

EL FENOMENO DE "SWARMING" Y OTROS TIPOS DE DESPLAZAMIENTO BACTERIANO

Francisco Hernández; * Evelyn Rodríguez.

Key words: swarming; swimming; twitching; gliding; sliding; darting; *Proteus*; *Clostridium*.

RESUMEN

*Algunas bacterias exhiben diversos tipos de desplazamiento sobre los medios de cultivo sólidos, lo que se pone en evidencia por la presencia de velos o películas de crecimiento en el entorno de las colonias. El fenómeno más observado de éstos es el de "swarming", observado en *Proteus spp.*, en el cual las bacterias sufren una transfiguración importante convirtiéndose en formas filamentosas hiperflageladas. Sin embargo, otros tipos de desplazamiento que se presentan son "swimming", "twitching", "gliding", "sliding" y "darting", cuyas características más notorias se describen en este artículo. (Rev. Cost. Cienc. Méd. 1993; 14(1, 2): 45-51).*

INTRODUCCION

Al referirse a la movilidad bacteriana pensamos en observaciones microscópicas de bacterias moviéndose en una gota pendiente, en un patrón de crecimiento característico para algunas bacterias móviles en un tubo con agar semisólido inoculado por picadura; o bien en el fenómeno de "swarming", que usualmente asociamos con *Proteus sp.* Sin embargo, el fenómeno de "swarming",

que se manifiesta por la presencia de una película fina de crecimiento expansivo a partir de las colonias aisladas, puede enmascarar por lo menos cinco tipos más de desplazamiento; expresados por algunas bacterias bajo diversas condiciones del laboratorio y que podrían representar adaptaciones a condiciones ambientales propias para algunos micronichos determinados (5, 12) y que en el caso de agentes patógenos, podrían constituir mecanismos de virulencia importantes. La descripción de estos movimientos ha sido realizada fundamentalmente en idioma inglés, y el trabajo más importante en este campo fue realizado por Henrichsen en 1979, en una extensa revisión, basada en observaciones y experimentos de laboratorio y de la cual tomamos las descripciones más importantes para este artículo (12), empleando los términos originales para referirnos a ellos, evitando así caer en problemas de traducción. Estos tipos de desplazamiento han sido definidos como: "swarming", "swimming", "twitching", "gliding", "sliding" y "darting" (12).

El fenómeno de "swarming"

A nivel del laboratorio clínico este es el fenómeno más común de los mencionados anteriormente y se asocia con un comportamiento indeseable de *Proteus spp.*, que le hace extenderse sobre las placas de agar sangre, formando una película de crecimiento que obstaculiza el aislamiento de cualquier otro agente. Tal película es el resultado de un comportamiento grupal de las bacte-

* Departamento de Microbiología, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

rias en la periferia de la colonia, en la cual unos organismos se desplazan sobre sus vecinos (5). Tal vez, el término en español más cercano a la traducción de "swarming" sería "bullir", cuyas acepciones, tercera y cuarta, del diccionario de la Real Academia Española son: "Agitarse a semejanza del agua hirviendo una masa de personas, animales u objetos" y "Moverse, agitarse una persona con viveza excesiva; no parar, no estarse quieta en ninguna parte". Sin embargo, el fenómeno es harto conocido en bacteriología como "swarming".

El fenómeno de "swarming" no es exclusivo de *Proteus*, aunque este es el género en que más se ha estudiado. Otras bacterias que lo presentan son: *Chromobacterium* (19), *Pseudomonas* (15), *Serratia* (5), *Vibrio parahaemolyticus* (3, 18), *V. alginolyticus* (14), *Clostridium tetani* (21), *C. novyi*, *C. septicum* (8) y *Badilus alvei* (12), entre otros.

