

Introducción e Historia

1 INTRODUCCIÓN AL CONCEPTO Y CONTENIDO DE LA MICROBIOLOGÍA

2 DESARROLLO HISTÓRICO DE LA MICROBIOLOGÍA

2.1 PERIODO PREVIO AL DESCUBRIMIENTO DEL MICROSCOPIO

2.2 EL PERIODO DE LOS PRIMEROS MICROSCOPISTAS

2.3 EL DEBATE SOBRE LA GENERACIÓN ESPONTÁNEA

2.4 EL DEBATE SOBRE LOS FERMENTOS

2.5 LOS AVANCES TÉCNICOS

2.6 EL PAPEL DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS ENFERMEDADES

2.7 DESARROLLO DE LA ASEPSIA, QUIMIOTERAPIA Y ANTIBIOTERAPIA

2.8 DESARROLLO DE LA INMUNOLOGÍA

2.9 ORIGEN Y DESARROLLO DE LA VIROLOGÍA

3 OBJETO DE ESTUDIO DE LA MICROBIOLOGÍA

3.1 OBJETO MATERIAL: LOS MICROORGANISMOS

3.1.1 MICROORGANISMOS CELULARES

3.1.2 VIRUS Y PARTICULAS SUBVIRASICAS

3.2 OBJETO FORMAL

4 IMPORTANCIA DE LA MICROBIOLOGÍA

5. UBICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN EL MUNDO VIVO

1 INTRODUCCIÓN AL CONCEPTO Y CONTENIDO DE LA MICROBIOLOGÍA

La Microbiología se puede definir, sobre la base de su etimología, como la ciencia que trata de los seres vivos muy pequeños, concretamente de aquellos cuyo tamaño se encuentra por debajo del poder resolutorio del ojo humano. Esto hace que el objeto de esta disciplina venga determinado por la metodología apropiada para poner en evidencia, y poder estudiar, a los microorganismos. Precisamente, el origen tardío de la Microbiología con relación a otras ciencias biológicas, y el reconocimiento de las múltiples actividades desplegadas por los microorganismos, hay que atribuirlos a la carencia, durante mucho tiempo, de los instrumentos y técnicas pertinentes. Con la invención del microscopio en el siglo XVII comienza el lento despegue de una nueva rama del conocimiento, inexistente hasta entonces. Durante los siguientes 150 años su progreso se limitó casi a una mera descripción de tipos morfológicos microbianos, y a los primeros intentos taxonómicos, que buscaron su encuadramiento en el marco de los “sistemas naturales” de los Reinos Animal y Vegetal.

El asentamiento de la Microbiología como ciencia está estrechamente ligado a una serie de controversias seculares (con sus numerosas filtraciones de la filosofía e incluso de la religión de la época), que se prolongaron hasta finales del siglo XIX. La resolución de estas polémicas dependió del desarrollo de una serie de estrategias experimentales fiables (esterilización, cultivos puros, perfeccionamiento de las técnicas microscópicas, etc.), que a su vez dieron nacimiento a un cuerpo coherente de conocimientos que constituyó el núcleo aglutinador de la ciencia microbiológica. El reconocimiento del origen microbiano de las fermentaciones, el definitivo abandono de la idea de la generación espontánea, y el triunfo de la teoría germinal de la enfermedad, representan las conquistas definitivas que dan carta de naturaleza a la joven Microbiología en el cambio de siglo.

Tras la Edad de Oro de la Bacteriología, inaugurada por las grandes figuras de Pasteur y Koch, la Microbiología quedó durante cierto tiempo como una disciplina descriptiva y aplicada, estrechamente imbricada con la Medicina, y con un desarrollo paralelo al de la Química, que le aportaría varios avances metodológicos fundamentales. Sin embargo, una corriente, en principio minoritaria, dedicada a los estudios básicos centrados con ciertas bacterias del suelo poseedoras de capacidades metabólicas especiales, incluyendo el descubrimiento de las que afectan a la nutrición de las plantas, logró hacer ver la ubicuidad ecológica y la extrema diversidad fisiológica de los microorganismos. De esta forma, se establecía una cabeza de puente entre la Microbiología y otras ciencias biológicas, que llegó a su momento decisivo cuando se comprobó la unidad química de todo el mundo vivo, y se demostró, con material y técnicas microbiológicas que la molécula de la herencia era el ADN. Con ello se asiste a un íntimo y fértil intercambio entre la Microbiología, la Genética y la Bioquímica, que se plasma en el nacimiento de la Biología Molecular, base del espectacular auge de la Biología desde mediados del siglo XX.

Por otro lado, el “programa” inicial de la Microbiología (búsqueda de agentes infectivos, desentrañamiento y aprovechamiento de los mecanismos de defensa del hospedador) condujeron a la creación de ciencias subsidiarias (Virología, Inmunología) que finalmente adquirieron su mayoría de edad y una acentuada autonomía.

Por último, la vertiente aplicada que estuvo en la base de la creación de la Microbiología, mantuvo su vigencia, enriquecida por continuos aportes de la investigación básica, y hoy muestra una impresionante “hoja de servicios” y una no menos prometedora perspectiva de expansión a múltiples campos de la actividad humana, desde el control de enfermedades infecciosas (higiene, vacunación, quimioterapia, antibioterapia) hasta el aprovechamiento económico racional de los múltiples procesos en los que se hallan implicados los microorganismos (biotecnologías).

Así pues, la sencilla definición con la que se abrió este apartado, escondía todo un cúmulo de contenidos y objetos de indagación, todos emanados de una peculiar manera de aproximarse a la porción de realidad que la Microbiología tiene encomendada. En las próximas páginas ampliaremos y concretaremos el concepto al que hemos hecho rápida referencia. Realizaremos un recorrido por el desarrollo de la Microbiología a lo largo de su historia, que nos permitirá una visión concreta de algunos de sus característicos modos de abordar su objeto de estudio; finalmente, estaremos en disposición de definir este último, desglosado como objeto material y formal.

2 DESARROLLO HISTÓRICO DE LA MICROBIOLOGÍA.

La Microbiología, considerada como una ciencia especializada, no aparece hasta finales del siglo XIX, como consecuencia de la confluencia de una serie de progresos metodológicos que se habían empezado a incubar lentamente en los siglos anteriores, y que obligaron a una revisión de ideas y prejuicios seculares sobre la dinámica del mundo vivo.

Siguiendo el ya clásico esquema de Collard (1976), podemos distinguir cuatro etapas o periodos en el desarrollo de la Microbiología:

- Primer periodo, eminentemente especulativo, que se extiende desde la antigüedad hasta llegar a los primeros microscopistas.
- Segundo periodo, de lenta acumulación de observaciones (desde 1675 aproximadamente hasta la mitad del siglo XIX), que arranca con el descubrimiento de los microorganismos por Leeuwenhoek (1675).
- 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.
- 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., y que supone un extraordinario crecimiento de la Microbiología, el surgimiento de disciplinas microbiológicas especializadas (Virología, Inmunología, etc), y la estrecha imbricación de las ciencias microbiológicas en el marco general de las Ciencias Biológicas. A continuación se realiza un breve recorrido histórico de la disciplina microbiológica, desglosando los períodos 3º y 4º en varios apartados temáticos.

