



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

LICENCIATURA EN BIOMEDICINA
EJE TERMINAL DE MICROBIOLOGÍA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

TESIS PROFESIONAL

***Mecanismos de ácido-tolerancia bacterianos en condiciones de
estrés***

QUE PARA OPTAR EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOMEDICINA

PRESENTA

Ivan Valentín Aguilar

DIRECTOR DE TESIS:

D.C Marcos Flores Encarnación

Puebla, Pue. 2022



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA

LICENCIATURA EN BIOMEDICINA
EJE TERMINAL DE MICROBIOLOGÍA
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

TESIS PROFESIONAL

***Mecanismos de ácido-tolerancia bacterianos en condiciones de
estrés***

QUE PARA OPTAR EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOMEDICINA

PRESENTA

Ivan Valentín Aguilar

DIRECTOR DE TESIS:

D.C Marcos Flores Encarnación

Puebla, Pue. 2022

AGRADECIMIENTOS

INDICE

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
3. JUSTIFICACIÓN.....	3
4. DESARROLLO.....	4
4.1 La ácido- tolerancia	4
4.2 <i>Rhizobium</i>	5
4.2.1 <i>Rhizobium</i> y la ácido-tolerancia.....	5
4.2.2 Producción de Lys-PG (lisilfosfatidilglicerol) mediante el factor de resistencia RtMrpF.....	6
4.2.3 Resistencia relacionados con la producción de EPS (exopolisacáridos).....	8
4.3 <i>Enterococcus</i>	10
4.3.1 <i>Enterococcus</i> y la ácido-tolerancia.....	10
4.3.2 Mecanismos de ácido-tolerancia en <i>Enterococcus hirae</i> ...	11
4.4 <i>Salmonella</i>	13
4.4.1 <i>Salmonella</i> y la ácido-tolerancia	13
4.4.2 Alteraciones en la composición de la membrana bacteriana	14
4.4.3 Degradación de la lisina a cadaverina	14
4.4.4 Otros mecanismos de ácido-tolerancia en <i>Salmonella</i>	15
4.5 <i>Escherichia coli</i>	16
4.5.1 <i>Escherichia coli</i> y la ácido-tolerancia.....	16
4.5.2 Mecanismos de ácido-tolerancia en <i>Escherichia coli</i>	16
4.6 <i>Acetobacter</i>	17
4.6.1 <i>Acetobacter</i> y la ácido-tolerancia.....	17
4.6.2 Proteínas transportadoras.....	19
4.6.3 Fosfatidilcolina (PC)	19
4.6.4 <i>Fuerza motriz</i>	20
4.7 <i>Helicobacter pylori</i>	21
4.7.1 <i>Helicobacter pylori</i> y la ácido-tolerancia.....	21

4.7.2 Transporte de níquel y el papel de la ureasa.....	22
4.7.3 Ácido resistencia a la mucosa gástrica.....	25
4.8 <i>Vibrio cholerae</i>.....	27
4.8.1 <i>Vibrio cholerae</i> y la ácido-tolerancia.....	27
4.8.2 Proteína quitinasa.....	27
5. PERSPECTIVAS.....	30
6. CONCLUSIÓN.....	31
7. BIBLIOGRAFIA.....	32

1. RESUMEN

La tolerancia a pH ácido es una adaptación de las células que han sido expuestas a una disminución gradual del pH ambiental y han logrado sobrevivir ante el estrés letal, y posteriormente crecer en el medio. De ahí la importancia de entender la influencia del medio ambiente sobre los microorganismos, ya que permite explicar cómo se distribuyen, se controlan y se reproducen las bacterias. Existen mecanismos moleculares que son utilizados por bacterias para sobrevivir a bajos valores de pH (del medio ambiente y en respuesta al metabolismo), operando de formas diferentes. Uno de los mecanismos más comunes de ácido-tolerancia corresponde a la modificación de la composición de los ácidos grasos en la membrana bacteriana, presente en *Rhizobium*, reportando casos donde el crecimiento fue óptimo a pH 5 y 5.5. Sin embargo, existen otros mecanismos de ácido-tolerancia que se han descrito en distintas bacterias, como la extrusión de protones en *Acetobacter*, la síntesis de proteínas en *Vibrio cholerae*, la acumulación de moléculas fuera de la célula en *Enterococcus* y *Helicobacter pylori*, la producción de proteínas de adhesión en *Vibrio cholerae*, entre otros mecanismos que ofrecen protección frente al estrés ácido. En virtud de lo anterior, es necesario seguir estudiando nuevos mecanismos bacterianos de ácido-tolerancia que puedan demostrar la diversidad fisiológica de las bacterias para su supervivencia en medios ácidos.

2. INTRODUCCIÓN

Impulsar el metabolismo celular es el trabajo de los componentes moleculares, que junto a las vías catabólicas y anabólicas, promueven mecanismos energéticos para conformar un crecimiento y desarrollo bacteriano competente (**Passalacqua et al., 2016**). Dichos procesos se adaptan y evolucionan a los entornos del hospedero, aprovechando las condiciones que estos medios, impulsando la degradación y síntesis de diversas moléculas, estos procesos están ligados al funcionamiento de la célula generando compuestos esenciales para un óptimo funcionamiento, los cuales juegan un papel fundamental en la infraestructura metabólica de la célula (**Birsoy et al., 2015**). El pH intracelular bacteriano tiene una gran importancia en el metabolismo celular, al determinar la actividad de los sistemas enzimáticos y modular la cinética de transporte de nutrientes y metabolitos. Todos los organismos vivos se desarrollan a un pH óptimo de funcionamiento. En el caso de la mayoría de las células del ser humano el pH fisiológico es de 7.5 (**Mir B et al., 2017**). Las bacterias son ejemplos de organismos muy adaptables a los diferentes entornos del medio ambiente. Muchas de esas bacterias están asociadas al ser humano y crecen a valores de pH cercanos a la neutralidad (**Wang S et al., 2020**). Sin embargo, hay bacterias como es el caso de *Helicobacter pylori* que es capaz de crecer en ambientes tan ácidos como son las secreciones gástricas (**Benoit et al., 2013**). Otro ejemplo lo tenemos en las bacterias ácido-acéticas que se desarrollan en medio del vinagre, o las bacterias lácticas útiles en la producción de alimentos fermentados (**Nakano and Ebisuya., 2016**). La supervivencia en medios ácidos depende de diferentes mecanismos fisiológicos que han sido estudiados en las bacterias. En este trabajo se presentan algunos mecanismos de ácido-tolerancia que utilizan diferentes bacterias para poder desarrollarse en ambientes ácidos.

3. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se centra en los mecanismos de ácido-tolerancia bacterianos y como las respuestas ante dichas condiciones estresantes desarrollarían la supervivencia, proliferación y capacidad de crecimiento de diversas bacterias. El comprender y conocer los diversos mecanismos de ácido-tolerancia guiaría a un entendimiento del desarrollado de ciertas estrategias que les permiten regular su pH, por medio de sistemas complejos y, como consecuencia, sufrir cambios que les confieren una diversidad fisiológica para sobrevivir en condiciones ácidas.

4. DESARROLLO

4.1 La ácido-tolerancia

Se sabe que los mecanismos de ácido-tolerancia bacteriana a condiciones de estrés varían dependiendo de los factores dónde prevalecen las células, dicha capacidad de tolerancia es necesaria para las bacterias, así logrado sobrevivir ante el estrés letal, y posteriormente crecer en el medio (**Álvarez-Ordóñez et al., 2012**). Existen mecanismos moleculares que son utilizados por las bacterias para sobrevivir bajos valores de pH y estos operan de formas diferentes (**Mubarak y Soraya, 2018**). A continuación, se presentan algunos de los mecanismos más presentes en las bacterias ácido-tolerancia. Uno de los mecanismos más comunes de pH-tolerancia corresponde a la presencia de una barrera física en las células, la cual está representada por la pared celular y la membrana citoplasmática. Estos elementos son la primera barrera de defensa contra las condiciones ambientales estresantes que enfrentan las bacterias, como pueden ser las bajas o altas temperaturas, la presión osmótica, la presencia de oxidantes, la existencia de sustancias tóxicas de origen microbiano y en nuestro caso, los valores de pH extremos (**Krulwich T et al., 2011**). Se ha observado en bacterias que la tolerancia a pH ácidos se logra cambiando la composición de la membrana citoplasmática, cambios morfológicos que otorgan rigidez ante un ambiente ácido (**Álvarez-Ordóñez et al., 2012, Sharma., 2022**).

Otro de los mecanismos que han sido descritos de pH-tolerancia corresponde a la presencia de bombas que extruyen protones con la capacidad de retener protones fuera de la célula, bloqueando la entrada de protones en la célula durante un evento de choque ácido, esta característica es propia de algunas bacterias, como *Enterococcus*; este mecanismo es clave en la regulación del estrés ácido al excluir los protones de entornos de pH externo bajo (**Lei Z et al., 2011, Gaca y Lemos., 2019, Amajioyu., 2021**). También un mecanismo es el recubrimiento de las sustancias poliméricas extracelulares (EPS), que puede ser un protector en las bacterias que les permite soportar ambientes extremos, como las

bacterias *Helicobacter pylori* que soporta al ácido del estómago; sin embargo, algunas cepas estarían mejor recubiertas de sustancias poliméricas extracelulares que otras (**Paitán et al., 2019**). Debido a los diversos y diferentes mecanismos bacterianos de ácido-tolerancia que presentan las bacterias, y a la supervivencia ligada a estos mecanismos fisiológicos, es de gran importancia establecer las posibles condiciones que una gran mayoría de bacterias están expuestas y el estrés pudiera habilitar a estos microorganismos a tolerar condiciones más ácidas, tales como el pH del estómago. Por lo que se debe de tomar en cuenta esta capacidad de la bacteria para establecer las medidas pertinentes a fin de lograr su regulación o eliminación.

4.2 Rhizobium

4.2.1 Rhizobium y la ácido-tolerancia

Los Rizobios se encuentra generalmente en suelos alcalinos y se caracteriza por fijar Nitrógeno (**Ibarra et al., 2018, Fonseca et al., 2022**), son bacterias Gram-negativa, con un diámetro de 2-4 micras y crece en ambientes aeróbicos, sin embargo, se diferencian en que utilizan fuentes de carbono muy variadas (**Ibarra et al., 2018, Santillana et al., 2021**). La acidez del suelo es un factor importante en el crecimiento y supervivencia de los rizobios, siendo capaces de crecer en suelos o medios ácidos (**Amajoyu., 2021**). Se ha estudiado las tolerancia a pH ácidos en diferentes bacterias, acondicionadas a la acidez en los suelos, cuya experimentación ha demostrado en estas bacterias son tolerantes a rangos de pH que van desde 3.5 hasta 7.8 (**Hernández-Forte et al., 2017, Catellani et al., 2021**). Se han reportado casos donde el crecimiento de *Rhizobium* es muy bueno a pH 6.0 y 7.0, con crecimiento medio a pH 5 y 5.5 y crecimiento pobre a pH 7.5 y 8 (**Smriti et al., 2014, Sharma., 2022**). Los rizobios generalmente tienen un rango de pH de 6,5 a 7,5 para un crecimiento óptimo y tolerancia al pH; en condiciones de vida libre, y se ha descubierto que algunas especies de rizobios, como *Rhizobium tropici*, se adaptan a las condiciones salinas mediante la modificación de su membrana externa bacteriana (**Keneni et al., 2010, Lei Z et al., 2011, Song et al., 2022**).