Este fenómeno ocurre en tres fases: diferenciación, migración y consolidación (23). El requisito primordial es que la bacteria que se inocula en un medio sólido provenga de un medio líquido; posiblemente por ello se aprecia con frecuencia en las cepas de *Proteus* aisladas de los urocultivos. En términos generales, las bacterias sufren alteraciones ultraestructurales e inician el desplazamiento a partir del borde de la colonia y luego de unas dos horas se da la fase de consolidación, donde se detienen o aminoran la velocidad, aumentando la densidad de la población en ese punto e inician nuevamente otro ciclo similar (5, 6, 9, 10, 23). Si la bacteria se inocula en el centro de una placa con medio sólido, como un plato de agar triplicasa soya o agar sangre, se formará una colonia inicial de aspecto denso y luego la secuencia de fases de desplazamiento y consolidación, que se seguirá repitiendo hasta llegar al borde de la placa, originará una colonia de aspecto concéntrico (5, 9, 23), como la que se ilustra en la figura 1.

La fase de diferenciación está asociada con cambios morfológicos espectaculares, regulados genéticamente por la activación y

desactivación de genes, condicionada por factores ambientales, como la disponibilidad de nutrientes y la incapacidad de los flagelos para rotar cuando la bacteria está en un medio sólido (4, 5). Esta regulación se traduce en la inhibición de la septación y la exacerbación de la expresión de flagelos laterales, que en conjunto provocan la transfiguración de bacilos cortos, usualmente de 2 a 4 μm de largo y con menos de 10 flagelos peritricos, en bacterias filamentosas de unos 80 μm de largo y con más de 1000 flagelos (5, 23). En las figuras 2 y 3 se muestran bacilos transfigurados, tomados de la zona de expansión de una colonia de *Proteus mirabilis*.

Estos cambios se reflejan también en alteraciones bioquímicas y ultraestructurales de la membrana externa de la pared bacteriana, en la que disminuye la proporción de partículas proteicas en la capa intermedia de esa membrana (1); que la asemeja ultraestructuralmente a la membrana externa de bacterias rugosas, lo que hace sospechar en una diferente proporción de lipopolisacárido, con la consiguiente pérdida de la región hidrofílica, lo que incrementa la susceptibilidad a antibióticos hidrofóbicos (1) y aumenta la fragilidad y permeabilidad de las células filamentosas (13).

Además, al menos en *Proteus*, la expresión de algunas enzimas, como la ureasa, varía entre la célula cultivada en medio líquido, que la posee y las células hiperflageladas que carecen de ella (13).

La fase de desplazamiento se da luego de la transfiguración. En ella los bacilos filamentosos del borde de la colonia se disponen paralelamente en grupos e inician un desplazamiento activo, a una velocidad de unas 10 a 15 μm por segundo, que podría ser causado por el batir de los flagelos sobre una superficie sólida (5, 9, 12). La observación del borde de la colonia al microscopio de contraste de fases, muestra a los bacilos filamentosos dispuestos en grupos que recuerdan rizos u olas que emergen del borde de la colonia y se desplazan alejándose de ésta, pero a medida que el desplazamiento progresa vuelven a fundirse con ella e inician otra oleada (5).

Es posible que ese desplazamiento sea ayudado por una modificación del glicocálix circundante a la bacteria, el que se ha demostrado como una película homogénea que recubre esos grupos de bacterias que se desplazan e incluso queda como una huella por donde pasaron, aunque no se sabe si este glicocálix es indispensable para tal movimiento (20).

La fase de consolidación se asocia al detención o a una disminución de la velocidad de desplazamiento, durante la cual las bacterias filamentosas reinician la división activa para dar nuevamente las formas cortas; en este período la masa de bacterias aumenta en ese punto donde se detuvo la colonia, por lo que el borde se observa más grueso (6, 9, 10). Luego se inicia otro ciclo de transfiguración, migración y consolidación, lo que brinda una colonia con un aspecto característico de zonas o terrazas, que en las placas inoculadas centralmente se traduce en una colonia concéntrica, como se describió previamente (Fig. 1). En una placa de menos de 12 horas de inoculación el último anillo muestra ese movimiento activo y aparece con un borde serrado (5, 6, 9, 10). Como señalan William y Schwarzkoff (23), esta sorprendente transmutación inspiró a Hauser en 1885, cuando bautizó al género *Proteus*, utilizando un término derivado del nombre del dios Proteo, uno de los guardianes del mar y que tenía la capacidad de cambiar su forma para escapar del ataque de sus enemigos, según narra Homero en la Odisea (23).