2.1 PERIODO PREVIO AL DESCUBRIMIENTO DEL MICROSCOPIO

Si bien el descubrimiento efectivo de seres vivos no visibles a simple vista debió aguardar hasta el último tercio del siglo XVII, sus actividades son conocidas por la humanidad desde muy antiguo, 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 Frascatorius, 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. Estos inicios de explicación que renunciaban a invocar causas sobrenaturales fueron probablemente catalizados por la introducción en Europa de la sífilis, una enfermedad en la que estaba clara la necesidad de contacto para su contagio. Pero la “cosa” que se transmite en la enfermedad siguió siendo objeto de conjeturas durante mucho tiempo.

2.2 EL PERIODO DE LOS PRIMEROS MICROSCOPISTAS.

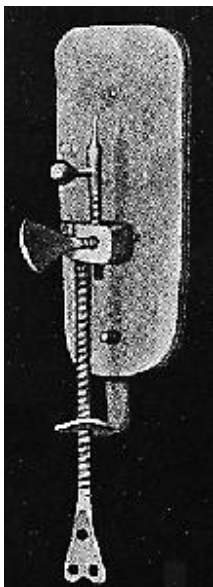
Ya en el siglo XIV, con la invención de las primeras lentes para corregir la visión, surgió una cierta curiosidad sobre su capacidad de aumentar el tamaño aparente de los objetos. En el siglo XVI surgieron algunas ideas sobre aspectos de la física óptica de las lentes de aumento, pero no encontraron una aplicación inmediata. Se dice que Galileo hizo algunas observaciones “microscópicas” invirtiendo su telescopio a partir de lentes montadas en un tubo, pero en cualquier caso está claro que no tuvieron ninguna repercusión.

La primera referencia segura sobre el microscopio (1621) se debe a Constantijn Huygens, quien relata que el inglés Cornelis Drebbel tenía en su taller un instrumento magnificador, que recibió el nombre de *microscopium* en 1625, en la Accademia dei Lincei, de Roma.

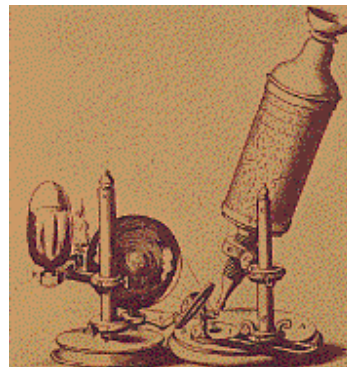


Antonie van Leeuwenhoek

El descubrimiento de los microorganismos fue obra de un comerciante holandés de tejidos, Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723), quien en su pasión por pulir y montar lentes casi esféricas sobre placas de oro, plata o cobre, casi llegó a descuidar sus negocios. Fabricó unos cuatrocientos microscopios simples, con los que llegó a obtener aumentos de casi 300 diámetros. En 1675 descubrió que en una gota de agua de estanque pululaba una asombrosa variedad de pequeñas criaturas a las que denominó “animálculos”. En 1683 descubre las bacterias, por lo que se considera el “padre de la Microbiología”. Durante varias décadas Leeuwenhoek fue comunicando sus descubrimientos a la Royal Society de Londres a través de una serie de cartas que se difundieron, en traducción inglesa, en las “Philosophical Transactions”. Sus magníficas dotes de observador le llevaron asimismo a describir protozoos (como *Giardia*, que encontró en sus propias heces), la estructura estriada del músculo, la circulación capilar, a descubrir los espermatozoides y los glóbulos rojos (por lo que también se le considera el fundador de la Histología animal), así como a detallar diversos aspectos estructurales de las semillas y embriones de plantas. Leeuwenhoek se percató de la abundancia y ubicuidad de sus animálculos, observándolos en vinagre, placa dental, etc.



Microscopio simple de Leeuwenhoek



Microscopio compuesto de Hooke

Aunque los descubrimientos de Leeuwenhoek despertaron interés al ser comunicados, pocos intentaron o pudieron reproducirlos seriamente. Además, la fabricación de lentes sencillas de gran aumento era difícil y el manejo de los microscopios simples, bastante engorroso.

Simultáneamente el inglés Robert Hooke (1635-1703) usando microscopios compuestos, describió los hongos filamentosos (1667), y descubrió la estructura celular de las plantas (*Micrographia*, 1665), acuñando el término célula. Pero el trabajo con microscopios compuestos aplicados al estudio de los "animálculos" languideció durante casi 200 años, debido a sus imperfecciones ópticas, hasta que hacia 1830 se desarrollaron las lentes acromáticas.

2.3 EL DEBATE SOBRE LA GENERACIÓN ESPONTÁNEA.

La autoridad intelectual de Aristóteles por un lado, y la autoridad moral representada por la Biblia, por otro, junto con las opiniones de escritores clásicos como Galeno, Plinio y Lucrecio, a los que se citaba como referencias incontrovertibles en la literatura médica en la Edad Media y Renacimiento, dieron carta de naturaleza a la idea de que algunos seres vivos podían originarse a partir de materia inanimada, o bien a partir del aire o de materiales en putrefacción. Esta doctrina de la "*generatio spontanea*" o abiogénesis, fue puesta en entredicho por los experimentos de Francesco Redi (1621-1697), quien había acuñado la expresión "*Omne vivum ex ovo*" (1668), tras comprobar que los insectos y nematodos procedían de huevos puestos por animales adultos de su misma especie. Demostró que si un trozo de carne era cubierto con gasa de forma que las moscas no podían depositar allí sus huevos, no aparecían "gusanos", que él correctamente identificó como fases larvarias del insecto. Los descubrimientos de Redi tuvieron el efecto de desacreditar la teoría de la generación espontánea para los animales y plantas, pero la reavivaron respecto de los recién descubiertos "animálculos", de modo que aunque se aceptó la continuidad de la vida en cuanto a sus formas superiores, no todos estaban dispuestos a admitir el más amplio "*Omne vivum ex vivo*" aplicado a los microorganismos.

Hubo que esperar un siglo más hasta que una serie de naturalistas recomenzaran el ataque a la teoría preformacionista. Lazzaro Spallanzani (1729-1799) sostuvo una disputa con J.T. Needham (1713-1781) en la que el primero demostró que los "infusorios" no aparecían en muestras de maceraciones animales o vegetales sometidas durante tiempo suficiente a ebullición en frascos herméticamente cerrados, pero volvían a aparecer si se practicaban agujeros en el recipiente. Sin embargo los preformacionistas no se daban por vencidos; el mismo Needham, recogiendo una idea ya expresada por Huygens, amigo de Leeuwenhoek, replicó -con argumentos vitalistas muy propios de la época- que el calor había destruido la "fuerza vegetativa" de las infusiones y había cambiado la "cualidad" del aire dentro de los frascos.

Durante el primer tercio del siglo XIX la doctrina de la arqueogénesis o generación espontánea recibió un último refuerzo antes de morir, debido por un lado a razones extracientíficas (el auge del concepto de transmutación producido por la escuela de la filosofía de la naturaleza), y por otro al descubrimiento del oxígeno y de su importancia para la vida, de modo que los experimentos de Spallanzani se interpretaron como que al calentarse las infusiones, el oxígeno del aire se destruía, y por lo tanto desaparecía la "fuerza vegetativa" que originaba la aparición de microorganismos. Theodor Schwann (1810-1882) presentó en 1836 un método seguro para refutar la teoría abiogénica: calentó maceraciones en frascos a los que se había eliminado previamente el aire, pero no continuó trabajando en esta línea.



