

LA NUTRICION DE LAS BACTERIAS

Por

Sir Paul Fildes

Director del Equipo de Química Bacteriana del Medical Research Council

EL conocimiento exacto de la nutrición de las bacterias es de fecha muy reciente. En el momento de la publicación del *System of Bacteriology* (1929-31) del Medical Research Council se creía que algunas bacterias de interés médico habrían de crecer en mezclas simples de sales en las que la única fuente de nitrógeno fuese NH_3 , proporcionando la energía lactato o glucosa. Se sabía, por otra parte, que otras bacterias necesitaban amino-N. Si estas sustancias nutritivas eran insuficientes, entonces se usaba "peptona" en sus diversa forma y, en último término, suero, sangre y otros productos.

Quienes se hallaban interesados en los aspectos fisiológicos de la nutrición—y no eran muchos—habían demostrado que un medio inadecuado podía hacerse adecuado mediante la adición de extractos de material orgánico, y hasta habían fraccionado dichos extractos hasta que la actividad se hallaba tan sumamente concentrada, que era capaz de presentar un efecto biológico en cantidades tan pequeñas como un "factor accesorio de crecimiento". Desde luego, se suponía que la minúscula adición "accesoria" era una sustancia simple, considerándose el bacilo de la influenza, que se sabía necesitaba dos factores accesorios, como más complejo. Se ha discutido mucho sobre si se trataba de "vitaminas" bacterianas, comparables a las vitaminas de los animales.

La publicación del Medical Research Council titulada *Vitamins: a survey of present knowledge* (1932) adoptaba una posición muy semejante. La idea de que las bacterias necesitaban

lo que pudiera llamarse una dieta equilibrada no había aún cristalizado. Se han llevado a cabo muchos trabajos para comprobar la reacción de las bacterias a sustancias aisladas como única fuente de carbono o nitrógeno; pero, cualquiera que sea el interés de los mismos, es evidente que no tuvieron un significado nutritivo práctico.

A los diez años de esto la posición se había aclarado mucho merced a trabajos realizados en gran parte sólo en Norteamérica y Gran Bretaña, en esta última por el Medical Research Council por medio de su *Equipo de Química Bacteriana*.

Quedó extensamente reconocido que las bacterias necesitan para su crecimiento normal no sólo las mismas fuentes básicas de energía que necesitan los animales, sino las mismas fuentes de amino-nitrógeno, y, dentro de ciertos límites, las mismas vitaminas. La única diferencia notable entre los animales y las bacterias es debida al hecho de que las últimas poseen mayor capacidad de adaptación a medios distintos y pueden, pues, desarrollar más fácilmente una capacidad de sintetizar materiales que son normalmente esenciales y prescindir de este modo de aquéllas en sus elementos nutritivos.

Trabajos preliminares sobre metabolismo bacteriano

El Departamento de Química Bacteriana fué fundado por el Medical Council en 1934 en las siguientes circunstancias: El autor, que pertenecía al servicio del Council y trabajaba en el London Hospital, se había interesado desde hacía años por los aspectos más fisiológicos de la bacteriología, a saber: las condiciones de crecimiento del bacilo de la influenza (Fildes, 1920, 1921, 1922, 1923, 1924) y más tarde por las condiciones que permitían la germinación de los esporos del tétanos (Fildes, 1927, 1929a, 1929b; Campbell y Fildes, 1931). Care-

ciendo de preparación química especial, se unió a B. C. J. G. Knight para estudiar la germinación de los esporos con mayor exactitud (Knight y Fildes, 1930). Resultó entonces evidente que los avances en esta dirección no habrían de ser probables sin mayores conocimientos de la nutrición básica de las bacterias. En aquella época las condiciones eran propicias. La bioquímica estaba haciendo contribuciones crecientes a la bacteriología. La doctora Marjory Stephenson, de Cambridge, había publicado la primera edición de su libro *Bacterial metabolism* (1930), en el cual se analizaban críticamente los conocimientos de la nutrición bacteriana desde el punto de vista bioquímico. En los primeros dos volúmenes (1932-1933) de la *Annual Review of Biochemistry* publicó artículos sobre la química de las bacterias, en los que el progreso en cuestiones nutritivas, sin embargo, era tan pequeño, que no merecía la pena ser mencionado. En los mismos volúmenes, Heidelberger escribía sobre química inmunológica. Sólo en el tercer volumen (1934) se hacía referencia a la nutrición de las bacterias. En él se da cuenta de que Mueller, Klisse, Porter y Graybiel (1933), en los Estados Unidos, habían descubierto que la cistina y el triptofano eran esenciales para el crecimiento de *C. diphtheriae*; que Burrows (1933), también en los Estados Unidos, había hecho crecer *Cl. Botulinum* en mezclas de aminoácidos, y que Fildes y Knight (1933), en Gran Bretaña, habían realizado diversos avances.