4.2.2 Producción de Lys-PG (lisilfosfatidilgliceroles) mediante el factor de resistencia RtMprF

Un mecanismo peculiar de ácido-tolerancia en *Rhizobium*, en concreto presente en *Rhizobium tropici*, es la producción de ácidos grasos lisil-fosfatidilgliceroles (Lys-PG/LPG), estos son un tipo específico de ácidos grasos estructurados en la membrana citoplasmática bacteriana en varias bacterias grampositivas patógenas, como en el caso de *Staphylococcus aureus*, y en ciertos casos presentes en algunas bacterias gram-negativas (**Amajioyu., 2021, Catellani et al., 2021**). Los Lys-PG tienen una diversa función de respuesta al estrés, resistencia ante antibióticos y a péptidos antimicrobianos catiónicos, sin embargo, se ha observado como en la bacteria *R. tropici* los lisil-fosfatidilgliceroles tienen funciones de ácido-tolerancia, gracias a una disminución de la carga neta otorgando una mayor resistencia al pH bajo (**Fig.1**). (**Boldrin et al., 2022**). Estos ácidos grasos son sintetizados gracias a una proteína transmembranal denominado factor de resistencia a múltiples péptidos (MprF) (**Song et al., 2022, Simcock et al., 2022**). La función de la proteína MprFs posibilita a las bacterias a adquirir resistencia al estrés ambiental que las bacterias pudieran hacer frente; esta enzima bifuncional está constituida por dos dominios transmembranales, una sintetasa que cataliza la síntesis de los fosfolípidos y una flipasa/translocasa, expuesta a ambos lados de la membrana, que ayuda a mover las moléculas de fosfolípidos junto a una lisina hacia las láminas externas de la membrana bacteriana (**Amajioyu., 2021**) (**Fig.1**). La forma en que MprF es creada en *R. tropici* (RtMprF) es gracias a la inducción por pH bajo de genes denominados *lpiA*, capaz de codificar homólogos de MprF presentes en otras bacterias (**Simcock et al., 2022**), así RtMprF es capaz de sintetizar a los Lys-PG en condiciones ácidas (**Fonseca et al., 2022, Jiang et al., 2022**). El dominio sintasa, que está expuesta al citosol, incorpora un aminoácido lisina en los fosfolípidos gracias a la reacción entre el lisil-tRNA y PG, neutralizando la carga negativa de PG gracias al aminoácido, por consiguiente el dominio flipasa transloca el lípido sintetizado junto con la lisina a la capa externa de la membrana, lo que reduce la carga negativa general de la membrana debido a su carga

superficial positiva con perfil Lys-PG y, por lo tanto, dotando a *R. tropici* como ácido-tolerante (**Fig.1**) (**Boldrin et al., 2022, Jiang et al., 2022, Schultz et al., 2022**). Se ha experimentado con mutantes de *lpiA*, provocando un defecto en la biosíntesis de Lys-PG volviendo altamente susceptible a la bacteria en pH bajos, recobrando la actividad con la inserción de copias funcionales del gen *lpiA*, demostrando que esta clase de ácido grasos depende de *lpiA*, y por consiguiente de la formación de MprF, también se ha explorado en *R. tropici* la expresión de MprF en pH neutros, observándose expresado solo bajo condiciones ácidas y en presencia de lisina, a diferencia de algunas bacterias gram-positivas como *S. aureus* que presentan este factor MprF en presencia de algunos antibióticos como la meticilina (**Fig.1**) (**Simcock et al., 2022, Boldrin et al., 2022, Jiang et al., 2022**). Sin embargo, la composición lipídica de la membrana de *R. tropici* está conformada alrededor del 80% por lípidos zwitteriónicos, un 19 % son lípidos aniónicos y el 1% por LPG (lípidos catiónicos), por lo que resulta interesante como su introducción en la membrana cambia drásticamente la carga global de toda la membrana, desempeñando un papel importante como mecanismo de ácido-tolerancia (**Fig.1**). (**Sohlenkamp C et al., 2007, Catellani et al., 2021, Song et al., 2022**).

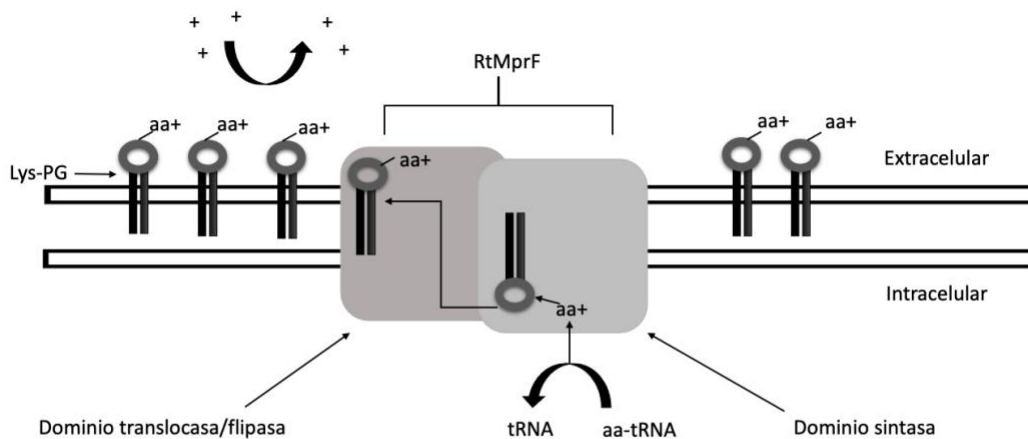


Figura 1: Síntesis y translocación de los ácidos grasos Lys-PG. La sintasa junto a Lys-tRNA, cargan positivamente al PG por medio del aminoácido lisina. La flipasa/translocasa transloca el lípido sintetizado a la capa externa de la membrana, cargando la superficie positivamente con perfil Lys-PG.

Los ambientes en los que *R. tropici* está acostumbrado a desarrollarse pueden llegar a inducir en la bacteria mecanismos de ácido-tolerancia en la bacteria; procesos como la simbiosis de la célula con los nódulos de algunas leguminosas, como el frijol, puede llevar a la bacteria a un estadio ácido, un ejemplo de esto es la formación de un simbiosoma dentro de las células vegetales del frijol (últimas etapas de la simbiosis), ya que dentro de estas células la bacteria está en contacto con un citoplasma ácido, mucho más ácido que el citosol de otras plantas, por lo que la exposición a este medio de pH bajo induce la activación de mecanismos de ácido-tolerancia en *R. tropici* (**Ibarra et al., 2018, Santillana et al., 2021, Fonseca et al., 2022**).

4.2.3 Resistencia relacionados con la producción de EPS (exopolisacáridos)

Se ha mencionado un mecanismo de ácido-tolerancia poco conocido en *Rhizobium* relacionado con la producción de EPS (exopolisacáridos), observándose un aumento de la producción de EPS directamente relacionado con una respuesta adaptativa a condiciones ambientales estresantes para el crecimiento microbiano, siendo más tolerantes a las condiciones ácidas (**Ferreira et al., 2012, Santillana et al., 2021**) Las condiciones fundamentales para una producción de EPS comprenden medios oxigenados, fuente de nitrógeno, flujo constante de nutrientes, pH y temperatura óptima para la síntesis de EPS. Sin embargo, su estudio tiene ciertas limitaciones, como la cantidad de biopolímeros producidos por estos microorganismos, que dependerá de la especie utilizada, la cepa y las condiciones que se empleen para su desarrollo de forma experimental (**Abessi et al., 2018**).

El crecimiento de *Rhizobium* está asociado a la cantidad de proteínas que tenga disponible, estas proteínas son el conjunto de aminoácidos o polipéptidos que se manifiestan en su desarrollo, produciendo EPS a pH diferentes (rango de 3.0 a 7.0), con disponibilidad de agua y temperaturas en un rango de 28°C a 32°C (**Abessi et al., 2018**). Algunos sustratos utilizados por la bacteria *Rhizobium tropici* para sintetizar EPS son los hidrocarburos a pH 5.0, resultando en exopolisacáridos con

características que confieren al medio una mayor viscosidad y alta flexibilidad (Luque, Franco y Macedo, 2014, Abessi *et al.*, 2018). Estas características por parte de EPS producidos por pH bajo se han podido observar en otras investigaciones (Santillana *et al.*, 2021).

Los exopolisacáridos sintetizados por parte de *Rhizobium* son importantes en el metabolismo normal de la bacteria, influyendo directamente en el crecimiento bacteriano y su tasa de supervivencia, ejemplo es *Rhizobium L.* que secreta exopolisacáridos para adherirse a las plantas leguminosas infectando a las plantas huésped, sin embargo a exposiciones de estrés ácido son capaces de generar distintos EPS para resistir los cambios abruptos en el ambiente, donde el microorganismo pueda tolerar un pH logrando reproducirse y estresarse para que genere el biopolímero (Ferreira *et al.*, 2012, Nhuyen *et al.*, 2022). Algunos datos muestran una producción de EPS ante la disminución del pH, presentando mejor adaptación en pH de 6.2, teniendo las variables de pH y agitación como mayor influencia en el cultivo de estas bacterias, determinantes a fin de la producción de los exopolisacáridos ácido-resistentes (Staudt.,, *et al.* 2012). En un estudio con el género *Rhizobium*, después de 120 h de cultivo, el pH de los cultivos se redujo en comparación con el pH inicial para todas las cepas, sugiriendo que la tolerancia a pH bajos no está relacionada con la liberación de compuestos que alcalinizan el medio sino con la presencia de factores que protegen a las células de altas concentraciones de protones extracelulares (Abessi *et al.*, 2018, Nhuyen *et al.*, 2022). Analizando estudios previos se pudo observar crecimiento lento a pH 5.0 se produjeron EPS, a diferencia de cepas que no mostraron un cambio en su crecimiento a mismo pH no formaron de EPS, lo que indica un cambio en el metabolismo por presencia de pH bajo induce la síntesis de EPS (Tavernier., *et al.* 1997, Staudt.,, *et al.* 2012). Los exopolisacáridos ácido-resistentes se consideran metabolitos secundarios debido a que se producen en condiciones desfavorables para el crecimiento y su acumulación se ve aumentada durante la fase estacionaria después del crecimiento (Nhuyen *et al.*, 2022). Esto contrasta con trabajos previos donde mencionan que los valores extremos de pH resultaron en menores

rendimientos de EPS, especialmente en el rango ácido (**Santillana et al., 2021, Nhuyen et al., 2022**). Sin embargo, se ha podido observar cómo en valores extremos de pH bajo se siguen excretando exopolisacáridos como mecanismo de ácido-tolerancia (**Schultz et al., 2022, Sharma., 2022**).

Se necesitan más investigaciones que ofrezcan un panorama de cómo se constituyen las maquinarias moleculares para la síntesis de EPS, debido a que cada relación simbiótica debe ser cuidadosamente evaluada, existiendo distintos polisacáridos necesarios para el inicio de la infección, la extensión del hilo de infección y para la resistencia al ácido (**Santillana et al., 2021**).

4.3 Enterococcus

4.3.1 Enterococcus y la ácido-tolerancia

Los enterococos consisten en microorganismos que se encuentran comúnmente en el tracto gastrointestinal de individuos y animales sanos, sin embargo, se ha convertido en una causa importante de infecciones hospitalarias, incluidas bacteriemias, infecciones del tracto urinario e incluso endocarditis (**Morandi et al., 2005, Ших EB et al., 2021**). *Enterococcus faecium* representa el enterococo más importante en la fermentación y deterioro de alimentos, y también se ha informado su uso como probiótico (**Fonseca et al., 2022**). Los enterococos son muy tolerantes a los ácidos y pueden acidificar el medio de cultivo donde se desarrollan (**Gaca y Lemos., 2019**). Estas bacterias toleran los ambientes ácidos y se adapta a los cambios de pH, para mantener el equilibrio antibacteriano (**Mubarak y Soraya., 2018, Quintela et al., 2022**). Se conoce como algunas cepas inhibieron el crecimiento de bacterias patogénicas, capaces de sobrevivir hasta un pH de 3.0 en presencia de sales biliares, pancreatina y pepsina (**Fonseca et al., 2022**). Las cepas probióticas de *Enterococcus faecium* contribuyen a la preservación y el crecimiento de especies endógenas como los lactobacilos. La ingesta adicional, así como la estimulación del crecimiento y la actividad de las cepas probióticas en el intestino, se pueden considerar como un enfoque potencial para combatir los patógenos

intestinales transmitidos por los alimentos, debido a la producción de una serie de metabolitos beneficiosos, incluidos bacteriocinas, que incluyen lantocinas y enterocinas **(Song et al., 2022)**.