Pasteur

Fue, efectivamente Louis Pasteur (1822-1895) el que asestó el golpe definitivo y zanjó la cuestión a favor de la teoría biogénica. En un informe a la Académie des Sciences de París, en 1860 ("*Expériences relatives aux générations dites spontanées*") y en escritos posteriores comunica sus sencillos y elegantes experimentos: calentó infusiones en matraces de vidrio a los que estiraba lateralmente el cuello, haciéndolo largo, estrecho y sinuoso, y dejándolo sin cerrar, de modo que el contenido estuviera en contacto con el aire; tras esta operación demostró que el líquido no desarrollaba microorganismos, con lo que eliminó la posibilidad de que un "aire alterado" fuera la causa de la no aparición de gérmenes. Antes bien, comprobó que los gérmenes del aire quedaban retenidos a su paso por el largo cuello sinuoso, en las paredes del tubo, y no alcanzaban el interior del recipiente donde se encontraba la infusión, quedando ésta estéril indefinidamente. Sólo si se rompía el cuello lateral o si se inclinaba el frasco de modo que pasara parte de líquido a la porción de cuello, los gérmenes podían contaminar la infusión y originar un rápido crecimiento.



Frasco con "cuello de cisne" de Pasteur, con el que refutó las ideas sobre la generación espontánea

En 1861 Pasteur publica otro informe en el que explica cómo se pueden capturar los "cuerpos organizados" del aire con ayuda de un tubo provisto de un tapón de algodón como filtro, y la manera de recuperarlos para su observación microscópica. De esta forma quedaba definitivamente aclarado el origen de los microorganismos, y se abría la Edad de Oro del estudio científico de las formas de vida no observables a simple vista.

Los últimos escépticos quedaron silenciados cuando en 1877 John Tyndall (1820-1893) aplicó su sistema de esterilización por calentamiento discontinuo (hoy conocida precisamente como tinalización), que evidenció la existencia de formas microbianas de reposo muy resistentes al calor, lo cual fue confirmado poco más tarde por Ferdinand Cohn al descubrir las esporas bacterianas.

2.4 EL DEBATE SOBRE LOS FERMENTOS

Un segundo factor contribuyente al nacimiento de la ciencia microbiológica fue el establecimiento de la relación que une ciertas transformaciones químicas que se dan en las infusiones con el crecimiento de los gérmenes en ellas existentes.

Fue Pasteur (que, desde sus primeros estudios sobre las propiedades ópticas de los cristales de tartrato, venía suponiendo que estos compuestos tenían un origen orgánico) quien de nuevo intervino en el debate de forma decisiva. En 1857 demostró que los agentes de la fermentación láctica eran microorganismos, trabajando sobre un problema que había surgido entre los destiladores de Lille cuando en sus cubas la fermentación alcohólica se vio sustituida por una indeseable fermentación láctica. Este fue el inicio de una larga serie de estudios que habría de durar hasta 1876, en los que Pasteur identificó distintos microorganismos responsables de diferentes clases de procesos fermentativos. Así, en 1860 adscribe inequívocamente 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, una de las primeras derivaciones prácticas no empíricas emanadas de la Biología. A finales del siglo XIX eminentes biólogos como Hansen, en Copenhague, y Beijerinck, en Delft, desarrollaban su actividad en industrias y destilerías.

Trabajando sobre los agentes de la fermentación butírica, Pasteur descubrió la presencia de microorganismos que se desarrollaban en ausencia de oxígeno, lo cual desmentía la creencia de que todas las formas de vida necesitan aire para crecer. Acuñó los términos aerobiosis y anaerobiosis para denominar, respectivamente, a la vida en presencia y en ausencia de oxígeno.

Tras el descubrimiento de la anaerobiosis, el mismo Pasteur comprendió las distintas implicaciones energéticas subyacentes a la utilización de sustratos orgánicos en presencia y en ausencia de oxígeno, demostrando que, en el segundo caso el rendimiento (medido como crecimiento microbiano) era siempre menor, al no poder realizarse la degradación total de las correspondientes sustancias.

2.5 LOS AVANCES TÉCNICOS

La doctrina del pleomorfismo, vigente durante buena parte del siglo XIX, mantenía que los microorganismos adoptaban formas y funciones cambiantes dependiendo de las condiciones ambientales. A estas ideas se oponían frontalmente investigadores como Koch, Pasteur y Cohn, que estaban convencidos de la especificidad y constancia morfológica y fisiológica de cada tipo de microorganismo (monomorfismo). El pleomorfismo había surgido como una explicación a la gran variedad de formas y actividades que aparecían en un simple frasco de infusión, pero ya Pasteur, en sus estudios sobre la fermentación, se había percatado de que los cultivos que aparecían podían considerarse como una sucesión de distintas poblaciones de microorganismos predominantes, que, a resultas de sus actividades, condicionaban la ulterior composición de la comunidad microbiana. La solución definitiva a esta cuestión dependía, de nuevo, de un desarrollo técnico, que a su vez iba a suministrar una de las herramientas características de la nueva ciencia: los métodos de cultivo puro.

Los primeros cultivos puros fueron obtenidos por el micólogo Brefeld, quien logró aislar esporas de hongos y cultivarlas sobre medios sólidos a base de gelatina. Por su menor tamaño, este método se hacía inviable para las bacterias, por lo que se recurrió a un método basado en diluciones: Lister, en 1878 realizó diluciones secuenciales de cultivos mixtos, hasta lograr muestras en las que existía una sola célula. Pero la técnica era larga y tediosa y, además, normalmente sólo se lograban aislar células del tipo bacteriano más abundante en el cultivo original; sin embargo, el experimento sirvió para confirmar la naturaleza “particulada” de los agentes de las fermentaciones.



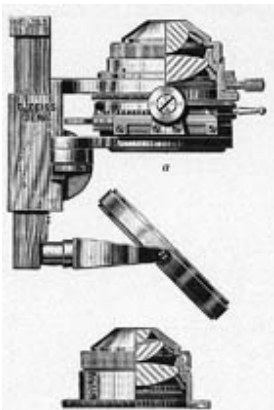
Robert Koch

Por aquella época Koch buscaba con ahínco métodos más sencillos de cultivo puro, indispensables para proseguir sus investigaciones sobre bacterias patógenas. Primero (y quizá de forma un tanto casual) empleó rodajas de patata como sustrato sólido nutritivo sobre el que se podían desarrollar colonias macroscópicas de bacterias que presentaban morfología característica, que Koch interpretó como resultantes del crecimiento a partir de células individuales. Pero enseguida recurrió a compactar el típico caldo de cultivo a base de carne (diseñado por Loeffler) añadiéndole gelatina (1881). El medio sólido así logrado era transparente, lo que permitía visualizar fácilmente los rasgos coloniales, y contenía los nutrientes adecuados para el crecimiento de una amplia gama de bacterias. Éstas eran inoculadas en la superficie del medio con un hilo de platino pasado previamente por la llama, por la técnica de siembra en estría. Sin embargo, la gelatina presentaba los inconvenientes de ser atacada por determinados microorganismos, y de tener un bajo punto de fusión; ambos problemas se solventaron cuando en 1882 el médico alemán Walter Hesse, siguiendo una sugerencia de su mujer Fanny, introdujo el agar-agar (polisacárido extraído de algas rojas) como nuevo agente solidificante. El trabajo de Koch ya citado tuvo la trascendental consecuencia de derribar las ideas pleomorfistas, y supuso la primera propuesta del concepto de especie dentro del mundo bacteriano. En 1887 Petri, un ayudante de Koch, sustituyó las engorrosas bandejas de vidrio cubiertas con campanas, usadas hasta entonces para los cultivos sólidos, por un sistema manejable de placas de cristal planas, que se conoce como cajas de Petri.