J. H. Mueller había estado trabajando sobre líneas químicas críticas durante algunos años, y, en efecto, durante sus estudios bacteriológicos fué el primero en aislar una sustancia hasta entonces desconocida, el amino-ácido metionina, que más tarde se demostró que era un amino-ácido esencial para ciertos microbios y, como es natural, para los animales.

Al comenzar sus trabajos Knight y Fildes decidieron evitar las bacterias no patógenas, que, por ser capaces de crecer en

lactato de amonio, eran evidentemente inadecuadas como objetos de ensayo para el estudio de los "factores accesorios". Se ocuparon de los tipos más exigentes, de ordinario patógenos, que, en todo caso, eran los microbios que interesaban directamente al Medical Research Council. Sin embargo, el *Cl. tetani*, cuya germinación había estado sometida a investigación, era demasiado "difícil", y se emprendieron los trabajos con *Cl. sporogenes*, que poseía caracteres anaeróbicos similares.

A su debido tiempo describieron una *Vitamina sporogenes* (Knight y Fildes, 1933), sin la cual no crecía el organismo. La naturaleza química de esta vitamina no ha quedado nunca establecida, a pesar de la colaboración de Pappenheimer (1935) cuando se hallaba visitando Gran Bretaña y trabajaba en el National Institute for Medical Research del Council. A este respecto, la labor de Knight y Fildes no puede considerarse un avance importante; pero en el curso de la misma dejaron establecidas, hasta un punto considerable, las necesidades de amino-ácidos del organismo. En aquella época la impureza de los amino-ácidos naturales constituía una grave dificultad, y fué una suerte que W. C. Rose y sus colaboradores sobre nutrición animal se hallasen sometidos a la misma dificultad en Norteamérica, puesto que ello indujo a su colega Marvel a idear métodos prácticos para la síntesis en grande de los amino-ácidos. Gradualmente, los productos sintéticos van sustituyendo a los naturales, pero incluso hoy la serie no se halla completa. La gran importancia de los productos sintéticos para este género de trabajos lo demuestra el hecho de que el crecimiento del *Cl. sporogenes*, conseguido en 1933 por Knight y Fildes, no puede ser repetido en la actualidad. Resulta claro que de nuestros actuales reactivos ha sido eliminado algún otro factor esencial, presente como contaminación en los productos naturales que entonces usamos.

Por esta época el doctor G. P. Gladstone se unió al autor y a Knight como bacteriólogo, y se publicaron trabajos (Fildes, Gladstone y Knight, 1933; Fildes y Knight, 1933) demostrando las necesidades de amino-ácidos del *Bact. typhosum* y comunicando el hecho de que dichas necesidades varían con la adaptación a un medio ambiente cambiado. Se insistía especialmente sobre la relación del triptofano con la nutrición.

De este modo, un organismo que normalmente necesitaba triptofano podía ser acostumbrado a no necesitarlo ya. Este organismo derivado se vió que había adquirido la capacidad de sintetizar, de compuestos más simples, el triptofano ausente. También se hizo observar que “la costumbre parasitaria o patogénica puede estar relacionada con la incapacidad de sintetizar el triptofano”.

Estos trabajos indicaban la posibilidad de un nuevo enfoque de algunos aspectos de la bacteriología médica, y el Medical Research Council decidió formar un equipo especial para investigaciones continuadas, bajo la dirección del autor, incluyendo al doctor Knight y al doctor Gladstone, y reforzando el lado bioquímico con el nombramiento del doctor G. M. Richardson.