Uno de los mecanismos que posee el género *Enterococcus* es la formación de la biopelícula que contribuye la adherencia a las superficies y permite el desarrollo de las bacterias para sobrevivir en entornos con estrés ambiental **(Mubarak y Soraya., 2018)**. Se conoce una cepa ácida láctica (M13a) que fue identificada como *Enterococcus faecium*, que se utiliza como aditivo probiótico en la flora intestinal animal de producción de alimentos, tiene la capacidad de fijarse en la pared intestinal con alta velocidad de multiplicación, gracias a su afinidad por el medio **(Castillo et al., 2018)**. Los enterococos tienen una capacidad bastante alta para adherirse, lo que se explica por la presencia de proteínas-adhesinas especiales, ácidos teicoicos en la pared celular **(Simcock et al., 2022, Quintela et al., 2022)**. Se ha demostrado que la bacteria *Enterococcus faecalis* tolera ambientes ácidos y se adapta a los cambios de pH, en condiciones de pH 2 y de pH 3 a 7, ya que poseen capacidades ácido-tolerantes **(Castillo et al., 2018, Ших EB et al., 2021)**. *E. faecalis* tiene un buen crecimiento en extracto de cal con exposición prolongada, mostrando respuesta de tolerancia a pH de 2.8, esto es posible por la producción de ácidos lipoteicoicos que contribuyen a la formación de biopelículas, un mecanismo de resistencia basado en la comunidad bacteriana desarrollado para sobrevivir en ambientes extremadamente desfavorables **(Mubarak y Soraya., 2018, Ali et al., 2022)**.

4.3.2 Mecanismos de ácido-tolerancia en *Enterococcus hirae*

Se conoce que variaciones de pH ácido en el espacio citoplásmico de *Enterococcus hirae* refleja la presencia de mecanismos subyacentes que controlan la permeabilidad celular, como la extrusión de protones que se lleva a cabo mediante la F1Fo-ATPasa, enzima capaz de hidrolizar el ATP y bombear protones fuera del medio intracelular aumentando enormemente en condiciones de pH bajo, indicador importante al momento de la supervivencia de *E. hirae* a pH bajo **(Fig. 2) (Gaca y**

Lemos., 2019). Otro mecanismo de *E. hirae* es el tampón del entorno citoplásmico de tolerancia al ácido que se ha caracterizado en *E. hirae*, donde la eliminación de agmatina por medio de las vías de deiminasa conduce a la generación de amoníaco para contrarrestar la acidificación citoplasmática. La agmatina entra dentro de la célula a partir de un antiportador de agmatina/putrescina (AguD), aquí la agmatina intracelular se convierte/degrada en carbamoil-putrescina, liberando NH₃ que puede unirse a un protón produciendo NH₄⁺ elevando el pH citoplasmático, esta reacción es catalizada por la agmatina deiminasa (AguA) (**Suárez et al., 2013, Akasaka N y Fujiwara S., 2020, Ali et al., 2022**). El siguiente paso, catalizado por la putrescina transcarbamilasa (AguB), es la fosforólisis de la carbamoilputrescina, produciendo carbamoil-fosfato más putrescina. Finalmente, un carbamato quinasa específica (AguC) cataliza la transferencia del fosfato de alta energía en carbamoil-fosfato a ADP, produciendo ATP, CO₂ y NH₃ que puede amortiguar aún más el pH citoplasmático (**Fig. 2**) (**Suárez et al., 2013, Gaca y Lemos., 2019**). También se cree que la vía de la tirosina descarboxilasa contribuye a la tolerancia a los ácidos, ya que las vías de descarboxilasa se inducen a pH bajo. Estos sistemas involucran la descarboxilación del aminoácido a su amina análoga y luego el intercambio de la amina por su aminoácido precursor. Este proceso consume un protón, prestando a su capacidad de amortiguamiento citoplasmático. En *E. faecium* ejerce un efecto protector contra el desafío ácido agudo a través de la neutralización del pH externo y el mantenimiento del pH intracelular (**Fig. 2**) (**Gaca y Lemos., 2019, Ших EB et al., 2021**).

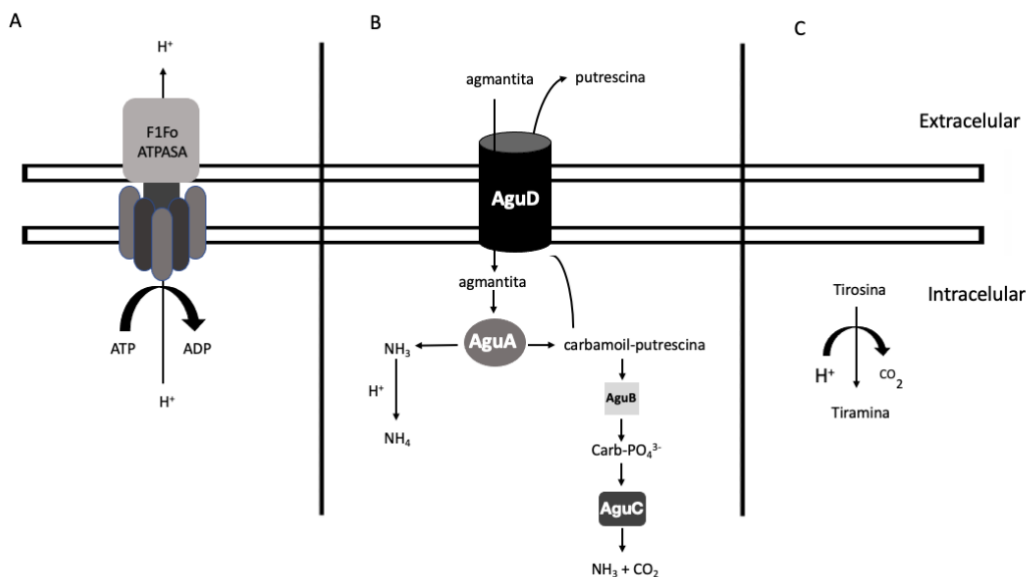


Figura 2. Mecanismos de ácido-tolerancia de *Enterococcus hirae*. **A:** extrusión de protones mediante la F1Fo-ATPasa, hidroliza el ATP y bombear protones fuera del medio intracelular. **B:** Eliminación de agmatina por medio de las vías de deiminasa (AguD, AguA, AguB, AguC) generando amoníaco para contrarrestar la acidificación citoplasmática. **C:** Descarboxilación del aminoácido tirosina, consumiendo un protón y produciendo CO₂.

4.4 *Salmonella*

4.4.1 *Salmonella* y la ácido-tolerancia

El reservorio más común de *Salmonella* spp. es el tracto intestinal de animales domésticos y salvajes, y se ha detectado con mayor frecuencia en la carne fresca de pollo, pavo, cerdo y en huevos de animales de corral, ejemplo es la bacteria *Salmonella Typhimurium* (Chaudhuri et al., 2018). *Salmonella* spp. se enfrenta constantemente a diferentes condiciones de estrés, tanto en sus nichos ambientales como en el tracto gastrointestinal de sus huéspedes, donde se ha informado que la adaptación ácida ha protegido a las células de *Salmonella*, como a *Salmonella typhimurium* (Ryu y Beuchat., 1998, Liang et al., 2022). *S. Typhimurium* se asocia principalmente en humanos debido al consumo de carne de cerdo, aves de corral y bovino contaminada (Álvarez-Ordóñez et al., 2012). *S. Typhimurium* posee un mecanismo de resistencia a medios ácidos inducida por pH bajo, mostrando una adaptación al ser cultivada en fase logarítmica a pH 7.0 y posteriormente inducida a pH ácido de 5.0 (ajustado con ácido clorhídrico), llegando a desarrollar procedimientos adaptativos mejorando la supervivencia bacteriana por la baja del pH (Álvarez-Ordóñez et al., 2012). En otras ocasiones se ha logrado observar como la adaptación ácida de *S. Typhimurium* a largo plazo se obtuvo mediante el crecimiento bacteriano hasta una fase estacionaria, y la ácido-tolerancia mostrando un aumento a medida que disminuía el pH (Kieboom y Abee., 2006, Álvarez-Ordóñez et al., 2012).

4.4.2 Alteraciones en la composición de la membrana bacteriana

Esta bacteria utiliza la inducción de alteraciones en la composición de la membrana para soportar un pH bajo. Las células de *S. Typhimurium* expuestas a pH ácido experimentan una adaptación morfológica de la membrana caracterizada por una disminución en la relación de los ácidos grasos de la membrana insaturados a saturados (**Álvarez-Ordóñez et al., 2012**). El paso de los ácidos grasos insaturados, que confieren fluidez a la membrana, a ácidos grasos saturados disminuyen la temperatura del medio, que a su vez vuelve más rígida a la membrana empaquetando las colas hidrofóbicas de los fosfolípidos e impide sus movimientos (**Fonseca et al., 2022**), que en general muestra una mayor capacidad para sobrevivir a los tratamientos letales con ácido y calor (**Brenneman et al. 2013**). La formación de ácidos grasos cíclicos en la fase estacionaria en la membrana es un factor importante que protege a *S. Typhimurium* de exposiciones letales a ácidos, posiblemente por el aumento a la estabilidad de las propiedades estructurales y dinámicas de las membranas biológicas, y que restringe la movilidad en general y el desorden de la membrana, disminuyendo así la fluidez de la membrana (**Álvarez-Ordóñez et al., 2013, Liang et al., 2022**).

4.4.3 Degradación de la lisina a cadaverina

Se ha comentado como *S. Typhimurium* en ambientes de pH bajo realiza procesos en conjunto con enzimas para soportar medios ácidos, debido a un sistema de lisina descarboxilasa y arginina descarboxilasa inducibles que mantienen del pH intracelular (**Álvarez-Ordóñez et al., 2012, De F Agrarias., 2022**). Este sistema está compuesto por un regulador transcripcional del operón cadBA (CadC), una enzima lisina descarboxilasa (CadA), actuando como un sistema cooperador, y un anti portador lisina-cadaverina (CadB), todo este sistema contribuye al mantenimiento del pH intracelular y al desarrollo de una respuesta de ácido-tolerancia en *S. Typhimurium* (**Viala et al., 2011**). En condiciones de pH externo bajo en presencia de lisina, el CadC actúa como sensor de señal y como regulador transcripcional que activa la transcripción del operón cadBA; después de la inducción, la enzima CadA convierte la lisina intracelular en cadaverina con el

consumo de un protón, aumentando así el pH intracelular (**Fig. 3.**) (**Han L et al., 2018**).

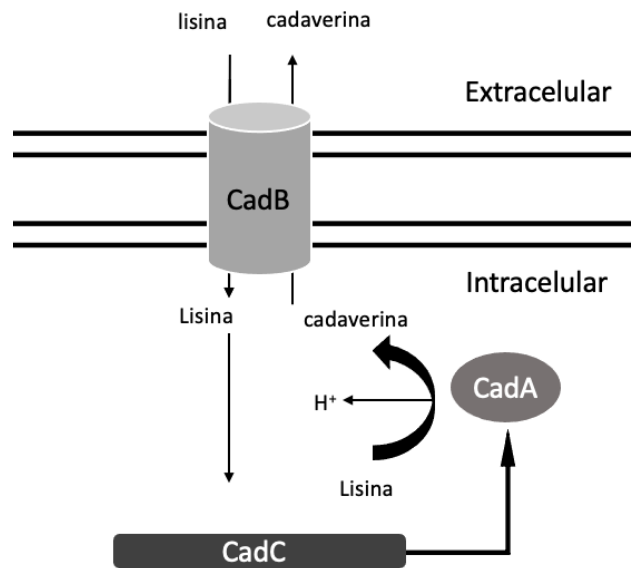


Figura 3. Degradación de la lisina a cadaverina mediante el consumo de un protón, por medio de la enzima lisina descarboxilasa.

4.4.4 Otros mecanismos de ácido-tolerancia en *Salmonella*

Se ha observado como se inducen varios grupos de proteínas de choque ácido (ASP) para prevenir o reparar el daño macromolecular causado por el estrés ácido (**Álvarez-Ordóñez et al., 2013, Liang et al., 2022**). Los ASP son inducidos por diferentes fases del crecimiento de la bacteria (fase logarítmica frente a fase estacionaria) y diferente exposición al estrés ácido (**Álvarez-Ordóñez et al., 2012, Cian et al., 2022**). La existencia de una compleja respuesta bacteriana a las agresiones impuestas por el estrés ácido en *S. Typhimurium* involucran a un gran número de ASP con diferentes funciones celulares, ejemplo es el anclamiento que tienen a péptidos nacientes para dirigir su plegamiento, garantizando su estructura tridimensional y con ello su funcionamiento correcto (**Hu S et al., 2020**).