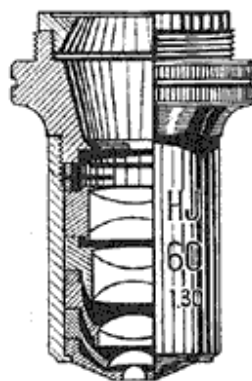
El desarrollo de los medios selectivos y de enriquecimiento fue una consecuencia de las investigaciones llevadas a cabo por Beijerinck y Winogradsky entre 1888 y los primeros años del siglo XX, sobre bacterias implicadas en procesos biogeoquímicos y poseedoras de características fisiológicas distintivas (quimioautótrofas, fijadoras de nitrógeno, etc.). Estos medios, donde se aplica a pequeña escala el principio de selección natural, se diseñan de forma que su composición química definida favorezca sólo el crecimiento de ciertos tipos fisiológicos de microorganismos, únicos capaces de usar ciertos nutrientes del medio.

Otra importante aportación a este “período de cultivo” dentro del desarrollo de la Microbiología surgió del uso de medios diferenciales, en los que se manifiesta algún rasgo bioquímico o metabólico, lo que contribuye a la identificación microbiana. Fue Würtz quien, en 1892, introdujo el uso de indicadores de pH, incorporados en los medios, lo cual permitía revelar la producción de acidificaciones por fermentación en ciertas bacterias.

Mientras tanto, en la ciudad de Jena se había creado una atmósfera de progreso donde confluían grandes naturalistas como Haeckel, Strassburger o Abbé interaccionando con una pujante editorial especializada en Biología y Medicina (Gustav Fischer) y con una poderosa industria óptica y química. Estas influencias recíprocas se plasmaron en numerosos proyectos que reflejaban la efervescencia de las ciencias naturales tras la estela de Darwin (cfr. Jahn *et al.*, 1985). Concretamente, la industria óptica de Abbé y Zeiss, que se mantenía en conexión con la compañía vidriera Schott, pudo satisfacer la necesidad de Koch de perfeccionar el microscopio compuesto, introduciendo lentes acromáticas y una iluminación inferior provista de condensador. El mismo Abbé desarrolló en 1878 el objetivo de inmersión en aceite. Por otro lado, la industria química BASF, que por aquella época se encontraba en pleno auge de patentes de nuevos colorantes, suministró al laboratorio de Koch una serie de derivados de anilina que teñían las bacterias permitiendo su fácil visualización al microscopio en frotis de tejidos infectados. En 1875 Carl Weigert tiñó bacterias con pirocarmín, un colorante que ya venía siendo usado desde hacía unos años en estudios zoológicos. En años sucesivos se fueron introduciendo el azul de metileno (Koch, 1877), la fuchsina, y el violeta cristal. En 1882-1883 Ziehl y Neelsen desarrollan su método de ácido-alcohol resistencia para teñir *Mycobacterium tuberculosis*. En 1884 el patólogo danés Christian Gram establece una tinción de contraste que permite distinguir dos tipos bacterianos en función de sus reacción diferencial de tinción y que, como se vería mucho más tarde, reflejaba la existencia de dos grupos de bacterias con rasgos estructurales distintivos. En 1890 Loeffler logra visualizar flagelos bacterianos por medio de su técnica de impregnación argéntica. Como veremos más adelante, la misma industria de colorantes alemana previa a la primera guerra mundial fue decisiva también para los comienzos de la quimioterapia.



Iluminación del microscopio, fruto de la colaboración entre Koch y Abbe



Objetivo de inmersión, fruto de la colaboración entre Koch y la Industria óptica Carl Zeiss

Estas innovaciones técnicas (métodos de cultivo, microscopía y tinciones) fueron fundamentales (junto con los sistemas de esterilización abordados en el anterior apartado) para la consolidación de la Microbiología como ciencia, permitiendo eliminar las grandes dosis de especulación que hasta entonces habían predominado.

2.6 EL PAPEL DE LOS MICROORGANISMOS EN LAS ENFERMEDADES.

Durante el siglo XIX la atención de muchos naturalistas se había dirigido hacia las diversas formas de animales y plantas que vivían como parásitos de otros organismos. Este interés se redobló tras la publicación de los libros de Darwin, estudiándose las numerosas adaptaciones evolutivas que los distintos parásitos habían adquirido en su peculiar estilo de vida. Sin embargo, la adjudicación de propiedades de parásitos a los microorganismos vino del campo médico y veterinario, al revalorizarse las ideas sobre el origen germinal de las enfermedades infecciosas.

En 1835 Agostino Bassi (1773-1856) demostró que cierta enfermedad del gusano de seda (*mal di segno*), que había hecho su aparición en Lombardía, se debía a un hongo (*Botrytis bassiana*). Cuatro años más tarde J.L. Schönlein descubrió la asociación de un hongo con una enfermedad humana de la piel. En 1840 Henle, de la escuela fisiológica de Johannes Müller, planteó la teoría de que las enfermedades infecciosas están causadas por seres vivos invisibles, pero de nuevo la confirmación de estas ideas tuvo que esperar a que la intervención de Pasteur demostrara la existencia de microorganismos específicos responsables de enfermedades.

Hacia mediados del siglo XIX otra enfermedad infecciosa (pebrina) comenzó a diseminarse por los criaderos de gusano de seda de toda Europa, alcanzando finalmente a China y Japón. A instancias de su maestro Jean Baptiste Dumas, Pasteur aceptó el reto de viajar a la Provenza para investigar esta enfermedad que estaba dejando en la ruina a los industriales sederos, a pesar de que nunca hasta entonces se había enfrentado con un problema de patología. Es más que probable que Pasteur viera aquí la oportunidad de confirmar si sus estudios previos sobre las fermentaciones podían tener una extensión hacia los procesos fisiológicos del hombre y de los animales. Es sorprendente que, al principio no se mostrara dispuesto a aceptar la idea de que la pebrina fuera una enfermedad ocasionada por un agente extraño, creyendo durante los dos primeros años que se trataba de alteraciones meramente fisiológicas. Tras una serie de tanteos, y en medio de una intensa actividad intelectual que le obligaba a repasar continuamente los experimentos y las conclusiones extraídas, inmerso en el drama personal de la muerte de su padre y de dos de sus hijas en un corto lapso de tiempo, Pasteur llega finalmente, en 1869, a identificar al protozoo *Nosema bombycis* como el responsable de la epidemia, y por medio de una serie de medidas de control, ésta comienza a remitir de modo espectacular.

La intervención de bacterias como agentes específicos en la producción de enfermedades fue descubierta a raíz de una serie de investigaciones sobre el carbunco o ántrax, enfermedad que afecta a ganado y que puede transmitirse al hombre. C. Davaine, entre 1863 y 1868, encontró que en la sangre de vacas afectadas aparecían grandes cantidades de microorganismos a los que llamó *bacteridios*; además, logró inducir la enfermedad experimentalmente en vacas sanas, inoculándoles muestras de sangre infectada. En 1872 el médico alemán C.J. Eberth consiguió aislar los bacilos filtrando sangre de animales carbuncosos. Pero fue Robert Koch (1843-1910), que había sido alumno de Henle, quien con su reciente técnica de cultivo puro logró, en 1876, el primer aislamiento y propagación *in vitro* del bacilo del ántrax (*Bacillus anthracis*), consiguiendo las primeras microfotografías sobre preparaciones secas, fijadas y teñidas con azul de metileno. Más tarde (1881), Koch y sus colaboradores confirmaron que las esporas son formas diferenciadas a partir de los bacilos, y más resistentes que éstos a una variedad de agentes. Pero más fundamental fue su demostración de que la enfermedad se podía transmitir sucesivamente a ratones sanos inoculándoles bacilos en cultivo puro, obtenidos tras varias transferencias en medios líquidos.