El Council se vió alentado a dar este paso debido a la munificencia de los albaceas testamentarios del finado Viscount Leverhulme, quienes han mantenido su apoyo hasta el presente. También tuvo el Council la fortuna de recibir una generosa oferta de alojamiento para el Equipo en el Bland-Sutton Institute del Middlesex Hospital, dirigido por el profesor James McIntosh, antiguo colega del autor. Este Equipo iba a estar constituido por un grupo de bacteriólogos y bioquímicos trabajando en salas adyacentes y en constantes discusiones diarias. Todos los trabajos publicados contenían necesariamente cuestiones derivadas de los trabajos de colegas anónimos o incluso parte de su labor misma.

Los trabajos comenzaron en el Middlesex Hospital en 1934. Al Equipo correspondía en gran parte dejar determinados por primera vez los requerimientos de amino-ácidos esenciales de cierto número de bacterias y demostrar que las necesidades nutritivas dependían de no poder realizar la síntesis. De estos trabajos se fué desarrollando gradualmente la idea de una evolución de las bacterias que dependía de una pérdida de función sintetizante, idea precisamente similar a la dada simultánea pero independientemente por Lwoff en el Institut Pasteur de París en relación con los protozoos.

Ya sean rechazadas o no las hipótesis más especulativas sobre las relaciones evolutivas de los animales y las bacterias, discutidas por Fildes (1934), carece de importancia, ya que no pueden ser comprobadas; pero los datos sobre las cuales éstas se basaban—recogido y correlacionados por Knight y publicados por el Medical Research Council (Knight, 1936)—despertaron el interés mundial, y, en efecto, han tenido una gran influencia para estimular el estudio químico de la nutrición bacteriana.

El Equipo se preocupó especialmente de la nutrición del *Staph. aureus*. Richardson (1936) vió que el uracilo era un elemento nutritivo necesario en el crecimiento anaeróbico en este organismo. Fué éste probablemente el primer caso de que una vitamina bacteriana, que no era un amino-ácido, quedó exactamente definida. Knight (1935) había estado trabajando sobre otro nuevo “factor” necesario para el crecimiento, y más tarde (1937) pudo demostrar que su factor consistía en aneurina y nicotinamida. Schopfer (1935) había demostrado ya que la aneurina era un elemento nutritivo esencial para un moho, y Tatum, Wood y Peterson (1936), que era probablemente esencial para los bacilos lácticos. Sin embargo, la nicotinamida era una nueva introducción en bacteriología. Estos resultados hi-

cieron evidente que el uso de la expresión "vitamina" en relación con las bacterias, más que la de "hormona", más favorecida, era correcto, ya que una de estas sustancias se aceptaba ya como vitamina animal, en tanto que la otra fué aceptada poco tiempo después.

Entre tanto, Fildes y Richardson (1937) definieron los requerimientos de azufre del estafilococo, y Gladstone (1937) los requerimientos de nitrógeno y las condiciones bajo las cuales se produce la hemolisina (Gladstone, 1938). Era entonces posible por primera vez hacer crecer un patógeno exigente en una mezcla de composición conocida.

En esta fase de los trabajos se unió al Equipo el doctor G. M. Hills y estableció la necesidad de aneurina en el metabolismo del piruvato en el *Staph aureus* (Hills, 1938). El doctor Richardson abandonó el Equipo y fué sustituido por el doctor H. McIlwain, quien intervino en el descubrimiento de la glutamina (McIlwain, Fildes, Gladstone y Knight, 1939) y del ácido pantoténico (McIlKain, 1939) como factores en el crecimiento del *Strept. haemolyticus*. En 1940 fué el primero que hizo crecer *Strept. haemolyticus* en una mezcla definida (McIlwain, 1940a).

Entre tanto, el estudio de la nutrición del *B. anthracis* reveló curiosas interrelaciones entre los amino-ácidos nutritivos (Gladstone, 1939).

El Equipo había hecho observar repetidamente la estrecha similitud entre los requerimientos de amino-ácidos y vitaminas de animales y bacterias, y sugirió que, por lo menos las fases preliminares de investigación de la nutrición animal, podían establecerse en bacterias con un gran ahorro de tiempo: en horas más que en semanas o meses. Según Williams (1943), esta práctica es en la actualidad común. Las pruebas microbiológicas "tienen la enorme ventaja de que el número de ellas puede ser grandísimo sin un excesivo gasto de tiempo".