El factor sigma alternativo *RpoS* ayuda a la supervivencia de *Salmonella* en fase estacionaria como respuesta general al estrés y a pH ácidos (**Brenneman et al. 2013, Hu S et al., 2020**). Este factor *RpoS* está involucrado un mecanismo de ácido-tolerancia en la fase logarítmica inducible por ácido de *S. Typhimurium*, controlando la expresión de al menos 10 ASP que protegen a la célula del estrés ácido y de otras condiciones de estrés (**Álvarez-Ordóñez et al., 2012, Cian et al., 2022**). Otro mecanismo de tolerancia es la proteína Fur, que es inducida a un pH bajo, controlando un subconjunto de ASP que contribuyen mecanismos en fase logarítmica de *S. Typhimurium*, proporcionando protección contra el estrés por ácidos gastrointestinales (**Brenneman et al. 2013, Cian et al., 2022**). Se ha demostrado que un pH ácido moderado promueve la transcripción de varios genes regulados por el sistema de dos componentes PhoPQ involucrados en la fase logarítmica de ATR de *S. Typhimurium*, confiriendo protección al estrés ácido inorgánico por la inducción de cuatro ASP (**Álvarez-Ordóñez et al., 2012, Hu S et al., 2020**).

4.5 *Escherichia coli*

4.5.1 *Escherichia coli* y la ácido-tolerancia

Escherichia coli es una bacteria entérica capaz de causar enfermedades en el tracto intestinal de los mamíferos, incluido el humano (**Kanjee U y Houry., 2013, Yu L et al., 2021**). Esta bacteria posee capacidades para sobrevivir a un estrés de pH de 2.0 durante varias horas, con una gran capacidad de este organismo para resistir condiciones ácidas gracias a diversos mecanismos presentes en la bacteria (**Merchel et al., 2021, Song et al., 2022**).

4.5.2 Mecanismos de ácido-tolerancia en *Escherichia coli*

La bacteria presente en el estómago humano puede sobrellevar un desarrollo extremadamente ácido, a un pH de 1.0 a 3.0, pasando por el intestino delgado con un pH relativamente neutro, sin embargo, la presencia de carbohidratos presentes en los intestinos conduce a la producción de ácidos, como ácidos fórmico, acético,

propiónico y láctico, penetrando la membrana de *E. coli* y provocando estrés ácido para la bacteria (Kanjee U y Houry., 2013, Yu L et al., 2021). En esta situación la membrana externa es la primera barrera de defensa que cuenta *E. coli*, y al mismo tiempo el primer sitio de daño, por lo que un mecanismo presente puede reducir el daño provocado por el estrés ácido (Merchel et al., 2021). *E. coli* es capaz de reducir la concentración de ácidos grasos insaturados y aumentar la concentración de ácidos grasos de ciclopropano por medio de la acción del ciclopropano acil fosfolípido sintasa grasa, resultando en la adición de un grupo metileno a una cola de fosfolípido insaturado (Merchel et al., 2021, Yu L et al., 2021, Song et al., 2022,).

Otro mecanismo de ácido-tolerancia es la obstrucción de protones, esto en *E. coli* gracias al cierre de proteínas porinas de la membrana externa de la bacteria a través de la cadaverina (Kanjee U y Houry., 2013, Song et al., 2022). La cadaverina es el producto de descarboxilación de la lisina descarboxilasas inducibles y constitutivas, durante el estrés ácido, un proceso en conjunto con enzimas para soportar medios ácidos, previamente presentado en *S. Typhimurium* (Álvarez-Ordóñez et al., 2012, De F Agrarias., 2022). En este escenario la lisina descarboxilasa actúa descarboxilando la lisina intracelular, produciendo cadaverina y en el proceso consumiendo un protón, después, la cadaverina protonada es intercambiada por una lisina extracelular mediante un transportador CadB, produciendo un incremento del pH intracelular, por consumo de un protón en el proceso, generando un potencial de membrana, debido a la pérdida neta de cargas positiva (Han L et al., 2018). El sistema también induce cambios en la composición de lípidos disminuyen la fluidez de la membrana, por la actividad de la F0F1-ATPasa, mejorando la homeostasis del pH intracelular, permitiendo a *E. coli* crecer a pH ácido (Xu Y et al., 2020).

4.6 Acetobacter

4.6.1 Acetobacter y la ácido-tolerancia

La bacteria *Acetobacter aceti* es un gram-negativo y un aerobio obligado capaz de producir ácido acético (acetato), que es utilizado para la producción de vinagre debido a su notable capacidad para oxidar el etanol y su alta resistencia al ácido acético **(Nakano y Ebisuya., 2016, Ishii Y et al., 2021)**. La maquinaria que lleva a cabo *Acetobacter aceti* para producir ácido acético es mediante la oxidación de etanol, llevándose a cabo por un complejo de alcohol deshidrogenasa (ADH) unido a membrana, un complejo de aldehído deshidrogenasa (ALDH) unido a membrana y ubiquinol oxidasa **(Hu Y et al., 2022)**. La resistencia al ácido acético es una capacidad crucial que permite a *Acetobacter aceti* producir de forma estable grandes cantidades de este metabolito usando varios mecanismos moleculares, así el pH disminuye a medida que aumenta la concentración de ácido acético dentro y fuera de la célula **(Sakurai et al., 2013, Qui et al., 2021)**.

Se han estudiado genes responsables que confieren resistencia debido a la asimilación del ácido acético, uno de esos genes es el gen *aarA*, que codifica el citrato sintasa que está involucrada en el ciclo TCA **(Francois et al., 2006, Mullins et al., 2008, Qui et al., 2021)**. El ciclo del ácido cítrico ayuda *A. aceti* para la resistencia al ácido acético con el agotamiento del acetato citoplasmático por medio de la oxidación de acetil-CoA a CO₂, una contribución general a la producción de energía para la supervivencia a concentraciones altas de acetato a un pH bajo **(Francois et al., 2006)**. Se ha informado como el citrato sintasa es estable en presencia de ácido **(Qui et al., 2021)**. Parece razonable que las enzimas de las bacterias del ácido acético sean intrínsecamente resistentes a pH bajo (5.8 a 3.9) y se adapten funcionalmente a pH bajo, ya que la concentración de ácido acético aumenta con la progresión de la fermentación del ácido acético, lo que da como resultado una disminución del pH intracelular, por lo que las chaperoninas (inducidas por exposición al ácido acético) presentes en la bacteria protegen a las proteínas contra la desnaturalización, también contribuyendo a la expresión fenotípica de la resistencia al ácido acético **(Ishii Y et al., 2021, Qui et al., 2021)**.

4.6.2 Proteínas transportadoras

En la literatura se han identificado una proteína en respuesta al acetato, una proteína denominada *AatA* (proteína ABC), siendo sensibles a la acumulación de este metabolito, evidenciando su participación en la resistencia (**Bonifer C et al., 2021**). La proteína *AatA* en *A. acetii* se ha denominado como un transportador ABC, ya que está presente en secuencias conservadas que caracterizan proteínas transportadoras ABC. Las proteínas transportadoras ABC, funcionan como un mecanismo impulsado por ATP y el movimiento de sustratos, dichas proteínas están incorporadas en las membranas bacterianas (**Bonifer C et al., 2021, Qui et al., 2021, Hu Y et al., 2022**).

Se ha encontrado que durante la fermentación de ácido acético en *A. acetii* con portaciones de *AatA*, las concentraciones de ácido acético intracelular se mantuvieron a niveles inferiores, debido a que el aumento en la actividad de la enzima citosólica intracelular para asimilar el ácido acético da como resultado la producción de más ATP que se usa para la función del supuesto transportador ABC, apoyando la idea de que *AatA* funciona como exportador de ácido acético y demostrando su papel en la resistencia al ácido acético (**Ishii Y et al., 2021, Qui et al., 2021**). Se cree que la oxidación del etanol está relacionada con la resistencia al ácido acético, ya que el mecanismo relacionado con la oxidación del etanol podría estar relacionado con el supuesto transportador ABC porque tanto la ADH unida a la membrana como la ALDH están involucradas en la respiración. Se ha observado como una reducción del crecimiento en presencia de ácido acético se asoció con la pérdida de la actividad ADH unida a la membrana (**Bonifer C et al., 2021, Hu Y et al., 2022**)

4.6.3 Fosfatidilcolina (PC)

También se ha sugerido que la fosfatidilcolina (PC) está relacionada con la resistencia al ácido acético en *A. acetii*, con base en la observación de que la interrupción del gen que codifica la fosfatidiletanolamina N-metiltransferasa, que cataliza la metilación de la fosfatidiletanolamina a fosfatidilcolina, resultó en una

reducción en el contenido de PC, lo que lleva a un crecimiento lento en presencia de acetato **(Vasilopoulos G et al., 2021, Qui et al., 2021)**.

4.6.4 Fuerza motriz

Un supuesto transportador en *A. acetii* dependiente de la fuerza motriz de protones para la salida de ácido acético protonado, que también puede ser responsable de la resistencia al ácido acético, sin embargo, se ha teorizado como un sistema no dependiente de ATP **(Matsushita et al., 2005, Ishii Y et al., 2021)**. En la literatura se menciona que el paso en *A. acetii* de ácido acético del interior al exterior fue censado por vesículas artificiales de esfero plastos, ya que pudieron absorber específicamente ácido acético en grandes cantidades, demostrando que este flujo dependía del pH, observándose una mayor cantidad de flujo a pH bajo (pH 3-5) **(Bonifer C et al., 2021, Qui et al., 2021)**. En la experimentación se ha comprobado como este supuesto flujo dependiente de la fuerza motriz de protones puede ser responsable de la resistencia a ácido-acético, inhibiendo la captación de ATP usando dicitclohexilcarbodiimida, inhibidor de F₀-ATPasa, así generando un descenso en la actividad de los transportadores ABC, observando una baja en la salida del metabolito, pero la captación de ácido acético en vesículas siendo constante, sin embargo, aún no se ha identificado la maquinaria molecular que exhibe la actividad del transportador **(Bonifer C et al., 2021, Ishii Y et al., 2021)**.

Los resultados sugieren que las células bombean activamente ácido acético que ha penetrado pasivamente en la célula mediante el uso de energía producida por la respiración, esta actividad de extrusión gracias a transportadores dependientes de ATP y bombas de flujo dependiente de la fuerza motriz **(Qui et al., 2021)**.

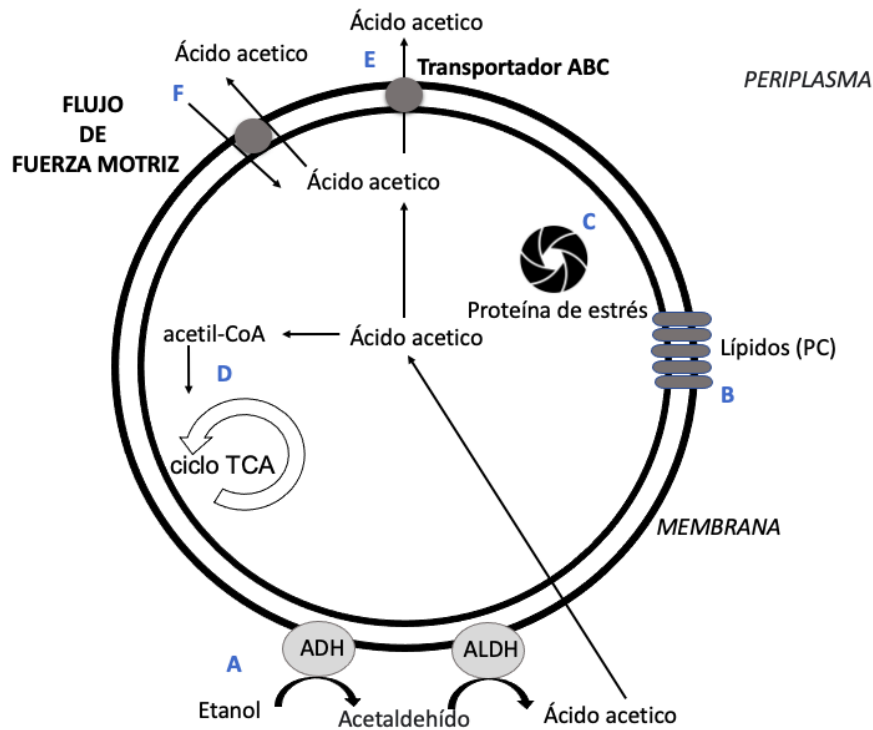


Figura 4. Mecanismos de ácido-tolerancia en *Acetobacter aceti*. **A.** Oxidación del etanol mediante el complejo ADH-ALDH involucradas en la respiración. **B.** Fosfatidilcolina (PC) resistencia al ácido acético en *A. aceti*. **C.** Chaperoninas) protegen a *A. aceti* contra la desnaturalización de proteínas, ayudando en la expresión fenotípica de la resistencia al ácido acético. **D.** Ciclo del ácido cítrico ayuda *A. aceti* para la resistencia al ácido acético agotando el acetato citoplasmático a través de la oxidación de acetil-CoA a CO₂. **E.** Proteínas ABC sensibles a la acumulación de ácido acético, expulsándolo del citoplasma mediante ATP. **F.** Flujo constante a concentraciones altas de ácido acético mediante la fuerza motriz de protones.

