementarios de secuencias muy conservadas permite amplificar DNA a partir de genes de rRNA (o del propio rRNA) presentes en una muestra ambiental, clonarlas y secuenciarlas para compararlas con bases de datos para rRNA, con lo que se puede intentar la clasificación de los organismos de procedencia; también se pueden utilizar las nuevas secuencias para producir sondas que faciliten la detección ulterior de los organismos en nuevas muestras (25). Desde hace años, el grupo de Norman Pace ha venido aplicando esta metodología (inicialmente menos resolutive, al no incluir el paso de amplificación del DNA) al estudio de bacterias en comunidades naturales antes de aislarlas, e incluso en casos en los que el cultivo no ha sido posible; algunos ejemplos sobresalientes han sido la identificación de bacterias termófilas en Octopus Spring (Yellowstone) y de simbioses quimiolitotrofos que permiten el desarrollo de gusanos gigantes y otros invertebrados asociados a fuentes termales submarinas (26). La estrategia propuesta por Amann et al. (25) para abordar el estudio de comunidades microbianas complejas consiste en etapas que usan sondas rRNA de espectro cada vez más restringido: se empieza con sondas que diferencian entre Archaea, Bacteria y Eucaria; en la siguiente etapa, se usan sondas que diferencian reinos o phyla, y se prosigue cada vez con sondas más restringidas, elegidas en base a los resultados obtenidos en las etapas anteriores. Se han citado caso concretos en los que la metodología clásica de recuentos en placa permitió aislar menos del 15% de los tipos celulares visualizados por tinción de las muestras con sondas fluorescentes; la metodología clásica, realmente, refleja los efectos del medio de cultivo sobre ciertas bacterias más que la estructura real de la comunidad microbiana (25).

Este tipo de estudios tiene interesantes aplicaciones (24). Las comunidades microbianas suelen responder muy rápidamente a los cambios ambientales, por lo que la detección de cambios en su composición constituye un sensor que detecta estos cambios con sensibilidad y fiabilidad mayores que la elección de uno o unos pocos microorganismos cultivables como indicadores. Pero además, estos microorganismos y sus genes representan un reservorio de funciones explotables en biotecnología: promoción del crecimiento de plantas por comunidades de la rizosfera, obtención de enzimas termotolerantes (de las que la más famosa actualmente es la *Taq* polimerasa, usada en las técnicas de PCR), búsqueda de agentes antimicrobianos y antitumorales, etc. En este sentido, los microorganismos que crecen en ambientes inusuales pueden ser de gran interés. La capacidad de crecer y producir sideróforos a pH muy alcalino ha resultado de gran utilidad para la bioacumulación de galio (con un tamaño atómico parecido al del hierro) a partir del líquido resultante del procesamiento de la

bauxita (27). *Pyrodictium*, un hipertermófilo que sobrevive 1 h en el autoclave a 121°C, crece in vitro (tiene su óptimo a 105°C) formando túbulos ultrafinos, que penetran en la superficie celular y que comunican unas células con otras; estos túbulos, de función desconocida pero que representan un porcentaje apreciable de la masa bacteriana, están constituidos por una glicoproteína estable a 140°C; es un ejemplo de los nuevos productos, potencialmente interesantes, que estos seres pueden ofrecernos (28). La estabilidad de sus dotaciones enzimáticas, a altas temperaturas, les convierte en candidatos ideales como catalizadores en la industria química. De hecho, se están llevando a cabo investigaciones preliminares con una proteasa termoestable, que recupera su actividad después de ebullición en detergentes, y con una alcohol-deshidrogenasa que conserva su actividad en disolventes orgánicos a altas temperaturas.

## BIBLIOGRAFIA

- (1) RUIZ-BRAVO, A., JIMÉNEZ-VALERA, M., LÓPEZ, M. M., SAMPEDRO, A.: *Fundamentos de biología e inmunología tumoral* (1992). Universidad de Granada, Granada.
- (2) FALKOW, S.: *ASM News* (1995), **61**:529-530.
- (3) DOERN, G. V. In: *Manual of Clinical Microbiology* (1995), pp. 101-102. American Society for Microbiology, Washington.
- (4) FONSTEIN, M., HASELKORN, R.: *J Bacteriol* (1995), **177**:3361-3369.
- (5) FLEISCHMANN, R. D., et al.: *Science* (1995), **269**:496-512.
- (6) PODZORSKI, R. P., PERSING, D. H. In: *Manual of Clinical Microbiology* (1995), pp. 130-157. American Society for Microbiology, Washington.
- (7) TENOVER, F. C.: *ASM News* (1992), **58**:669-272.
- (8) CHOO, Q.-L., KUO, G., WEINER, A. J., OVERBY, L. R., BRADLEY, D. W., HOUGHTON, M.: *Science* (1989), **244**:359-364.
- (9) FREDERICKS, D. N., RELMAN, D. A.: *Clin Microbiol Rev* (1996), **9**:18-33.
- (10) RELMAN, D. A., LOUTIT, J. S., SCHMIDT, T. M., FALKOW, S., TOMPKINS, L. S.: *N Engl J Med* (1990), **323**:1573-1580.
- (11) RELMAN, D. A., SCHMIDT, T. M., MACDERMOTT, R. P., FALKOW, S.: *N Engl J Med* (1992), **327**:293-301.
- (12) CHANG, Y., CESARMAN, E., PESSIN, M. S., LEE, F., CULPEPPER, J., KNOWLES, D. M., MOORE, P. S.: *Science* (1994), **266**:1865-1869.
- (13) LEDERBERG, J.: *ASM News* (1994), **60**:233.
- (14) FAUCI, A. S.: *ASM News* (1994), **60**:235.
- (15) LEHRMAN, S.: *Nature* (1995), **376**:8.
- (16) ALLAN, J., MICHAELS, M. G.: *ASM News* (1995), **61**:442-443.
- (17) PETERS, C. J.: *ASM News* (1994), **60**:242-243.
- (18) DECLERCQ, E.: *Clin Microbiol Rev* (1995), **8**:200-239.
- (19) CEASE, K. B., BERZOFOSKY, J. A.: *Annu Rev Immunol* (1994), **12**:923-989.
- (20) LEVY, J. A. In: *HIV and the pathogenesis of AIDS* (1994), American Society for Microbiology, Washington.
- (21) UNICEF report. In: *The state of the world's children 1994* (1994), U. S. Committee for UNICEF New York.
- (22) PRIEST, F. G.: *Science* (1995), **270**:2015.