Influencia de la nutrición bacteriana sobre las sustancias anti-sépticas y quimioterápicas

El doctor Knight había abandonado ahora el Equipo y había sido sustituido por el doctor D. D. Woods, miembro de un grupo dirigido por la doctora Marjory Sthepenson, que trabaja sobre metabolismo bacteriano para el Council en el Laboratorio Bioquímico de Cambridge. Por esta época el doctor L. E. H. (actualmente sir Lionel) Whitby, miembro del personal del Bland-Stuton Institute, estaba colaborando con el doctor A. J. Ewins en la comprobación de sulfodrogas, y eran frecuentes las discusiones privadas con nuestro Equipo. Resultaba claro para el Equipo que la acción de un medicamento antibacteriano pudiera producirse por interferencia con la acción normal de un "metabolito esencial". El término de "factor de crecimiento" había sido abandonado en favor de este nuevo término, porque el primero estaba asociado con la nutrición, a saber: era una sustancia que había que proporcionar a un microbio que no fuese capaz de sintetizarla. En cambio, la misma sustancia constituía un eslabón esencial en el metabolismo de un microbio que pudiera sintetizarla, aunque entonces no se necesitase como un "factor de crecimiento" nutritivo.

El Equipo había ya dejado demostrado que el grupo -SH era un metabolismo esencial, y como se sabe que Hg se combina con SH, no fué difícil suponer que la acción antiséptica del Hg pudiera ser debida a esta combinación. También se sabía bien que el metabolito esencial -SH (H-SH) podía contrarrestar o antagonizar la acción antiséptica del Hg. Esta hipótesis de la acción del Hg fué comprobada y encontrado correcta por Fildes (1940).

En el caso de la sulfanilamida había ya indicaciones de la existencia de "antagonizantes" en extractos procedentes de

bacterias (Stamp, 1939). Estos, en opinión de nuestro Equipo, pudieran muy bien ser metabolitos esenciales sobre los cuales reaccionaba la sulfonamida, pero que en exceso podían resultar antagónicos a ella.

Woods se encargó de esta cuestión, con el resultado de que se vió que el ácido *p*-aminobenzoico antagonizaba la sulfonamida (Woods, 1940). Según Woods, el ácido *p*-amino-benzoico era un metabolito esencial para las bacterias, y la acción de la sulfonamida se debía a interferencia con el metabolismo normal del ácido *p*-amino-benzoico, la cual, a su vez, era debida a la estrecha similitud estructural entre ambas sustancias.

Se trataba de una cuestión de competición entre sulfanilamida y ácido *p*-amino-benzoico por el servicio de una enzima encargada normalmente del metabolismo de este último.

Fué éste, evidentemente, un descubrimiento de la mayor importancia, con muchas repercusiones esbozadas por Fildes (1940a). Entre otras cosas, indicaba que los inhibidores competidores pudieran estar ideados para bloquear el metabolismo de cualquier metabolito esencial. Con este fin, sólo era necesario modificar la estructura de un metabolismo esencial de tal modo que no pudiera funcionar ya como tal, pero ocupar, sin embargo, el servicio de la enzima. Así, McIlwain (1940b) produjo piridina-3-ácido sulfónico sobre el modelo de ácido nicotínico y sulfonamida, y Fildes (1941) demostró que el indolacrilato evitaba el crecimiento, inhibiendo la utilización ulterior del indol, sustancia que se había visto era una fase en la síntesis del triptofano (Fildes, 1940c). Había quedado así indicado un procedimiento racional en el desarrollo de agentes quimioterápicos, así como un modelo de analizar las fases de la biosíntesis.

No le fué permitido al Equipo sostener la hipótesis demostrando la exactitud de la predicción de que el ácido *p*-amino-

benzoico era un metabolito esencial desconocido hasta entonces y una vitamina animal, porque cesó en sus trabajos a mediados de 1940. Rubbo y Gillespie (1940), en Australia, dejaron probada la primera predicción, y Ansbacher (1941) la segunda. Del Equipo, sólo el doctor McIlwain, en la Universidad de Sherffield, continuó estos trabajos.