4.7 *Helicobacter pylori*

4.7.1 *Helicobacter pylori* y la ácido-tolerancia

La bacteria *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) es una bacteria helicoidal gram-negativa, la cual infecta al menos a la mitad de la población mundial; *H. pylori* se ha establecido como el agente causante de la infección de la mucosa gástrica humana con varias enfermedades gastro-duodenales como gastritis crónica, úlcera gástrica, úlcera

duodenal y mayor riesgo de cáncer gástrico (**Valenzuela et al., 2003, Benoit et al., 2013, Cunha Es et al., 2022**). El nicho ecológico de esta bacteria es el estómago, donde el pH va desde 2.0 a 6.5, por lo que *H. pylori* está muy adaptado a los desafíos encontrados de este medio (**Ansari y Yamaoka., 2017**). Una vez que se establece la infección, la bacteria permanece en el estómago durante toda la vida y se convierte en el habitante dominante del estómago (**Bayona., 2013**). En la luz gástrica, el pH es de alrededor de 2.0 y más en la capa de moco, sin embargo, *H. pylori* permanece poco tiempo dentro de la luz y entra en la capa de moco, este es el hábitat de la bacteria, donde el pH varía entre 4.5 y 6.5 (**Kuwahara et al., 2000, Ansari y Yamaoka., 2017, Mamidala R et al., 2021**).

Muchos estudios han revelado que *H. pylori* tiene varios mecanismos para superar los efectos letales del pH ácido gástrico; la supervivencia en pH ácido es importante para las células de *H. pylori* durante las primeras etapas de la infección gástrica antes de la colonización del moco gástrico que proporciona una capa protectora contra el contenido ácido del estómago (**Valenzuela et al., 2003**). *H. pylori* cruza la capa de moco gástrico y comienza a colonizar la mucosa gástrica adhiriéndose al epitelio gástrico donde se obtienen los nutrientes necesarios y la protección del sistema inmunológico del huésped (**Kuwahara et al., 2000, Cunha Es et al., 2022**). La infección por *H. pylori* se potencia mediante la producción de amoníaco, que es de gran importancia como fuente de nitrógeno y para neutralizar la acidez gástrica (**Ansari y Yamaoka., 2017**). El pH en reposo del estómago humano puede alcanzar tan solo 1.8, y las colonias de *H. pylori* pueden experimentar este pH significativamente más bajo durante las infecciones (**Jones y Zamble., 2018**).

4.7.2 Transporte de níquel y el papel de la ureasa

Las propiedades superficiales del complejo de ureasa de *H. pylori* juegan un papel importante para la persistencia durante la colonización gástrica, interactuando directamente con los componentes del huésped que subyacen a la persistencia de *H. pylori* (**Ansari y Yamaoka., 2017**). Una enzima que contiene níquel y requiere una adquisición eficiente de níquel del medio ambiente para su actividad completa

(requiere 24 iones de níquel) **(Benoit et al., 2013, Mamidala R et al., 2021)**. Esta bacteria produce una gran cantidad de ureasa intracelular (citoplasmática), sin embargo, el pH ambiental regula la síntesis de ureasa intracelular que actúa para aumentar el pH periplásmico y el potencial de membrana permitiendo la síntesis de ureasa a pH bajo **(Bayona., 2013, Cunha Es et al., 2022)**. La propiedad hidrolizante de la urea exhibida por la enzima ureasa aumenta el pH en el microambiente del moco y lo modifica a menos gelatinoso, facilitando el movimiento de la bacteria **(Ansari y Yamaoka., 2017)**. Las moléculas de níquel (cofactor de la enzima ureasa) que se encuentran como moléculas traza en la sangre son captadas por las proteínas de captación de bacterias, FecA3 y FrpB4, FrpB2, ancladas en la membrana externa **(Fig. 5.) (Benoit et al., 2013)**. Después de entrar en la membrana externa, las moléculas de níquel se transportan al citoplasma a través del canal de proteínas NixA, una proteína monomérica de captación de níquel de alta afinidad localizada en la membrana citoplasmática (interna) de las bacterias **(Fig. 5.) (Ansari y Yamaoka., 2017)**. La activación del sistema de ureasa requiere níquel como cofactor, donde la ureasa ayuda a la descomposición de la urea y producción de amoníaco que neutraliza la acidez **(Benoit et al., 2013)**. El amonio (NH_4^+) producido se transporta fuera de la célula bacteriana, que puede actuar como tampón lo que crea un microambiente neutro **(Fig. 5.) (Valenzuela et al., 2003, Cunha Es et al., 2022)**.

Se plantea como la supervivencia dependiente de urea de *H. pylori* está asociado con la homeostasis del pH citoplásmico gracias a funciones de la ureasa en la homeostasis del pH **(Stingl et al., 2002, Mamidala R et al., 2021)**. Una proteína reguladora NikR es un activador o represor de una variedad de genes que codifican las proteínas precursoras de la ureasa, así como los transportadores de níquel, las proteínas de almacenamiento de níquel **(Jones y Zamble., 2018)**, el cual regula la disponibilidad de moléculas de níquel para la acción completa de la enzima ureasa, dado que *H. pylori* muestra un crecimiento reducido a una mayor concentración de níquel ambiental y en ausencia de níquel **(Ansari y Yamaoka., 2017)**. NikR se une a las regiones promotoras de los genes *frpB4* y *fec3A* en una alta concentración de níquel, lo que conduce a la depresión de estos genes y a la disminución de la

captación de níquel (**Fig. 5.**) (**Benoit et al., 2013, Lund et al., 2014, Mamidala R et al., 2021**). La entrada demasiado pequeña de níquel afecta la actividad de la ureasa y la supervivencia del ácido, mientras que demasiado níquel genera especies reactivas de oxígeno que provocan daño celular; por lo tanto, la entrada de níquel debe estar bien regulada (**Ansari y Yamaoka., 2017**). La proteína ExbD de la membrana interna bacteriana ayuda a la aclimatación al ácido (**Ansari y Yamaoka., 2017**). ExbD, un producto del gen HP1340 en la cepa 26695, parte de un complejo de 3 proteínas (ExbB / ExbD / TonB), el cual transfiere energía a la membrana externa en forma de cambios conformacionales en TonB para el transporte activo de moléculas esenciales que se encuentran en trazas en ambientes como el hierro y el níquel (**Fig. 5.**) (**Benoit et al., 2013, Cunha Es et al., 2022**).

La urea (sustrato de la enzima ureasa) entra en la membrana externa a través de las porinas, la cual depende del de ácido que está mediada por la proteína de entrada específica de urea, permeasa (Urel) , un canal de urea controlado por protones localizado en la membrana interna, una vez dentro se difunde pasivamente a través de la membrana interna bacteriana y tras la exposición de *H. pylori* a una alta acidez; la entrada de urea se vuelve más rápida (**Lund et al., 2014**). Es de total importancia las concentraciones de urea que puede tomar la bacteria, para proporcionar suficiente amoníaco y beneficio de supervivencia de ácido, especialmente durante el período de inanición cuando el pH es de alrededor de 1.0 (**Kuwahara et al., 2000, Ansari y Yamaoka., 2017**). La urea de forma endógena mediante arginasa y su sustrato la arginina in vitro da como resultado la producción de amoníaco (NH₃) y carbamato, promoviendo la supervivencia de la bacteria a pH ácido in vitro, importante para la supervivencia in vivo en caso de que haya un nivel inadecuado de urea en el sitio de colonización (**Ansari y Yamaoka., 2017**). El carbamato se descompuso espontáneamente para dar amoníaco (NH₃) y ácido carbónico. El ácido carbónico se descompone en CO₂ y H₂O (**Bayona., 2013**). El CO₂ y el NH₃ producidos por la hidrólisis de la urea, se difunden al espacio periplásmico y proporcionan los dos vías principales de la aclimatación ácida (**Kuwahara et al., 2000, Mamidala R et al., 2021**). El CO₂ en el espacio periplásmico se convirtió en bicarbonato (HCO₃⁻) y un H⁺,

proporcionando una vía de la aclimatación ácida manteniendo el pH periplásmico cercano a 6.1 (Ansari y Yamaoka., 2017). Por tanto, tanto el NH₃ como el CO₂ producidos por la actividad de la ureasa intracelular habilitan el mecanismo de aclimatación ácida en *H. pylori* y pueden mantener el pH periplásmico en 6,1 frente a un pH externo por debajo de 2,5 (Lund et al., 2014). El amonio (NH₄⁺), la forma protonada del amoníaco que neutraliza la acidez del estómago, juega un papel importante en la promoción de un entorno favorable para la supervivencia de *H. pylori* en el estómago. Estos datos proporciona las principales vías de aclimatación ácida para la neutralización de la acidez en el espacio periplásmico donde el pH aumenta a 6.1 (Fig. 5.) (Lund et al., 2014, Mamidala R et al., 2021).

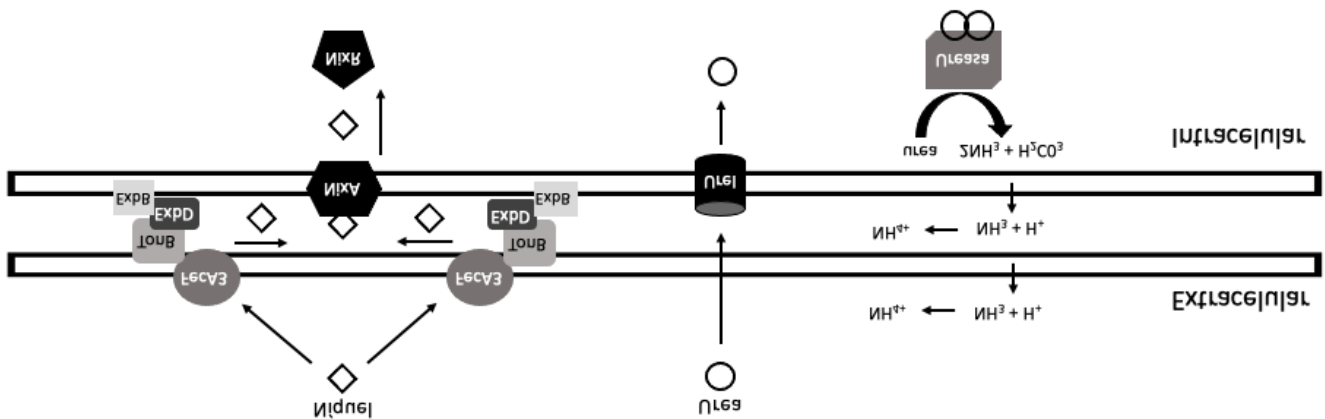


Figura 5. Transporte de niquel por medio de *FecA3* y *FrpB4*, *FrpB2*, ancladas en la membrana externa. El complejo de 3 proteínas (*ExbB* / *ExbD* / *TonB*), transfiere energía a la membrana externa en forma de cambios conformacionales en *TonB* para el transporte activo de niquel.

4.7.3 Ácido resistencia a la la mucosa gástrica

También *H. pylori* posee mecanismos de resistencia a la acidez independientes de la ureasa; la capa de moco que recubre al estómago tiene un pH fuertemente ácido, el cual disminuye en tanto que acrecienta el pH gástrico y se convierte en gel por encima de pH 4.0 (Ansari y Yamaoka., 2017). *H. pylori* presenta entrecruzamientos en la capa celular, en el peptidoglicano que se encuentra en el espacio periplásmico de la

pared celular, modificando la bacteriana con forma helicoidal, el cual hace frente a diferentes entornos para daptarse (**Fig. 6.**) (**Kuwahara et al., 2000, Yang H et al., 2021**). El rápido movimiento de la bacteria dentro de la capa mucosa menos ácida se ve facilitado por su forma helicoidal, lo que permite que la bacteria escape a un pH extremadamente bajo, pueda penetrar la capa de moco en forma de corcho y colonice colonizar el epitelio gástrico. Este moco protege a las bacterias del estrés ácido y la forma helicoidal de las bacterias es de importancia (**Ansari y Yamaoka., 2017, Yang H et al., 2021**).