Actualmente, se acepta que el fenómeno es regulado genéticamente, aunque antes se habían expuesto hipótesis referentes a un posible mecanismo quimiotáctico, según el cual la acumulación de metabolitos tóxicos en el centro de la colonia, estimulaba la migración de los bacilos de la periferia, buscando mejores territorios; esta hipótesis fue descartada, pues cuando esos bacilos migrantes eran reinoculados en medios frescos, continuaban su ciclo de migración (22, 23). Se han identificado inhibidores del "swarming" como EDTA, cianida de sodio y dietilditiocarbamato de sodio, que parecen actuar quelando elementos como hierro y cinc (13).

Una de las bacterias que muestra cambios más notables es *Vibrio parahaemolyticus*, un agente que presenta sólo un flagelo polar envainado, pero cuando hace su fenómeno de "swarming", aparte de convertirse en una forma alargada policurvada, expresa flagelos peritricos desnudos, antigénicamente diferentes del flagelo polar envainado (3). Pero en esta bacteria no se ha observado la capa de glicocálix asociada al "swarming", como en *Proteus* spp (3, 4).

"Swimming" (el desplazamiento de las bacterias que nadan)

Este tipo de desplazamiento se debe a un movimiento natatorio propio de bacilos flagelados y se realiza en la película de agua que queda sobre los medios de cultivo sólidos; obviamente, para que se manifieste se requiere usar medios frescos, que además deben ser incubados en jarras tipo GasPak o en bolsas plásticas para evitar la desecación.

En este tipo de desplazamiento las colonias aparecen rodeadas de proyecciones digitiformes, cuya observación al microscopio de contraste de fases, pone en evidencia la presencia de bacterias que individualmente nadan alejándose de la colonia. Si los medios de cultivo se desecan, por ejemplo incubándoles 24 horas a 37°C antes de la inoculación, se elimina esa película de agua que permite este tipo de desplazamiento. Este es el caso de *Campylobacter jejuni*: si se inocula sobre placas húmedas, las colonias tienden a hacerse alargadas siguiendo la huella del asa empleada en el rayado, que representa un surco o canal lleno de agua; pero en medios desecados, las colonias presentan una forma definida (7).

La observación al microscopio electrónico de rastreo de los entornos de colonias de bacterias móviles permite observar los organismos en el medio a distancias mayores de 100 µm de la colonia. En el laboratorio clínico esta manifestación es común en bacilos contaminantes que cubren grandes áreas de las placas de cultivo (12).

“Twitching”, (bacterias que presentan un movimiento pulsante)

Este tipo de movimiento fue descrito en 1961 en *Acinetobacter calcoaceticus*, una bacteria no flagelada, cuyas colonias aparecían orladas por una película de crecimiento, como la que podría esperarse en bacterias móviles. El análisis de ese halo de crecimiento al microscopio de contraste de fases, evidenciaba un desplazamiento intermitente y desorganizado de los bacilos, que no siempre se realizaba en el sentido de su eje longitudinal, lo que en algunos casos daba la sensación de que los bacilos se movían de lado. Este tipo de desplazamiento le confiere un aspecto característico a las colonias de los organismos que lo exhiben; que en algunos casos semejan la forma de un abanico (11, 12), como se observa en la figura 4, que corresponde a una especie de *Clostridium*, inoculado en el centro de una placa de agar sangre que se incubó en anaerobiosis por 48 horas; inicialmente se formó una colonia consolidada, que luego manifestó un desplazamiento tipo “swarming”, formando un halo concéntrico y a partir de dos puntos periféricos de éste, se desplazó brindándole ese aspecto de abanico característico. Este fenómeno es independiente de la acción flagelar y lo pueden presentar tanto bacterias flageladas como no flageladas. Está asociado con la presencia de fimbrias polares, más largas que los otros tipos de fimbrias descritos y que usualmente se presentan con una distribución peritrica. El fenómeno se ha descrito en *Pseudomonas* spp., *Moraxella lacunata*, *M. nonliquefaciens*, *M. kingae*, *M. osloensis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Streptococcus sanguis* y en anaerobios como *Eikenella corrodens*, *Bacteroides ureolyticus* y *B. nodosus*. Este fenómeno no se ha encontrado en ningún miembro de la familia Enterobacteriaceae (11).