Este tipo de estrategias para demostrar el origen bacteriano de una enfermedad fue llevado a una ulterior perfección en 1882, con la publicación de "*Die Äthiologie der Tuberkulose*", donde se comunica por primera vez la aplicación de los criterios que Henle había postulado en 1840. Estos criterios, que hoy van asociados al nombre de Koch, son los siguientes:

1. El microorganismo debe de estar presente en todos los individuos enfermos.
2. El microorganismo debe poder aislarse del hospedador y ser crecido en cultivo puro.
3. La inoculación del microorganismo crecido en cultivo puro a animales sanos debe provocar la aparición de síntomas específicos de la enfermedad en cuestión.
4. El microorganismo debe poder ser reaislado del hospedador infectado de forma experimental.

Fue asimismo Koch quien demostró el principio de especificidad biológica del agente infeccioso: cada enfermedad infecciosa específica está causada por un tipo de bacteria diferente. Estos trabajos de Koch abren definitivamente el campo de la Microbiología Médica sobre firmes bases científicas.

Durante las dos décadas siguientes la Microbiología experimentó una auténtica edad de oro, en la que se aislaron y caracterizaron muchas bacterias patógenas. La Alemania del Reich, que a la sazón se había convertido en una potencia política y militar, se decidió a apoyar la continuidad de los trabajos del equipo de Koch, dada su enorme importancia social y económica, creando un Instituto de investigación, siendo Koch su director en el Departamento de Salud. De esta forma, en la Escuela Alemana se aislaron los agentes productores del cólera asiático (Koch, 1883), de la difteria (Loeffler, 1884), del tétanos (Nicolaiier, 1885 y Kitasato, 1889), de la neumonía (Fraenkel, 1886), de la meningitis (Weichselbaun, 1887), de la peste (Yersin, 1894), de la sífilis (Schaudinn y Hoffman, 1905), etc. Igualmente se pudieron desentrañar los ciclos infectivos de agentes de enfermedades tropicales no bacterianas que la potencia colonial se encontró en ultramar: malaria (Schaudinn, 1901-1903), enfermedad del sueño (Koch, 1906), peste vacuna africana (debida al inglés Bruce, 1895-1897), etc.

Por otro lado, la Escuela Francesa, nucleada en el Instituto Pasteur, se concentró en los estudios sobre los procesos infectivos, la inmunidad del hospedador, y la obtención de vacunas, sobre todo a raíz de la vacuna antirrábica ensayada por Pasteur (1885), contribuyendo al nacimiento de la Inmunología

2.7 DESARROLLO DE LA ASEPSIA, QUIMIOTERAPIA Y ANTIBIOTERAPIA

Los avances de las técnicas quirúrgicas hacia mediados del siglo XIX, impulsados por la introducción de la anestesia, trajeron consigo una gran incidencia de complicaciones post-operatorias derivadas de infecciones. Un joven médico británico, Joseph Lister (1827-1912), que había leído atentamente los trabajos de Pasteur, y que creía que estas infecciones se debían a gérmenes presentes en el aire, comprobó que la aplicación de compuestos como el fenol o el bicloruro de mercurio en el lavado del instrumental quirúrgico, de las manos y de las heridas, disminuía notablemente la frecuencia de infecciones post-quirúrgicas y puerperales.

Más tarde, Paul Ehrlich (1854-1919), que había venido empleando distintas sustancias para teñir células y microorganismos, y que conocía bien el efecto de tinción selectiva de bacterias por ciertos colorantes que dejaban, en cambio, incoloras a células animales, concibió la posibilidad de que algunos de los compuestos de síntesis que la industria química estaba produciendo pudieran actuar como “balas mágicas” que fueran tóxicas para las bacterias pero inocuas para el hospedador. Ehrlich concibió un programa racional de síntesis de sustancias nuevas seguido de ensayo de éstas en infecciones experimentales. Trabajando en el laboratorio de Koch, probó sistemáticamente derivados del atoxilo (un compuesto que ya Thompson, en 1905, había mostrado como eficaz contra la tripanosomiasis), y en 1909 informó de que el compuesto 606 (salvarsán) era efectivo contra la sífilis. Aunque el salvarsán presentaba algunos efectos colaterales, fue durante mucho tiempo el único agente disponible contra enfermedades producidas por espiroquetas, y sirvió para ilustrar brillantemente la validez del enfoque de la llamada quimioterapia (término acuñado por el mismo Ehrlich), de modo que encauzó toda la investigación posterior.

En 1874, el médico inglés W. Roberts había descrito las propiedades antibióticas de ciertos cultivos de hongos (*Penicillium glaucum*) contra las bacterias, e introdujo en Microbiología el concepto de antagonismo. Otros investigadores de finales del siglo XIX realizaron observaciones similares, pero fue Fleming quien, en 1929, logró expresar ideas claras sobre el tema, al atribuir a una sustancia química concreta (la penicilina) la acción inhibitoria sobre bacterias producida por el hongo *Penicillium notatum*. Fleming desarrolló un ensayo crudo para determinar la potencia de la sustancia en sus filtrados, pudiendo seguir su producción a lo largo del tiempo de cultivo, y mostrando que no todas las especies bacterianas eran igualmente sensibles a la penicilina. Las dificultades técnicas para su extracción, junto al hecho de que el interés de la época aún estaba centrado sobre las sulfamidas, impidieron una pronta purificación de la penicilina, que no llegó hasta los trabajos de Chain y Florey (1940), comprobándose entonces su gran efectividad contra infecciones bacterianas, sobre todo de Gram-positivas, y la ausencia de efectos tóxicos para el hospedador.

Inmediatamente comenzó una búsqueda sistemática de microorganismos del suelo que mostraran actividades antibióticas. En 1944 A. Schatz y S. Waksman descubren la estreptomina, producida por *Streptomyces griseus*, siendo el primer ejemplo de antibiótico de amplio espectro. Los diez años que siguieron al término de la segunda guerra mundial vieron la descripción de 96 antibióticos distintos producidos por 57 especies de microorganismos, principalmente Actinomicetos.

En la década de los 60 se abrió una nueva fase en la era de los antibióticos al obtenerse compuestos semisintéticos por modificación química de antibióticos naturales, paliándose los problemas de resistencia bacteriana a drogas que habían empezado a aparecer, disminuyéndose en muchos casos los efectos secundarios, y ampliándose el espectro de acción.

Aparte de la revolución que supusieron en el campo de la aplicación clínica, los antibióticos han permitido notables avances en el desentrañamiento de determinados aspectos de arquitectura y función moleculares de las células susceptibles (paredes celulares microbianas, ribosomas, síntesis proteica, etc.).

2.8 DESARROLLO DE LA INMUNOLOGÍA

La inmunología es, en la actualidad, una ciencia autónoma y madura, pero sus orígenes han estado estrechamente ligados a la Microbiología. Su objeto consiste en el estudio de las respuestas de defensa que han desarrollado los animales frente a la invasión por microorganismos o partículas extrañas, aunque su interés se ha volcado especialmente sobre aquellos mecanismos altamente evolucionados e integrados, dotados de especificidad y de memoria, frente a agentes reconocidos por el cuerpo como no-propios, así como de su neutralización y degradación.