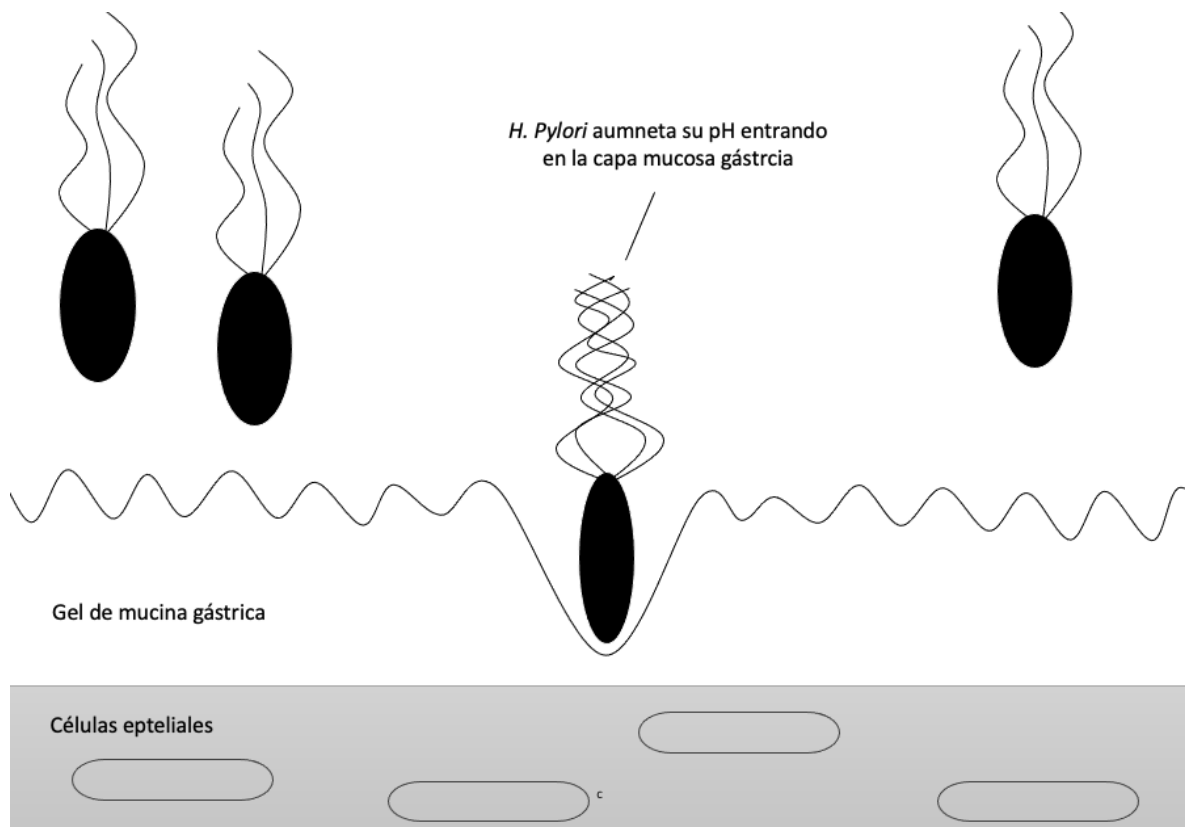


Figura 6. *H. pylori* es capaz de realizar entrecruzamientos en la capa mucosa gástrica modificando la bacteriana con forma helicoidal, la capa mucosa menos ácida se ve facilitado por su forma helicoidal, lo que permite que la bacteria escape a un pH extremadamente bajo, y pueda colonizar el epitelio gástrico.

4.8 *Vibrio cholerae*

4.8.1 *Vibrio cholerae* y la ácido-tolerancia

Vibrio cholerae es la bacteria conocida por ser la causante de la enfermedad colérica, enfermedad que en países subdesarrollados puede llegar a presentar una alta mortalidad, siendo el agua el medio principal de dispersión de la enfermedad **(Alvarez., 1997)**. *V. cholerae* es denominado como un microorganismo muy susceptible a valores de pH bajos, debido a que su mejor crecimiento se obtiene a pH alcalinos **(Alvarez., 1997)**. Este tipo de bacterias habita de diversos hospederos, y uno de ellos es en el contenido gástrico humano, el cual posee un pH de 1.6 a 1.8, donde las bacterias de *V. cholerae* producen la toxina colérica **(Alvarez., 1997)**. Gracias al pH ácido del contenido gástrico humano es como funge de barrera importante para el tránsito del patógeno hacia el duodeno a través de la mucosa intestinal, siendo una línea de defensa para evitar diarrea difusa en el humano **(Alvarez., 1997, Castro-Rosas y Escartin. 2005)**. *V. cholerae* también habita en ambientes acuáticos, presentes suspendidos en la columna de agua, en vida libre o parasitando plancton o tejido de varios organismos marinos **(de Santana Silva et al., 2019)**. Se ha estudiado como ambientes con salinidad, típicamente cálidos, con temperaturas superiores a 5°C durante largos períodos y pH entre 7,0 y 9,0, son probables reservorios naturales de *V. cholerae* **(de Santana Silva et al., 2019)**. Algunas de las funciones que posee esta bacteria es la degradación de quitina **(de Santana Silva et al., 2019)**. *Vibrio cholera* puede sobrevivir en ambientes con condiciones ambientales desfavorables durante un período de tiempo determinado, y el pH pueden influir en el proceso **(de Santana Silva et al., 2019)**. Por tal motivo, se ha investigado los mecanismos que posee *V. cholerae* para llegar a desarrollar una respuesta adaptativa cuando crecen bajo condiciones de estrés por pH y sales biliares **(Alvarez., 1997)**.

4.8.2 Proteína quitinosa

Otro mecanismo de resistencia / tolerancia de *V. cholerae* ante pH ácidos es la producción de exopolisacáridos y la adherencia a quitina, así formando biopelículas

para resistir los efectos del estrés ambiental (**Castro-Rosas y Escartin., 2005**). *Vibrio cholerae* es capaz de producir la proteína quitinosa, que se adhiere fácilmente a la quitina, lo que sugiere que las cepas pandémicas también pueden tener un nicho ecológico resistente antes ambientes de pH estrés debido a ser bacterias asociados con organismo quitinosos (**Nalin et al., 1979**). La quitina resiste la digestión con ácido, con pH de 1.6 a 1.8, por lo que los vibriones podrían sobrevivir al tránsito gástrico adhiriéndose a las partículas de quitina ingeridas durante una comida. *V. cholerae* podría utilizar su quitinosa para protegerse del ácido por adsorción a quitina (**Fig. 7.**) (**Nalin et al., 1979**). Las células en las biopelículas son marcadamente más tolerantes que las células planctónicas a condiciones ambientales como pH bajo o temperatura alta, brindando protección contra compuestos tóxicos, como los antibióticos, que están presentes en el medio ambiente (**Watnick y Kolter., 1999, Castro-Rosas y Escartin., 2005**).

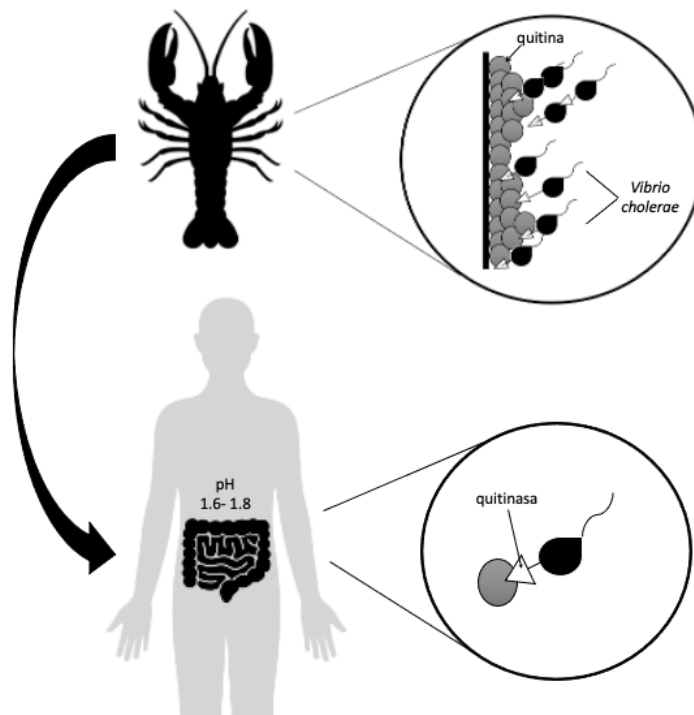


Figura 7. *Vibrio cholerae* produciendo la proteína quitinasa, es capaz de adherirse a la quitina disponible en muchos crustáceos. La quitina al entrar al cuerpo humano

resiste la digestión con ácido a pH de 1.6 a 1.8, por lo que *V. cholerae* sobrevive al tránsito gástrico protegiéndose del ácido por adsorción a quitina

La unión entre la expresión de exopolisacáridos y el anclaje a la quitina, promueve la formación de biopelícula como una estructura que permite la entrada facilitada de nutrientes y protección del ambiente estresante para las bacterias, así como la difusión de metabolitos tóxicos **(Nalin *et al.*, 1979, Watnick y Kolter., 1999, de Santana Silva *et al.*, 2019).**

5. PERSPECTIVAS

Debido a la diversidad de mecanismos de ácido tolerancia bacteriana, es importante mencionar el uso y aplicación de las bacterias en áreas biomedicas y biotecnologicas, potenciando la exploración de moléculas y genes de interés para resolver problemas de supervivencia bacteriana y replicación celular en control de alimentos, control de plagas, biodegradación; así como prevención de enfermedades infecciosas provenientes de agentes patógenos.

6. CONCLUSIÓN

La capacidad de las bacterias para adaptarse a condiciones ácidas y posteriormente crecer es una característica importante que se ha investigado, ya que muchas de esas bacterias están asociadas al ser humano y crecen a valores de pH cercanos a la neutralidad. Sin embargo hay bacterias como es el caso de *Helicobacter pylori* que es capaz de crecer en ambientes tan ácidos como son las secreciones gástricas, así la supervivencia en medios ácidos depende de diferentes mecanismos fisiológicos que han sido estudiados en las bacterias. La diversidad de los mecanismos de ácido-tolerancia se debe a la multiplicidad de los ambientes y habitats donde la bacterias se desarrollan y crecen, mecanismos como sistemas de bombeo de protones, reguladores como los sistemas de transducción de señales de dos componentes que alteran la envoltura celular, como la del lisilfosfatidilglicerol, los cuales protegen las células regulando la arquitectura, composición, estabilidad y actividad de la célula, los cambios morfológicos que las bacterias adoptan manteniendo sus viabilidad, vesículas de membrana ISO que bombea activamente componentes ácidos al medio exterior, producción de proteínas, por ello la importancia de enlazar y documentar las posibles semejanzas en las que las bacterias toman camino para su posible contención o expansión de desarrollo humano.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Adessi A, Cruz de Carvalho R, De Philippis R, Branquinho C, Marques da Silva J. Microbial extracellular polymeric substances improve water retention in dryland biological soil crusts. *Biology Biochemistry* [Internet]. 2018; 116:67–9. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003807171730593X>
2. Ali L, Mustafa M, Xiao ZR, Islam W, Ara U, Ajmal M, et al. Responses of *Enterococcus faecalis* resistance and cytolysin up-regulation to nutrients in constructed mesocosms. *Journal of King Saud University-Science* [Internet]. 2022;34(1):101680. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364721003426>
3. Álvarez-Ordóñez A, Prieto M, Bernardo A, Hill C, López M. The Acid Tolerance Response of *Salmonella* spp.: An adaptive strategy to survive in stressful environments prevailing in foods and the host. *Food Research International* [Internet]. 2012;45(2):482–92.
4. Álvarez-Ordóñez A, Valdés L, Bernardo A, Prieto M, López M. Survival of acid adapted and non-acid adapted *Salmonella* Typhimurium in pasteurized orange juice and yogurt under different storage temperatures. *Food Science and Technology International* [Internet]. 2013;19(5):407–14. Disponible: <http://dx.doi.org/10.1177/1082013212455343>
5. Amajioyi J. Auxin-based herbicide program and rhizobia application for weed control and nodulation potential in auxin tolerant soybean. 2021
6. Akasaka N, Fujiwara S. The therapeutic and nutraceutical potential of agmatine, and its enhanced production using *Aspergillus oryzae*. *Amino*