“Gliding”, (el desplazamiento de las bacterias que se deslizan)

La clasificación del manual Bergey, incluye en la sección dos a un grupo de bacterias

que carecen de flagelos y que presentan este movimiento deslizante, cuyo prototipo es *Myxococcus*, organismos que exhiben complejos arreglos multicelulares con cuerpos fructíferos, que incluso han dado pie para discutir si cabe el término de bacterias multicelulares (17). No obstante, otras bacterias también presentan este tipo de desplazamiento, cuya característica es la presencia de un rastro de polisacáridos, aparentemente sobre el cual se deslizó la bacteria. El borde de la colonia muestra un aspecto plumoso, dado por grupos de bacterias que se deslizan siguiendo su eje longitudinal. Se ha descrito en *Vitreoscilla*, sp. y *Chondrococcus* sp. y *Cytophaga* sp. entre otras bacterias (11, 12).

“Sliding”, (bacterias que resbalan sobre los medios de cultivo)

Otro tipo de desplazamiento independiente de la acción flagelar, es debido a la fuerza expansiva que sufren las bacterias en la periferia de la colonia, y debido a una reducción en la fricción sobre el medio se resbalan hacia el exterior de la colonia, formando un velo uniforme sobre el medio de cultivo. Este tipo de desplazamiento ha sido descrito en cepas de *Streptococcus*, *Alcaligenes odorans*, *Flavobacterium meningosepticum*, *Acinetobacter Morarella* y *Corynebacterium* entre otros. En este caso aparece rodeada por una película de borde uniforme (12).

“Darting”, (bacterias expulsadas de la colonia)

Este tipo de fenómeno fue observado inicialmente en colonias de *Staphylococcus aureus* que semejaban colonias de “bacillus”. El movimiento es explicado por la presión ejercida de unas bacterias sobre otras durante el crecimiento en grupos que comparten el material capsular. Cuando esas fuerzas son mayores que la fuerza para mantener la cohesión del grupo, algunas de las bacterias salen disparadas de la colonia, lo

que brinda un aspecto macroscópico de una colonia con jirones proyectados angularmente (12).

En conclusión, el tipo de desplazamiento sobre medios sólidos exhibido por las bacterias *in vitro*, podría tener su propia expresión en la naturaleza, donde podría actuar como una arma más en el arsenal de virulencia de las cepas patógenas. Esta posibilidad se ha evaluado, aunque muy someramente en *Proteus* sp., en relación con infecciones del tracto urinario (2). La inoculación de cepas virulentas de *Proteus* en ratas preinmunizadas con preparaciones de flagelos de esas cepas ha prevenido la invasión renal vía catéteres (16). Además, en las infecciones experimentales se demuestran anticuerpos antiflagelares, lo que indirectamente podría representar el bloqueo de un posible mecanismo de virulencia (2). Sin embargo, con los otros tipos de desplazamiento no se han estudiado tales posibilidades.

Por otra parte, el estudio y definición de los tipos de desplazamiento que pueden exhibir las bacterias sobre medios de cultivo sólidos, podría representar un dato más en los cuadros de clasificación de algunas bacterias, en especial aquellas fastidiosas. En ese sentido en nuestro laboratorio se está analizando el tipo de desplazamiento que exhiben las diversas especies de *Clostridium*, tratando de correlacionarle con las especies, en especial en aquellas que por su comportamiento bioquímico resultan difíciles de diferenciar.

ABSTRACT

Certain bacteria show distinct kinds of displacements on solid culture media, evidenced by the presence of a growth film around the colonies. The swarming phenomenon in Proteus sp. has been most studied, where bacteria experience important transfigurations and change to long hyperflagellated filamentous shapes. There are other types of displacements, such as: swimming, twitching, gliding, sliding and darting, whose main characteristics are described in this paper.