Durante los años de guerra los miembros del Equipo han seguido con interés el desarrollo de este tema en América del Norte. El descubrimiento de nuevas vitaminas bacterianas ha pasado a ser casi una cuestión de rutina, y la aplicación de estos descubrimientos a la nutrición animal se ha hecho general. Van Niel (1943) manifiesta:

“Es casi una conclusión descontada que pronto quedará demostrado que un factor de crecimiento descubierto recientemente, necesario en cantidades minúsculas por ciertos microorganismos, es una vitamina para los organismos superiores.”

Resulta, pues, que la hipótesis general del Equipo, relacionando la acción antibiótica con la estructura de metabolitos esenciales, se ha visto apoyada por muchos ejemplos nuevos y ha sido generalmente aceptada. Así, Daniels (1943) decía:

“Desde el punto de vista de la bioquímica, el avance más importante en esta clase de compuestos es haber aclarado un mecanismo que permite correlacionar las actividades de estos compuestos con sus propiedades físico-químicas. Postulados anteriores, relativos al mecanismo de acción, han quedado más o menos anticuados por la teoría de Woods y Fildes.”

Van Niel (1943):

“Hay que reconocer que los intentos de producir nuevos agentes bacteriostáticos como análogos de factores de crecimiento conocidos han dado por resultado productos cuya actividad se halla, en conjunto, tan de acuerdo con lo que se espe-

raba, que ha quedado establecida la fertilidad del concepto original.”

Williams (1943):

“Aunque hemos de admitir que el nuevo enfoque de la quimioterapia no ha conducido, hasta ahora, al descubrimiento de nuevos agentes terapéuticos de mérito sobresaliente, parece probable que un estudio más detenido de los hechos fundamentales en cuestión habrá de rendir fruto.”

En vista de dichas opiniones, no hay que hacer demasiado caso de unos cuantos impugnadores. Ha existido cierta tendencia a generalizar más allá de las pretensiones de Woods en su única contribución a este asunto (1940).

El equipo acababa de emprender el análisis de las fases en la biosíntesis de metabolitos esenciales, usando bacterias que se hallaban desprovistas—espontáneamente o por acomodación—de determinadas enzimas sintéticas. Esta cuestión ha hecho grandes progresos en la actualidad en Norteamérica gracias a una nueva técnica que emplea el moho *Neurospora*, en el cual han sido destruídas enzimas sintéticas aisladas mediante la acción de los rayos X. La importancia de estos trabajos reside en el hecho de que cualquier fase en la síntesis de un metabolito esencial es en sí misma un metabolito esencial, y, lo que es más, un metabolito contra el cual puede inventarse un inhibidor competidor.

Estado actual de los conocimientos sobre nutrición bacteriana

En el momento actual han quedado determinadas las líneas generales de la nutrición bacteriana, aunque existen lagunas que quedan por llenar. Puede decirse que los elementos nutritivos se requieren, en último término, para permitir que las bacterias se reproduzcan y, naturalmente, cumplan las funcio-

nes de las cuales el fin perseguido es la reproducción. Estas actividades requieren energía libre y los materiales básicos de los cuales pueda formarse el nuevo protoplasma del tipo específico para la bacteria.

Si el argumento se limita a las bacterias más o menos heterofílicas que comprenden aquellas de interés médico, podemos decir que la ciencia de la nutrición define los ingredientes químicos exactos que deben ser absorbidos por una bacteria de modo que *a* pueda liberar energía libre de ellos por enzimas catabólicas y *b* formar de ellos proteínas mediante enzimas sintéticas.

— Con el fin de que la bacteria pueda absorber dichos ingredientes, deben ser de un tamaño molecular lo suficientemente pequeño para permitir la difusión en ella.

Los mecanismos mediante los cuales se libera energía han sido estudiados durante años bajo el nombre de “metabolismo bacteriano” y el equipo apenas si se ha ocupado de este aspecto de la cuestión. Su interés principal ha residido en los procesos sintéticos.

Aquí nos encontramos con sustancias de pequeño peso molecular que contienen nitrógeno, de un peso incluso tan pequeño como las sales de amonio, y sustancias inorgánicas que contienen los demás elementos esenciales. Estas son absorbidas por las bacterias, y en pocas horas son sintetizadas en proteínas. Claro está que este hecho notable no se consigue en un solo paso, sino en una serie de ellos, cada uno realizado por una enzima sintética separada.