Acids [Internet]. 2020;52(2):181–97. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-019-02720-7>

7. Ansari S, Yamaoka Y. Survival of *Helicobacter pylori* in gastric acidic territory. *Helicobacter* [Internet]. 2017;22(4). Disponible: <http://dx.doi.org/10.1111/hel.12386>
8. Arroyo C, Hurtado PLB, Pérez P. Caracterización de microorganismos con potencial probiótico aislados de estiércol de terneros Brahman en Sucre, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2018;29:438–48.
9. Benoit SL, Miller EF, Maier RJ. *Helicobacter pylori* stores nickel to aid its host colonization. *Infection and Immunity* [Internet]. 2013;81(2):580–4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00858-12>
10. Birsoy K, Wang T, Chen WW, Freinkman E, Abu-Remaileh M, Sabatini DM. An essential role of the mitochondrial electron transport chain in cell proliferation is to enable aspartate synthesis. *Cell* [Internet]. 2015;162(3):540–51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.016>
11. Blancato V, S; Magni C, Lolkema JS. Functional characterization and Me_2^+ ion specificity of a Ca_2^+ -citrate transporter from *Enterococcus faecalis*. *The FEBS journal*. 2006;273:5121–30.
12. Brenneman KE, Willingham C, Kong W, Curtiss R 3rd, Roland KL. Low-pH rescue of acid-sensitive *Salmonella enterica* Serovar Typhi Strains by a Rhamnose-regulated arginine decarboxylase system. *Journal of Bacteriology* [Internet]. 2013;195(13):3062–72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/JB.00104-13>

13. Boldrin F, Cioetto Mazzabò L, Lanéelle M-A, Rindi L, Segafreddo G, Lemassu A, et al. LysX2 is a Mycobacterium tuberculosis membrane protein with an extracytoplasmic MprF-like domain. BMC Microbiology [Internet]. 2022;22(1):85. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12866-022-02493-2>
14. Bonifer C, Glaubitz C. MsbA: an ABC transporter paradigm. Biochemical Society Transactions. [Internet]. 2021;49(6):2917–27. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1042/BST20211030>
15. Castro-Rosas J, Escartín EF. Increased tolerance of Vibrio cholerae O1 to temperature, pH, or drying associated with colonization of shrimp carapaces. International journal of food microbiology [Internet]. 2005;102(2):195–201. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.12.015>
16. Castellani LG, Luchetti A, Nilsson JF, Pérez-Giménez J, Wegener C, Schlüter A, et al. Exopolysaccharide characterization of Rhizobium favelukesii LPU83 and its role in the symbiosis with alfalfa. Frontiers in Plants Science [Internet]. 2021; 12:642576. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2021.642576>
17. Chaudhuri D, Roy Chowdhury A, Biswas B, Chakravorty D. Salmonella typhimurium infection leads to colonization of the mouse brain and is not completely cured with antibiotics. Frontiers in Microbiology [Internet]. 2018;9:1632. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.01632>
18. Cian MB, Mettlach JA, Zahn AE, Giordano NP, Minor KE, McClelland M, et al. Cardiolipin biosynthesis genes are not required for Salmonella enterica serovar Typhimurium pathogenesis in C57BL/6J mice. Microbiol Spectr. [Internet]. 2022;10(3):e0261721. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/spectrum.02617-21>

19. Correa O, Barneix AJ. Cellular mechanisms of pH tolerance in *Rhizobium loti*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 1997;(2).
20. Cunha ES, Chen X, Sanz-Gaitero M, Mills DJ, Luecke H. Cryo-EM structure of *Helicobacter pylori* urease with an inhibitor in the active site at 2.0 Å resolution. *Nature Communications* [Internet]. 2021 [citado el 18 de octubre de 2022];12(1):230. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41467-020-20485-6>
21. De F, Agrarias C. UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR [Internet]. 198.35.98. [citado el 18 de octubre de 2022]. Disponible en: <http://181.198.35.98/Archivos/CIGUENCIA%20QUIZANGA%20%20JOEL%20GABRIEL.pdf>
22. De Santana Silva E, Fernandez S, Lopes MA, Costa AP, Pereira BS, Pereira S. Variação de pH, salinidade e temperatura viabilizantes para estabelecimento do *Vibrio cholerae* nas águas portuárias da cidade do Rio de Janeiro, Brasil. *Vigilância Sanitária em Debate*. 2019;7(1).
23. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control. The European Union Summary Report on Antimicrobial Resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017/2018. *EFSA j* [Internet]. 2020;18(3):e06007. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6007>
24. Ferreira PA, Bomfeti C, Soares B, De Souza Moreira FM. Efficient nitrogen-fixing *Rhizobium* strains isolated from amazonian soils are highly tolerant to acidity and aluminium. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2012;28:1947–59.

25. Francois JA, Starks CM, Sivanuntakorn S, Jiang H, Ransome AE, Nam J-W, et al. Structure of a NADH-insensitive hexameric citrate synthase that resists acid inactivation. *Biochemistry* [Internet]. 2006;45(45):13487–99. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/bi061083k>
26. Fonseca-García C, López-García CM, Pacheco R, Armada E, Nava N, Pérez-Aguilar R, et al. Metallothionein1A Regulates Rhizobial Infection and Nodulation in *Phaseolus vulgaris*. *International Journal of Molecular Science* [Internet]. 2022 [citado el 18 de octubre de 2022];23(3):1491. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/3/1491>
27. Gaca AO, Lemos JA. Adaptation to adversity: The intermingling of stress tolerance and pathogenesis in enterococci. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [Internet]. 2019;83(3). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/MMBR.00008-19>
28. Manzo G, Zentella SC, Valdez MG, Sosa-Torres A, Espinoza MA, Escamilla-Marván R. The PQQ-alcohol dehydrogenase of *Gluconacetobacter diazotrophicus*. *International journal of food microbiology*. 2008;125:71–8.
29. Hanyu H; Engevik K, Matthis A, L; Ottemann K, M; Montrose M. *Helicobacter pylori* uses the TlpB receptor to sense sites of gastric injury. *Infection and immunity*. 2019;87.
30. Han L, Yuan J, Ao X, Lin S, Han X, Ye H. Biochemical characterization and phylogenetic analysis of the virulence factor lysine decarboxylase from *Vibrio vulnificus*. *Frontiers Microbiology* [Internet]. 2018;9:3082. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2018.03082>
31. Hernández-Forte I; Nápoles-García MC, Rosales-Genqui P, R; Ramírez-Pedroso J, Ponte-Betancourt S. Tolerancia a la acidez de rizobios

provenientes de nódulos de *Canavalia ensiformis*. *Cultivos Tropicales*. 2017;38:55–7.

32. Hu S, Yu Y, Lv Z, Shen J, Ke Y, Xiao X. Proteomics study unveils ROS balance in acid-adapted *Salmonella Enteritidis*. *Food Microbiology* [Internet]. 2020;92(103585):103585.

Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2020.103585>

33. Hu Y, Zhou Y, Fu S, Zhou M, Xu N, Li D, et al. Coordination of characteristic cytomembrane and energy metabolism contributes to ethanol-tolerance of *Acetobacter pasteurianus*. *Lebenson Wiss Technol* [Internet]. 2022;169(113950):113950.

Disponible:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643822008854>

34. Hryckowian AJ, Battesti A, Lemke JJ, Meyer ZC, Welch RA. IraL is an RssB anti-adaptor that stabilizes RpoS during logarithmic phase growth in *Escherichia coli* and *Shigella*. *MBio* [Internet]. 2014;5(3):e01043-14.

Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.01043-14>

35. Ibarra V, Alejandro M. Efecto del pH y la velocidad de agitación en la producción de exopolisacáridos a partir de *RHIZOBIUM LEGUMINOSARUMEN* cultivo líquido. Universidad EIA; 2018.

36. Ishii Y, Shige Y, Akasaka N, Trinugraha AC, Higashikubo H, Fukuda W, et al. Leucine-responsive regulatory protein in acetic acid bacteria is stable and functions at a wide range of intracellular pH levels. *Journal of bacteriology* [Internet]. 2021;203(18): e0016221.

Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/JB.00162-21>

37. Jiang S, Zhuang H, Zhu F, Wei X, Zhang J, Sun L, et al. The role of mprF mutations in seesaw effect of daptomycin-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2022;66(1): e0129521. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01295-21>
38. Jones MD, Li Y, Zamble DB. Acid-responsive activity of the *Helicobacter pylori* metalloregulator NikR. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2018;115(36):8966–71. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1808393115>
39. Kanjee U, Houry WA. Mechanisms of acid resistance in *Escherichia coli*. *Annu Rev Microbiol* [Internet]. 2013;67(1):65–81. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-micro-092412-155708>
40. Kanno M, Tamaki H, Mitani Y, Kimura N, Hanada S, Kamagata Y. pH-induced change in cell susceptibility to butanol in a high butanol-tolerant bacterium, *Enterococcus faecalis* strain CM4A. *Biotechnol Biofuels* [Internet]. 2015;8(1):69. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s13068-015-0251-x>
41. Keneni A, Assefa F, Prabu PC. Characterization of acid and salt tolerant rhizobial strains isolated from faba bean fields of Wollo. Northern Ethiopia; 2010.
42. Kieboom J, Abee T. Arginine-dependent acid resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. *Journal of Bacteriology* [Internet]. 2006;188(15):5650–3. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/JB.00323-06>
43. Krulwich TA, Sachs G, Padan E. Molecular aspects of bacterial pH sensing and homeostasis. *Nature Reviews Microbiology* [Internet]. 2011;9(5):330–43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2549>

44. Kivanç KÇ. Extracellular polysaccharide production by *Rhizobium ciceri* from Turkey. *Annals of microbiology*. 2009;(1).
45. Kuwahara H, Miyamoto Y, Akaike T, Kubota T, Sawa T, Okamoto S, et al. *Helicobacter pylori* urease suppresses bactericidal activity of peroxynitrite via carbon dioxide production. *Infection Immunity* [Internet]. 2000;68(8):4378–83. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.68.8.4378-4383.2000>
46. Lee YH, Kim JH. Direct interaction between the transcription factors CadC and OmpR involved in the acid stress response of *Salmonella enterica*. *Journal Microbiology* [Internet]. 2017;55(12):966–72. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12275-017-7410-7>
47. Lei Z, Jian-ping G, Shi-qing W, Ze-yang Z, Chao Z, Yongxiong Y. Mechanism of acid tolerance in a rhizobium strain isolated from *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi. *Can Journal Microbiology* [Internet]. 2011;57(6):514–24. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1139/w11-036>
48. Liang K, Tian Z, Chen X, Li M, Zhang X, Bian X, et al. Attenuated *Salmonella* Typhimurium with truncated LPS and outer membrane displayed RGD peptide for cancer therapy. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2022;155(113682):113682. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S075333222201071X>
49. Lin J, Lee IS, Frey J, Slonczewski JL, Foster JW. Comparative analysis of extreme acid survival in *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, and *Escherichia coli*. *Journal of Bacteriology* [Internet]. 1995;177(14):4097–104. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/jb.177.14.4097-4104.1995>

50. Lund P, Tramonti A, De Biase D. Coping with low pH: molecular strategies in neutralophilic bacteria. *FEMS Microbiology Review* [Internet]. 2014;38(6):1091–125. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/1574-6976.12076>
51. Mamidala R, Bhimathati SRS, Vema A. Discovery of Novel Dihydropyrimidine and hydroxamic acid hybrids as potent *Helicobacter pylori* Urease inhibitors. *Bioorganic Chemistry* [Internet]. 2021;114(105010):105010. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045206821003874>
52. Matsushita K, Inoue T, Adachi O, Toyama H. *Acetobacter aceti* possesses a proton motive force-dependent efflux system for acetic acid. *Journal of Bacteriol* [Internet]. 2005;187(13):4346–52. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/JB.187.13.4346-4352.2005>
53. Merchel Piovesan Pereira B, Wang X, Tagkopoulos I. Biocide-Induced Emergence of Antibiotic Resistance in *Escherichia coli*. *Frontiers in microbiology*, [Internet]. 2021; 12:640923. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2021.640923>
54. Mir B, Serrano I, Buitrago D, Orozco M, Escaja N, González C. Prevalent sequences in the human genome can form mini i-motif structures at physiological pH. *The Journal of Physical Chemistry Letters* [Internet]. 2017;139(40):13985–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/jacs.7b07383>
55. Morandi S, Brasca M, Alfieri P, Lodi R, Tamburini A. Influence of pH and temperature on the growth of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Le Lait* [Internet]. 2005;85(3):181–92. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1051/lait:2005006>