BIBLIOGRAFIA

1. Armitage, J. P.: Changes in the organization of the outer membrane of *Proteus mirabilis* during swarming: Freeze-fracture structure and membrane fluidity analysis. *J. Bacteriol.* 1982; 150: 900-904.
2. Bahrani, F. K.; Johanson, D. E.; Robbins, D. y Mobley, H. L. T.: *Proteus mirabilis*. Flagella and MR/P fimbriae: Isolation, purification, Nterminal analysis, and serum antibody response following experimental urinary tract infection. *Infect. Immun.* 1991; 59: 3574-3580.
3. Belas, R. y Colwell, R. R.: Scanning electron microscope observation of the swarming phenomenon of *Vibrio parahaemolyticus* *J. Bacteriol.* 1982; 150: 956-959.
4. Belas, R.; Simon, M. y Silverman, M.: Regulation of lateral flagella gene transcription in *Vibrio parahaemolyticus* *J. Bacteriol.* 1986; 167: 210-218.
5. Belas, R.: The swarming phenomenon of *Proteus mirabilis*. Intercellular communication and multicellular interactions may provide clues to this 100-years-old mystery. *ASM News* 1992; 58:15-22.
6. Bisset, K. A. y Douglas, C. W. I.: A continuous study of morphological phase in the swarm of *Proteus*. *J. Med. Microbiol.* 1976; 9:229-231.
7. Buck, C. E. y Kell, M. T.: Effect of moisture content of the medium on colony morphology of *Campylobacter fetus* spp. *jejuni*. *J. Clin. Microbiol.* 14: 584-586, 1981.
8. Cato, E. P.; George, W. L. y Finegold, S. M.: Genus *Clostridium*, Prazmowski, 1880. En: Sneath, P. H. A. Ed. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Vol.2. William & Wilkins. Baltimore; 1986, p. 1141-1203.
9. Douglas, C. W. I. y Bisset, K. A.: Development of concentric zones in the *Proteus* swarm colony. *J. Med. Microbiol.* 1976; 9: 497-500.

10. Douglas, C. W. I.: Measurement of *Proteus* cell motility during swarming. *J. Med. Microbiol.* 1979; 12: 195-199.
11. Henrichsen, J.: Twitching motility. *Ann. Rev. Microbiol.* 1983; 37: 81-93.
12. Henrichsen, J.: Bacterial surface translocation: a survey and a classification. *Bacteriol. Rev.* 1972; 36: 478-503.
13. Jin, T. y Murray, R. G. E.: Further studies of swarmer cell differentiation of *Proteus mirabilis* PM23: A requirement for iron and zinc. *Can. J. Microbiol.* 1988; 34:588-593.
14. Larsen, J. L.; Farid, A. F. y Dalsgaard, I.: A *comprehensive* study of environmental and human pathogenic *Vibrio alginolyticus* strains. *Zbl. Bakt. Hyg.* 1981; 213-222.
15. Palleroni, N. J.; Doudoroff, M.; Stainer, R. Y.; Solanes R. E. y Mandel, M.: Taxonomy of the aerobic pseudomonads: The properties of the *Pseudomonas stutzeri* group. *J. Gen. Microbiol.* 1970; 60: 215-231.
16. Pazin, G. J. y Braude, A. I.: Immobilizing antibodies in pyelonephritis. *J. Immunol.* 1969; 102: 454-465.
17. Shapiro, J. A.: Multicellular behavior of bacteria. *ASM News* 1991; 57: 247-253.
18. Shinoda, S. y Okamoto, K.: Formation and function of *Vibrio parahaemolyticus* lateral flagella. *J. Bacteriol.* 1977; 129:1266-1271.
19. Sneath, P. H. A.: The change from polar to peritrichous flagellation *Chromobacterium* spp. *J. Gen. Microbiol.* 1956; 15: 99-105.
20. Stahl, S.J.; Stewart, K. R. y Williams, F. D.: Extracellular slime associated with *Proteus mirabilis* during swarming. *J. Bacteriol.* 1983; 154: 930-937.
21. Williams, K. y Willis. A. T.: A method of forming surface viable count with *Clostridium tetani*. *J. Microbiol.* 1970; 3:639-642.
22. Williams, F. D.; Anderson, D. M., Hoffman, P. S.; Schwarzhoff, R. H. y Leonard, S.: Evidence against the involvement of chemotaxis in swarming of *Proteus mirabilis*. *J. Bacteriol.* 1976; 127: 237-248.
23. Williams, F. D. y Schwarzhoff, R. H.: Nature of the swarming phenomenon in *Proteus*. *Ann. Rev. Microbiol.* 1978; 32: 101-122.