Como tantas otras ciencias, la Inmumología presenta un prolongado período pre-científico, de observaciones y aproximaciones meramente empíricas. La resistencia a ulteriores ataques de una enfermedad infecciosa fue ya recogida en escritos de la antigüedad; el historiador griego Tucídides (464-404 a.C.) narra que en una epidemia acaecida durante la guerra del Peloponeso, los enfermos eran atendidos solo por aquellos que habían sobrevivido previamente a la enfermedad, en la seguridad de que éstos no volverían a ser contagiados. Igualmente, en la antigua China se había observado que las personas que en su niñez habían padecido la viruela no la adquirían más adelante en su vida. Los mismos chinos, en el siglo XI a. C., fueron los primeros en intentar una aplicación de estas observaciones que indicaban la inducción de un estado protector por medio de una forma suave de la enfermedad: la inhalación de polvo de escaras de viruela provocaba un ataque suave que confería resistencia ante infecciones posteriores. Una modificación fue introducida en Occidente en el siglo XVIII por Pylarini y Timoni, y fue popularizada en Gran Bretaña por Lady Mary Wortley Montagu, esposa del embajador inglés en Constantinopla, tras una serie inicial de pruebas sobre “voluntarios” (*sic*, en realidad prisioneros). Sin embargo, este tipo de prácticas no llegaron a arraigar ampliamente, ya que no estaban exentas de riesgos, entre los cuales figuraba la posibilidad de transmisión de otras enfermedades.

El primer acercamiento a la inmunización con criterios racionales fue realizado por el médico inglés Edward Jenner (1749-1823), tras su constatación de que los vaqueros que habían adquirido la viruela vacunal (una forma benigna de enfermedad que sólo producía pústulas en las manos) no eran atacados por la grave y deformante viruela humana. En mayo de 1796 inoculó a un niño fluido procedente de las pústulas vacunales de Sarah Nelmes; semanas después el niño fue inyectado con pus de una pústula de un enfermo de viruela, comprobando que no quedaba afectado por la enfermedad. Jenner publicó sus resultados en 1798 (*“An enquiry into the causes and effects of the variolae vaccinae...”*), pronosticando que la aplicación de su método podría llegar a erradicar la viruela. Jenner fue el primero en recalcar la importancia de realizar estudios clínicos de seguimiento de los pacientes inmunizados, consciente de la necesidad de contar con controles fiables.

La falta de conocimiento, en aquella época, de las bases microbiológicas de las enfermedades infecciosas retrasó en casi un siglo la continuación de los estudios de Jenner, aunque ciertos autores, como Turenne, en su libro *“La syphilization”* (1878) lograron articular propuestas teóricas de cierto interés.

El primer abordaje plenamente científico de problemas inmunológicos se debió, de nuevo, a Pasteur. Estudiando la bacteria responsable del cólera aviar (más tarde conocida como *Pasteurella aviseptica*), observó (1880) que la inoculación en gallinas de cultivos viejos, poco virulentos, las protegía de contraer la enfermedad cuando posteriormente eran inyectadas con cultivos normales virulentos. De esta forma se obtuvo la primera vacuna a base de microorganismos atenuados. Fue precisamente Pasteur quien dio carta de naturaleza al término vacuna, en honor del trabajo pionero de Jenner. En los años siguientes Pasteur abordó la inmunización artificial para otras enfermedades; concretamente, estableció de forma clara que cultivos de *Bacillus anthracis* atenuados por incubación a 45°C conferían inmunidad a ovejas expuestas a contagio por carbunco. Una famosa demostración pública de la bondad del método de Pasteur tuvo lugar en Pouilly le Fort, el dos de junio de 1881, cuando ante un gentío expectante se pudo comprobar la muerte del grupo control de ovejas y vacas no inoculadas, frente a la supervivencia de los animales vacunados. Años después, abordaría la inmunización contra la rabia, enfermedad de la que se desconocía el agente causal. Pasteur observó que éste perdía virulencia cuando se mantenían al aire durante cierto tiempo extractos medulares de animales infectados, por lo que dichos extractos se podían emplear eficazmente como vacunas. Realizó la primera vacunación antirrábica en humanos el 6 de julio de 1885, sobre el niño Joseph Meister, que había sido mordido gravemente por un perro rabioso. A este caso siguieron otros muchos, lo que valió a Pasteur reconocimiento universal y supuso el apoyo definitivo a su método de inmunización, que abría perspectivas prometedoras de profilaxis ante muchas enfermedades. Estos logros determinaron, en buena medida, la creación del Instituto Pasteur, que muy pronto reunió a un selecto grupo de científicos, que enfocarían sus esfuerzos en diversos aspectos de las inmunizaciones y de sus bases biológicas. A su vez, los norteamericanos Salmon y Smith (1886) perfeccionaron los métodos serológicos de Pasteur, lo que les permitió producir y conservar más fácilmente sueros tipificados contra la peste porcina.



caricatura de Metchnikov

A finales del siglo XIX existían dos teorías opuestas sobre los fundamentos biológicos de las respuestas inmunes. Por un lado, el zoólogo ruso Ilya Ilich Mechnikov (1845-1916), que había realizado observaciones sobre la fagocitosis en estrellas de mar y pulgas de agua, estableció, a partir de 1883, su

“Teoría de los fagocitos”, tras estudiar fenómenos de englobamiento de partículas extrañas por los leucocitos de conejo y de humanos. Informó que existían fenómenos de eliminación de agentes patógenos por medio de “células devoradoras” (fagocitos) que actuaban en animales vacunados contra el carbunco, y explicó la inmunización como una “habitación” del huésped a la fagocitosis. Más tarde, ya integrado en el Instituto Pasteur, propugnó la idea de que los fagocitos segregan enzimas específicos, análogos a los “fermentos” digestivos (1900). Esta teoría de los fagocitos constituyó el núcleo de la teoría de la inmunidad celular, de modo que la fagocitosis se consideraba como la base principal del sistema de defensa inmune del organismo.

Por otro lado, la escuela alemana de Koch hacía hincapié en la importancia de los mecanismos humorales. Emil von Behring (1854-1917) y Shibasaburo Kitasato (1856-1931), a resultas de sus trabajos sobre las toxinas del tétanos y de la difteria, observaron que el cuerpo produce “antitoxinas” (más tarde conocidas como anticuerpos) que tendían a neutralizar las toxinas de forma específica, y evidenciaron que el suero que contiene antitoxinas es capaz de proteger a animales expuestos a una dosis letal de la toxina correspondiente (1890).

Una importante faceta de la inmunología de la primera mitad del siglo XX fue la obtención de vacunas. Se lograron toxoides inmunogénicos a partir de toxinas bacterianas, en muchos casos por tratamiento con formol: toxoide tetánico (Eisler y Lowenstein, 1915) y toxoide diftérico (Glenny, 1921). En 1922 se desarrolla la vacuna BCG contra la tuberculosis, haciendo uso de una cepa atenuada de *Mycobacterium tuberculosis*, el bacilo de Calmette-Guérin. La utilización de coadyuvantes se inicia en 1916, por LeMoignic y Piroy.

Los avances en Inmunología durante los últimos años han sido espectaculares, consolidando a ésta como ciencia independiente, con su conjunto propio de paradigmas, ya relativamente escindida de su tronco originario microbiológico. Entre los hitos recientes hay que citar la técnica de producción de anticuerpos monoclonales a partir de hibridomas, desarrollada originalmente por César Milstein y Georges Kohler en 1975, y que presenta una enorme gama de aplicaciones en biomedicina, o el desentrañamiento de los fenómenos de reorganización genética responsables de la expresión de los genes de inmunoglobulinas, por Susumu Tonegawa.