Algunas bacterias poseen una batería completa de tales enzimas, de modo que pueden pasar de NH_3 a proteína sin ayuda alguna. Otras bacterias no la poseen, y en este caso no pueden crecer, porque la síntesis está bloqueada a nivel de la deficiencia enzimática. Son estas bacterias las que ayudan a aclarar

la nutrición, porque sólo pueden crecer cuando se les proporciona el componente ausente como elemento nutritivo preformado. Este es el "factor de crecimiento" singularizado por una bacteria determinada de entre todos los demás "metabolitos esenciales" en la cadena sintética, por el hecho de que no puede sintetizarlo.

El Medical Research Council está ocupándose actualmente de la reconstrucción del Equipo para continuar estos trabajos y desarrollarlos sobre las líneas que sea posible. Por necesidad tendrá que haber un largo período de retraso antes de que puedan verse resultados. Con el transcurso del tiempo se ha producido la dispersión normal del personal, siendo el doctor G. P. Gladstone el único superviviente del Equipo original para ayudar a su reconstrucción. El doctor Woods está en la actualidad organizando un nuevo grupo en la Universidad de Oxford. El doctor McIlwain continúa en la Universidad de Sheffield, y el doctor Hills se encuentra trabajando en el Departamento de Investigaciones Microbiológicas de Porton. Sus lugares han sido ocupados por el doctor H. N. Rydon, doctor M. R. Pollock y doctor D. Herbert. Los locales anteriores del Middlesex Hospital, aunque poco afectados por la guerra, resultan ahora demasiado pequeños, y se han tomado disposiciones para alojar al Equipo en el Lister Institute of Preventive Medicine, donde los trabajos se irán desarrollando gradualmente a medida que mejoran las actuales condiciones de austeridad.

El objeto del Council al reconstruir el Equipo hay que suponer que sea el descubrimiento de conocimientos fundamentales de las reacciones fisiológicas de las bacterias. Normalmente, los trabajos de este género deberían ser de competencia de las Universidades más que de un departamento gubernamental encargado de investigaciones para el alivio de los enfermos; pero en Gran Bretaña la bacteriología ha estado siem-

pre tan ligada con la Medicina, que las Universidades no han pensado demasiado en dotar esta disciplina. El Council hace tiempo que ha reconocido que la aplicación de la investigación a las necesidades del hombre requiere capital, y que este capital son los conocimientos recogidos por quienes trabajan sin obligación ninguna de conseguir fines utilitarios. Por consiguiente, ha tomado a su cargo el deber de las Universidades o, por lo menos, con su ejemplo y ayuda a las Universidades ha iniciado un movimiento que habrá de proporcionar material adecuado para su explotación.

(per "Mont. Farm. y Teptca.", LIII, 1.422.)

Aplicaciones locales de fluoro sódico para prevenir la caries dentaria

Teniendo en cuenta la acción del fluor de las aguas en la evitación de la caries dentaria, Knutson y Armstrong emplearon hace unos años aplicaciones locales de una solución de fluoruro sódico y observaron una disminución en la frecuencia de caries en los niños tratados, la cual llegaba a ser de un 40 por 100, cuando se repetía el número de tratamientos hasta 7 a 15. Como la práctica de un número tan elevado de aplicaciones locales es difícil de realizar en una población numerosa, Jordan, Wood, Allison e Irwin (J. Am. Dent. Ass., 33, 1.385, 1946) han estudiado el efecto de un número menor de toques locales. Han empleado siempre una solución de fluoruro sódico al 2 por 100. Los dientes se aíslan con rollitos de algodón; la boca se deja abierta unos cuatro minutos, hasta que se seque la solución sobre el diente. En los niños estudiados se dejó de tratar la mitad de la dentadura, como testigo. Mediante una, dos o tres aplicaciones se consigue, en efecto, una reducción en la frecuencia de la caries en los niños tratados, pero estas diferencias son solamente de un 40 por 100 cuando se realizan tres aplicaciones, y son muy inferiores con un número menor de ellas. (per Rev. Clí. Esp., 11-1947.)