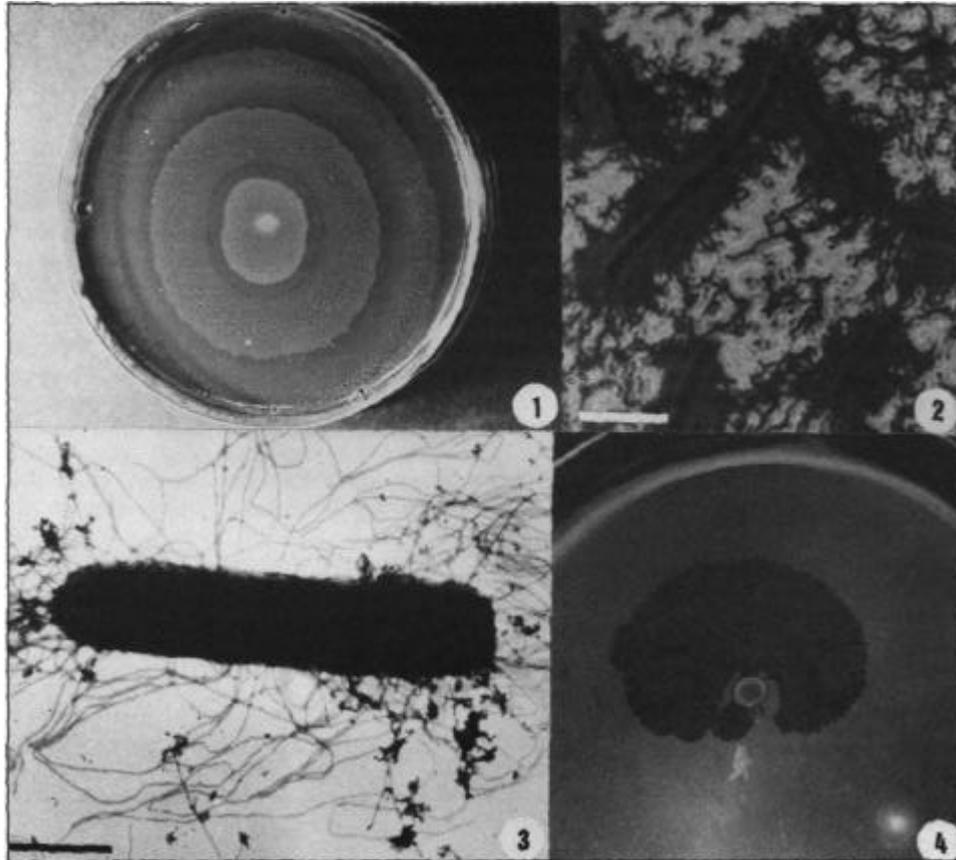


Figura 1. *Proteus mirabilis* inoculado en el centro de una placa de agar sangre e incubada 18 horas a 35°C. Se aprecia el crecimiento concéntrico o en terrazas, característico de esta bacteria.

Figura 2. *P. mirabilis*. Fotomicrografía, de una tinción de flagelos en la que se aprecian las formas filamentosas hiperflageladas. La cantidad de flagelos exhibidos por cada bacilo es tal que les brinda un aspecto de plumas. (Barra = 10 µm).

Figura 3. *P. mirabilis*. Electromicrografía de transmisión, tinción negativa de un bacilo corto mostrando los abundantes flagelos; posiblemente durante la preparación de las rejillas se desprendió una buena proporción de los flagelos. (Barra = 1 µm).

Figura 4. *Clostridium* sp. inoculado en el centro de una placa de agar sangre incubada en anaerobiosis, durante 48 horas a 35°C. (Ver descripción en el texto).