2.9 ORIGEN Y DESARROLLO DE LA VIROLOGÍA

La Virología ha sido la ciencia microbiológica de origen más tardío, habiendo surgido como resultado del hallazgo de enfermedades infecciosas en las que la demostración de implicación de microorganismos se demostraba esquiva con los medios habituales disponibles a finales del siglo XIX. La euforia que se vivía en los ámbitos científicos y médicos, al socaire de la edad de oro de aislamiento de bacterias patógenas, se plasmó en el prejuicio de que la incapacidad de hacer crecer los agentes causantes de ciertas enfermedades se debía a una técnica inapropiada o mal aplicada.

El botánico ruso Dimitri Iwanovski había observado (1892) que la enfermedad del mosaico del tabaco podía ser reproducida experimentalmente usando el fluido que atravesaba los filtros de porcelana que normalmente retenían a las bacterias, pero siendo incapaz de aislar y crecer el supuesto microorganismo, abandonó la investigación. Pocos años más tarde (1898), y probablemente sin tener noticias del trabajo de Iwanovski, Beijerinck realizó experimentos similares con el mismo sistema, y en otro rasgo de su genio, enfrentándose a los conceptos de la época, avanzó la idea de que el agente filtrable (un *contagium vivum fluidum*, según su expresión), debía de incorporarse al protoplasma vivo del hospedador para lograr su reproducción. Este tipo de agentes infectivos que atravesaban los filtros de porcelana fueron llamados en principio “virus filtrables”, quedando más tarde su denominación simplemente como *virus*. Aquel mismo año de 1898 Loeffler y Frosch descubren los virus animales al comprobar que un virus filtrable es responsable de la glosopeda del ganado. En 1901 Reed descubre el primer virus humano, el de la fiebre amarilla, y en 1909 Landsteiner y Pope detectan el de la poliomielitis. A comienzos de siglo Copeman desarrolla su técnica de multiplicación de virus animales en embriones de pollo, con la que P. Rous aísla y cultiva el virus del sarcoma aviar (1911).

Los virus bacterianos fueron descubiertos en 1915 por F.W. Twort, si bien su trabajo no alcanzó la elegancia y claridad del desarrollado poco más tarde por el canadiense Félix d'Hérelle (1917); fue éste quien acuñó el término *bacteriófago*, y supuso correctamente que el fenómeno de lisis por estos agentes debía de estar ampliamente difundido entre las bacterias. Aunque su esperanza en la aplicación de los fagos como elementos bactericidas para uso médico no pudo satisfacerse, la contribución de los virus bacterianos al avance de la genética y biología moleculares ha sido decisiva: de hecho, los primeros estudios cuantitativos sobre replicación virásica se realizaron sobre fagos de *Escherichia coli*, lo que suministró modelos aplicables a otros virus, incluidos los de animales. En 1925 Bordet y Bal describen por primera vez el fenómeno de lisogenia, pero las relaciones entre los ciclos lítico y lisogénico de los fagos no fueron aclaradas hasta los estudios de André Lwoff (1950).

La primera visualización de un virus se debe a las observaciones a microscopio ultravioleta del bacteriólogo inglés Barnard (1925), y en 1939 se realiza la primera fotografía de un virus a microscopio electrónico. Pero los avances más significativos en el estudio de la composición y estructura de los virus se inician con la purificación y cristalización, por Wendell M. Stanley, del virus del mosaico del tabaco - TMV- (1935), aplicando procedimientos típicos de la cristalización de enzimas. Inicialmente Stanley comprobó que el TMV contenía gran proporción de proteína, pero poco más tarde detecta, además, la presencia de ácido nucleico. A partir de aquí, la Virología entra en una fase de ciencia cuantitativa, en la que participan numerosos físicos, bioquímicos y genetistas, en un esfuerzo interdisciplinar que da origen a la moderna Biología Molecular.

Los recientes progresos en las numerosas técnicas de biología molecular han propiciado una auténtica explosión de descubrimientos sobre la biología de los virus y de sus células hospedadoras; baste citar la replicación del genomio de ARN de los retrovirus por reversotranscripción a ADN, los fenómenos de transformación oncogénica virásica y su aplicación a los estudios generales del cáncer, el diseño de vacunas recombinantes por manipulación *in vitro* de genomios virásicos, la próxima aplicación clínica de la primeras terapias génicas en humanos recurriendo a vectores virásicos, etc. En el terreno de las necesidades urgentes, la metodología existente ha permitido la rápida identificación y caracterización del virus de la inmunodeficiencia humana, lo que se está traduciendo en una intensa y racional búsqueda de procedimientos para prevenir y eliminar la inesperada epidemia de SIDA.

En años recientes han sido descubiertos dos nuevos tipos de entidades infectivas, subvirásicas: T.O. Diener describió en 1967 la existencia de ARN desnudos infectivos en plantas, a los que llamó *viroides*, y en 1981 Prusiner puso de manifiesto que determinadas enfermedades de mamíferos se deben a partículas proteicas aparentemente desprovistas de material genético, a las que bautizó como *priones*.

3 OBJETO DE ESTUDIO DE LA MICROBIOLOGÍA

El objeto de estudio de una ciencia se puede desglosar en dos apartados: objeto material y objeto formal.

3.1 OBJETO MATERIAL: LOS MICROORGANISMOS

La Microbiología es la ciencia que se ocupa del estudio de los microorganismos, es decir, de aquellos organismos demasiado pequeños para poder ser observados a simple vista, y cuya visualización requiere el empleo del microscopio. Esta definición implica que el objeto material de la Microbiología viene delimitado por el tamaño de los seres que investiga, lo que supone que abarca una enorme heterogeneidad de tipos estructurales, funcionales y taxonómicos: desde partículas no celulares como los virus, viroides y priones, hasta organismos celulares tan diferentes como las bacterias, los protozoos y parte de las algas y de los hongos. De esta manera la Microbiología se distingue de otras disciplinas orgánicas (como la Zoología y la Botánica) que se centran en grupos de seres vivos definidos por conceptos biológicos homogéneos, ya que su objeto de indagación se asienta sobre un criterio artificial que obliga a incluir entidades sin más relación en común que su pequeño tamaño, y a excluir a diversos organismos macroscópicos muy emparentados con otros microscópicos.

A pesar de esto (o incluso debido a ello), la Microbiología permanece como una disciplina perfectamente asentada y diferenciada, que deriva su coherencia interna del tipo de metodologías ajustadas al estudio de los organismos cuyo tamaño se sitúa por debajo del límite de resolución del ojo humano, aportando un conjunto específico de conceptos que han enriquecido la moderna Biología.

Podemos definir, pues, a los microorganismos como seres de tamaño microscópico dotados de individualidad, con una organización biológica sencilla, bien sea acelular o celular, y en este último caso pudiendo presentarse como unicelulares, cenocíticos, coloniales o pluricelulares, pero sin diferenciación en tejidos u órganos, y que necesitan para su estudio una metodología propia y adecuada a sus pequeñas dimensiones. Bajo esta denominación se engloban tanto microorganismos celulares como las entidades subcelulares.