56. Mubarak Z, Soraya C. The acid tolerance response and pH adaptation of *Enterococcus faecalis* in extract of lime *Citrus aurantiifolia* from Aceh Indonesia. *F1000 Research* [Internet]. 2018;7:287. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.12688/f1000research.13990.2>
57. Mullins E, Francois J, Kappock TJ. A specialized citric acid cycle requiring succinyl-coenzyme A (CoA): acetate CoA-transferase (AarC) confers acetic acid resistance on the acidophile *Acetobacter aceti*. *Journal of bacteriology*. 2008;190:4933–40.
58. Nalin DR, Daya V, Reid A, Levine MM, Cisneros L. Adsorption and growth of *Vibrio cholerae* on chitin. *Infection Immunity* [Internet]. 1979;25(2):768–70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/iai.25.2.768-770.1979>
59. Nakano S, Ebisuya H. Physiology of *Acetobacter* and *Komagataeibacter* spp.: Acetic acid resistance mechanism in acetic acid fermentation. En: *Acetic Acid Bacteria*. Tokyo: Springer Japan; 2016. p. 223–34.
60. Nguyen NTH, Thao VTM, Khanh NM, Duyen PC, Tram PT, Thu DTM, et al. Isolation and characterization of *Rhizobium* spp. and *Bradyrhizobium* spp. from legume nodules. *HO CHI MINH CITY OPEN UNIVERSITY JOURNAL OF SCIENCE - ENGINEERING AND TECHNOLOGY* [Internet]. 2022 [citado el 18 de octubre de 2022];12(2). Disponible en: <https://journalofscience.ou.edu.vn/index.php/tech-en/article/view/2116>
61. Ojeda A. Tolerancia de *Vibrio cholerae* al choque ácido (Doctoral dissertation). 1997.
62. Passalacqua KD, Charbonneau ME. Bacterial metabolism shapes the host-pathogen interface. *Virulence Mechanisms of Bacterial Pathogens*. 2016;15–41.

63. Patil S; Valdramidis V, P; Cullen P, Frias J, Bourke P. Inactivation of *Escherichia coli* by ozone treatment of apple juice at different pH levels. *Food microbiology*. 2010;27:835–40.
64. Quintana O, C; Mejía O, Martínez DVM. Efecto del pH sobre el crecimiento de microorganismos durante la etapa de maduración en pilas estáticas de compost. *CARTAS A LOS EDITORES*. 2006;87.
65. Quintela-Baluja M, Jobling K, Graham DW, Alnakip M, Böhme K, Barros-Velázquez J, et al. Draft genome sequences of two bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* strains isolated from nonfermented animal foods in Spain. *Microbiology Resource Announcements* [Internet]. 2022; e0086622. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/mra.00866-22>
66. Qiu X, Zhang Y, Hong H. Classification of acetic acid bacteria and their acid resistant mechanism. *AMB Express* [Internet]. 2021;11(1):29. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s13568-021-01189-6>
67. Raivio TL, Leblanc SKD, Price NL. The *Escherichia coli* Cpx envelope stress response regulates genes of diverse function that impact antibiotic resistance and membrane integrity. *Journal of Bacteriology* [Internet]. 2013;195(12):2755–67. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/JB.00105-13>
68. Rojas B. Condiciones microbiológicas para el cultivo de *Helicobacter pylori*. *Rev colomb Gastroenterol*. 2013;94–9.
69. Ryu J, Beuchat LR. Influence of acid tolerance responses on survival, growth, and thermal cross-protection of *Escherichia coli* O157: H7 in acidified media and fruit juices. *International journal of food microbiology*. 1998;45:185–93.

70. Santillana Villanueva N, Departamento Académico de Agronomía y Zootecnia, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú. Mecanismos de inducción de rizobios para reducir el estrés por sequía en las leguminosas. *Revista de Investigación Altoandinas - J High Andean Res* [Internet]. 2021 [citado el 18 de octubre de 2022];23(4):258–65. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S231329572021000400258&script=sci_arttext
71. Sakurai K, Yamazaki S, Ishii M, Igarashi Y, Arai H. Role of the glyoxylate pathway in acetic acid production by *Acetobacter acetii*. *Journal of Bioscience and Bioengineering* [Internet]. 2013;115(1):32–6. Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2012.07.017>
72. Santos R, Paitán E, Sotelo A, Zúñiga D, Vílchez C. Caracterización molecular de bacterias con potencial probiótico aisladas de heces de neonatos humanos. *Revista Peruana de Biología* [Internet]. 2019;26(1):119–30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v26i1.15915>
73. Schultz JR, Costa SK, Jachak GR, Hegde P, Zimmerman M, Pan Y, et al. Identification of 5-(aryl/heteroaryl) amino-4-quinolones as potent membrane-disrupting agents to combat antibiotic-resistant Gram-positive bacteria. *J Med Chem* [Internet]. 2022; Disponible en:
<http://dx.doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01151>
74. Sharma P. Role and significance of biofilm-forming microbes in phytoremediation. A review. *Environmental Technology y Innovation*. [Internet]. 2022;25(102182):102182. Disponible:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S235218642100780X>

75. Simcock PW, Bublitz M, Cipcigan F, Ryadnov MG, Crain J, Stansfeld PJ, et al. Membrane binding of antimicrobial peptides is modulated by lipid charge modification. *Journal of Chemistry Theory Comput* [Internet]. 2021;17(2):1218–28. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jctc.0c01025>
76. Small PL. *Shigella* and *Escherichia coli* strategies for survival at low pH. *Japanese Journal of Medical Science and Biology*, [Internet]. 1998;51 Suppl:S81-9. Disponible en: http://dx.doi.org/10.7883/yoken1952.51.supplement1_s81
77. Smriti K, Rakesh P, Dash D, Chowdhury T. Detection and characterization of *Albizia procera*-*Rhizobium* for stress tolerance. *International Journal of Plant Sciences (Muzaffarnagar)*. 2014;9:349–52.
78. Song D, Jiao H, Liu Z. Phospholipid translocation captured in a bifunctional membrane protein MprF. *Nature Communications* [Internet]. 2021 [citado el 18 de octubre de 2022];12(1):2927. Disponible en: <https://www.nature.com/articles/s41467-021-23248-z>
79. Staudt AK, Wolfe LG, Shrout JD. Variations in exopolysaccharide production by *Rhizobium tropici*. *Archives of Microbiology* [Internet]. 2012;194(3):197–206. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00203-011-0742-5>
80. Stingl K, Altendorf K, Bakker EP. Acid survival of *Helicobacter pylori*: how does urease activity trigger cytoplasmic pH homeostasis? *Trends Microbiol* [Internet]. 2002;10(2):70–4. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0966-842x\(01\)02287-9](http://dx.doi.org/10.1016/s0966-842x(01)02287-9)

81. Suárez CEM, Blancato V, Magni C. Expression of the agmatine deiminase pathway in *Enterococcus faecalis* is activated by the AguR regulator and repressed by CcpA and PTS Man systems. *PLoS One*. 2013;8.
82. Surmann K, Čudić E, Hammer E, Hunke S. Molecular and proteome analyses highlight the importance of the Cpx envelope stress system for acid stress and cell wall stability in *Escherichia coli*. *Microbiologyopen* [Internet]. 2016;5(4):582–96. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/mbo3.353>
83. Sohlenkamp C, Galindo-Lagunas K A; Guan Z, Vinuesa P, Robinson S, Geiger O. The lipid lysyl-phosphatidylglycerol is present in membranes of *Rhizobium tropici* CIAT899 and confers increased resistance to polymyxin B under acidic growth conditions. *Molecular plant-microbe interactions*. 2007.
84. Tayib A, Al-Bashan Y A. Experimental studies on the potential for acid tolerance, growth, and survival of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *E. coli* O157: H7 in orange juices. *Advances in Biological Research*. 2007;1:99–107.
85. Tavernier P, Portais J, Nava S, Courtois J, Courtois B, Barbotin J. Exopolysaccharide and Poly-(beta)-Hydroxybutyrate Coproduction in Two *Rhizobium meliloti* Strains. *Applied and Environmental Microbiology* [Internet]. 1997;63(1):21–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/aem.63.1.21-26.1997>
86. Valenzuela M, Cerda O, Toledo H. Overview on chemotaxis and acid resistance in *Helicobacter pylori*. *Biology Research* [Internet]. 2003;36(3–4):429–36. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/s0716-97602003000300014>

87. Vasilopoulos G, Moser R, Petersen J, Aktas M, Narberhaus F. Promiscuous phospholipid biosynthesis enzymes in the plant pathogen *Pseudomonas syringae*. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids* [Internet]. 2021;1866(7):158926. Disponible: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1388198121000524>
88. Viala JPM, Méresse S, Pocachard B, Guilhon A-A, Aussel L, Barras F. Sensing and adaptation to low pH mediated by inducible amino acid decarboxylases in *Salmonella*. *PLoS One* [Internet]. 2011;6(7):e22397. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0022397>
89. P; Rubio L A; Duncan S H; Donachie WS, Holtrop GE, Lo G, Flint G. Pivotal roles for pH, lactate, and lactate-utilizing bacteria in the stability of a human colonic microbial ecosystem. *Systems*. 2020;5.
90. Waterman SR, Small PL. Characterization of the acid resistance phenotype and *rpoS* alleles of shiga-like toxin-producing *Escherichia coli*. *Infection and Immunity* [Internet]. 1996;64(7):2808–11. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1128/iai.64.7.2808-2811.1996>
91. Watnick PI, Kolter R. Steps in the development of a *Vibrio cholerae* El Tor biofilm. *Molecular Microbiology* [Internet]. 1999;34(3):586–95. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.1999.01624.x>
92. Weckwerth PH, Zapata RO, Vivan RR, Tanomaru Filho M, Maliza AGA, Duarte MAH. In vitro alkaline pH resistance of *Enterococcus faecalis*. *Brazilian Dental Journal*. [Internet]. 2013;24(5):474–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201301731>
93. Ших ЕВ, Махова АА, Астаповский АА, Перков АВ. ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ БИФИДОБАКТЕРИЙ И

ЭНТЕРОКОККОВ В ЛЕЧЕНИИ И ПРОФИЛАКТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ ГАСТРОЭНТЕРОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ. *Vopr Pitan* [Internet]. 2021 [citado el 18 de octubre de 2022];90(2 (534)):15–25. Disponible en: <https://cyberleninka.ru/article/n/perspektivy-probioticheskikh-shtammov-bifidobakteriy-i-enterokokkov-v-lechenii-i-profilaktike-zabolevaniy-gastroenterologicheskogo>

94. Xu Y, Zhao Z, Tong W, Ding Y, Liu B, Shi Y, et al. An acid-tolerance response system protecting exponentially growing *Escherichia coli*. *Nature Communications* [Internet]. 2020;11(1):1496. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-15350-5>
95. Yang H, Wei B, Hu B. Chronic inflammation, and long-lasting changes in the gastric mucosa after *Helicobacter pylori* infection involved in gastric cancer. *Inflammation Research* [Internet]. 2021;70(10–12):1015–26. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00011-021-01501-x>
96. Yu L, Zhang S, Xu Y, Mi X, Xing T, Li J, et al. Acid resistance of *E. coli* O157:H7 and O26:H11 exposure to lactic acid revealed by transcriptomic analysis. *Lebenson Wiss Technol* [Internet]. 2021;136(110352):110352. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643820313414>
97. Zhao B, Houry WA. Acid stress response in enteropathogenic gammaproteobacteria: an aptitude for survival. *Biochemistry and cell biology*. [Internet]. 2010;88(2):301–14. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1139/o09-182>