3.2 OBJETO FORMAL

Todos los aspectos y enfoques desde los que se pueden estudiar los microorganismos conforman lo que denominamos objeto formal de la Microbiología: características estructurales, fisiológicas, bioquímicas, genéticas, taxonómicas, ecológicas, etc., que conforman el núcleo general o cuerpo básico de conocimientos de esta ciencia. Por otro lado, la Microbiología también se ocupa de las distintas actividades microbianas en relación con los intereses humanos, tanto las que pueden acarrear consecuencias perjudiciales (y en este caso estudia los nichos ecológicos de los correspondientes agentes, sus modos de transmisión, los diversos aspectos de la microbiota patógena en sus interacciones con el hospedador, los mecanismos de defensa de éste, así como los métodos desarrollados para combatirlos y controlarlos), como de las que reportan beneficios (ocupándose del estudio de los procesos microbianos que suponen la obtención de materias primas o elaboradas, y de su modificación y mejora racional con vistas a su imbricación en los flujos productivos de las sociedades).

Finalmente, la Microbiología ha de ocuparse de todas las técnicas y metodologías destinadas al estudio experimental, manejo y control de los microorganismos, es decir, de todos los aspectos relacionados con el modo de trabajo de una ciencia empírica.

4 IMPORTANCIA DE LA MICROBIOLOGÍA

La Microbiología es una ciencia biológica extraordinariamente relevante para la humanidad, dado que los microorganismos están presentes en todos los hábitats y ecosistemas de la Tierra y sus actividades presentan una gran incidencia en numerosísimos ámbitos de interés:

- Los microorganismos han sido los primeros en aparecer en la evolución, y constituyen seguramente la mayor parte de la biomasa de nuestro planeta. Se calcula que sólo hemos descrito menos del 10% de los microorganismos existentes, por lo que los biólogos tienen una gran tarea por delante para estudiar esta parte de la biodiversidad.
- Las actividades microbianas sustentan los ciclos biogeoquímicos de la Tierra: los ciclos del carbono, del nitrógeno, del azufre o del fósforo dependen de modo fundamental de los microorganismos.

Las actividades metabólicas microbianas son excepcionalmente variadas, siendo algunas de ellas exclusivas del mundo procariótico. La biología básica tiene aquí un gran campo de estudio.

- El aspecto aplicado y la incidencia económica y social de los microorganismos es ingente, y aquí daremos unas breves pinceladas:
 - Aspectos beneficiosos:
 - Todas las culturas desarrollaron de modo empírico multitud de bebidas y alimentos derivados de fermentaciones microbianas: vino, cerveza, pan, verduras fermentadas, etc.
 - Producción de multitud de productos industriales: alcoholes, ácidos orgánicos, antibióticos, enzimas, polímeros, etc.
 - La ingeniería genética empezó con los microorganismos, que siguen desempeñando un papel fundamental en la nueva generación de medicamentos recombinantes y de terapias novedosas

- En su aspecto perjudicial, la Microbiología dedica una especial atención a los microorganismos patógenos, sobre todo a los que afectan a la humanidad
 - Las enfermedades microbianas han sido causa de grandes males a nuestra especie. Baste recordar que la peste (*muerte negra*) causó a mediados del siglo XIV la muerte de la tercera parte de la población europea, y ya en la primera mitad del siglo XV llegó a afectar a más del 75%. Basta leer la literatura o ver las pinturas de la época para darse cuenta del impacto terrorífico que supuso, lo que a su vez supuso un factor esencial en el surgimiento de las ideas del Renacimiento.
 - Desde la época del descubrimiento de América, las exploraciones han conllevado el intenso trasiego de agentes patógenos de un lugar a otro. La desaparición de buena parte de la población indígena se debió en buena parte a no tener defensas frente a la viruela europea, pero a su vez los descubridores importaron la sífilis a Europa.
 - No hace falta resaltar el papel que ha tenido la microbiología médica, desde la época de Pasteur y Koch, en la lucha contra las enfermedades infecciosas (antisepsia, desinfección, esterilización, quimioterapia). Y aunque ahora tengamos nuevos retos (SIDA, fiebres hemorrágicas, etc.), no cabe duda de que la Microbiología está contribuyendo a no perder esta permanente batalla contra los gérmenes patógenos.
 - Aparte de todas estas actividades de los microorganismos sobre los humanos, hay que tener en cuenta que existen gérmenes que afectan a animales, plantas, instalaciones industriales, que afectan a alimentos, etc., representando otras tantas áreas de atención para la Microbiología.

5 UBICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS EN EL MUNDO VIVO

Tras el descubrimiento de los microorganismos, a los naturalistas de la época les pareció normal intentar encuadrarlos dentro de los dos grandes reinos de seres vivos conocidos entonces: animales y plantas. De este modo, a finales del siglo XVIII las algas y los hongos quedaron en el reino *Plantae*, mientras que los llamados “infusorios” se encuadraron en el reino *Animalia*.

A mediados del siglo XIX se empezó a ver que esa clasificación era demasiado sencilla, y que el grupo de los infusorios era muy heterogéneo. En 1866 Haeckel, seguidor de Darwin, propone un famoso árbol filogenético con tres reinos:

- Animalia
- Plantae
- Protista: todos los seres vivos sencillos, sean o no fotosintéticos o móviles. Dentro de él consideraba los siguientes grupos:
 - Protozoos
 - Protozoos
 - Algas
 - Hongos
 - Moneras (=bacterias)

Pero esta clasificación iba a ser puesta en entredicho a mediados del siglo XX, cuando las técnicas de microscopía electrónica y bioquímicas demuestran la gran diferencia de las bacterias respecto del resto de organismos. De hecho, ya en los años 60 se reconoce que esta diferencia representa la mayor discontinuidad evolutiva del mundo vivo. En 1974, el *Manual Bergeys* (la biblia “oficiosa” de la clasificación bacteriana) considera que la clasificación al máximo nivel del mundo vivo debe reconocer la existencia de dos “Reinos”:

- Procaryotae (material genético no rodeado de membrana nuclear)
- Eucaryotae (núcleo auténtico)

Pero en los años recientes, la incorporación a la taxonomía de los métodos de biología molecular, especialmente la secuenciación de ARN ribosómico y la genómica, está obligando a nuevos planteamientos. Para resumir, hoy se asume lo siguiente:

- Existen dos tipos de organización celular, la procariótica y la eucariótica.
- Dentro de los seres vivos con organización procariótica, existen dos grandes “dominios” o “imperios”: *Bacteria* (las eubacterias o bacterias “clásicas”) y *Archaea* (antes llamadas arqueobacterias)
- A su vez, el dominio eucariótico comprende numerosas líneas filogenéticas, muchas de ellas de microorganismos. Los mismos Protozoos es un grupo muy heterogéneo, que comprende líneas filogenéticas diversas y a veces muy separadas en el tiempo evolutivo.

BIBLIOGRAFÍA

BALDRY, P. (1981): “La batalla contra las bacterias”. Reverté, Barcelona.

BROCK, T.D. (1961): “Milestones in Microbiology” (reedición de 1975). American Society for Microbiology, Washington, D.C.

COLLARD, P. (1976): “The development of Microbiology”. Cambridge University Press, Cambridge. Existe versión española: “El desarrollo de la Microbiología”, Ed. Reverté.

de KRUIJF, P. : “Cazadores de microbios”. Biblioteca Científica Salvat.

DEBRÉ, P. (1995): “Louis Pasteur”. Barcelona, Círculo de Lectores.

DUBOS, R. “Louis Pasteur”. Biblioteca Salvat de Grandes Biografías.

JAHN, I., R. LÖTHER, K. SENGLAUB (eds.) (1990): “Historia de la Biología”. Labor, Barcelona. (Original alemán: VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1985).

KRIEG, N.R. (1988): Bacterial classification: an overview. *Can. J. Microbiol.* **34**: 536-540.

MARGULIS, L., K.V. SCHWARTZ (1985): “Cinco Reinos”. Labor, Barcelona.