

# GÉNERO YERSINIA



FACULTAD DE  
CIENCIAS

## Microbiología clínica

Grado en Bioquímica  
Departamento de Biología Molecular  
JMRR-UAM © 2023

UAM

Universidad Autónoma  
de Madrid

Samuel Aguilera  
Alberto Bernia  
Alicia Díaz  
Jesús González

# Índice

1. <b>Introducción histórica</b> .....	3
2. <b>Reservorios de la <i>Y. pestis</i> y formas de transmisión</b> .....	9
3. <b>Especies patogénicas de <i>Yersinia</i></b> .....	11
4. <b>Factores de virulencia de <i>Yersinia enterocolitica</i> codificadas en el cromosoma</b> .....	13
i. La enterotoxina Yst .....	13
ii. La internalina o invasina (Inv).....	15
5. <b>Factores de virulencia codificadas en el plásmido pYV</b> .....	17
i. El aparato de secreción de las Yops (El inyectoroma Ysc).....	17
ii. Chaperonas citosólicas .....	18
iii. Control de la inyección.....	19
iv. Efecto de las proteínas Yops sobre las células del hospedador.....	20
a) Inhibición de la fagocitosis.....	20
b) Bloqueo de la respuesta inflamatoria.....	24
c) Inducción de apoptosis en macrófagos.....	26
v. La proteína YadA.....	28
6. <b>Regulación de los genes de virulencia</b> .....	29
7. <b>Alteraciones producidas por <i>Y. pestis</i> en su vector para favorecer la transmisión</b> ....	30

# Monografía Tema 18: GÉNERO YERSINIA

## 1. Introducción histórica

Epidemias compatibles con episodios de peste se encuentran documentados ya en civilizaciones muy antiguas. Además, la utilización de técnicas de paleogenómica han permitido demostrar la presencia del genoma de la bacteria causante de la peste en poblaciones humanas de Eurasia de hace unos 5000 años.

En el período 1346-1352, Europa sufrió la pérdida de unos 20 millones de personas, lo que correspondía a cerca de la mitad de la población que poseía en ese momento. La enfermedad responsable de tan macabra estadística fue la peste bubónica, a la que, oportunamente, se denominó “Peste Negra”, designación que ha conservado a lo largo de la historia.

Entre el 70 y el 80 por ciento de los que contrajeron la peste en el siglo XIV murieron por ello. Los síntomas se presentaban con tal gravedad que presagiaban la muerte en un plazo de cinco días. El nombre de peste bubónica procede de uno de los primeros signos clínicos de la enfermedad: la aparición de grandes hinchazones dolorosas (llamadas bubones) en los nódulos linfáticos de la axila, cuello o ingle de la víctima. Por regla general, tres días después de la aparición de los bubones los enfermos se veían asaltados por fiebre alta, acompañada de delirio y de la presencia de manchas negras, resultado de hemorragias subcutáneas.

Por extraño que parezca, pese a la frecuente presencia de la enfermedad y el elevado precio que se cobraba, nadie disponía entonces de indicios sobre su naturaleza, su causa última o el mecanismo de difusión. Durante el período de la Peste Negra, las gentes solían atribuir el mal a combinaciones astrológicas desfavorables o aires o vapores pútridos (“miasmas”), nada de lo cual podía traducirse en programas preventivos de ninguna clase.

Por fin, en 1894, el bacteriólogo francés Alexandre Yersin descubrió que la peste bubónica estaba causada por una bacteria gram-negativa, *Yersinia pestis*.

Los bacilos de la peste se encuentran con baja frecuencia en numerosas poblaciones de roedores salvajes de todo el mundo; se transmiten entre ellos por las pulgas. En el caso de la peste bubónica, el insecto responsable suele ser la pulga oriental de la rata, *Xenopsylla cheopis*. Cuando pica a una rata infectada, ingiere los bacilos, que proliferan en su tubo digestivo y lo obstruyen; la pulga, incapaz de ingerir sangre, se vuelve rabiosamente hambrienta y, en sus frenéticos intentos

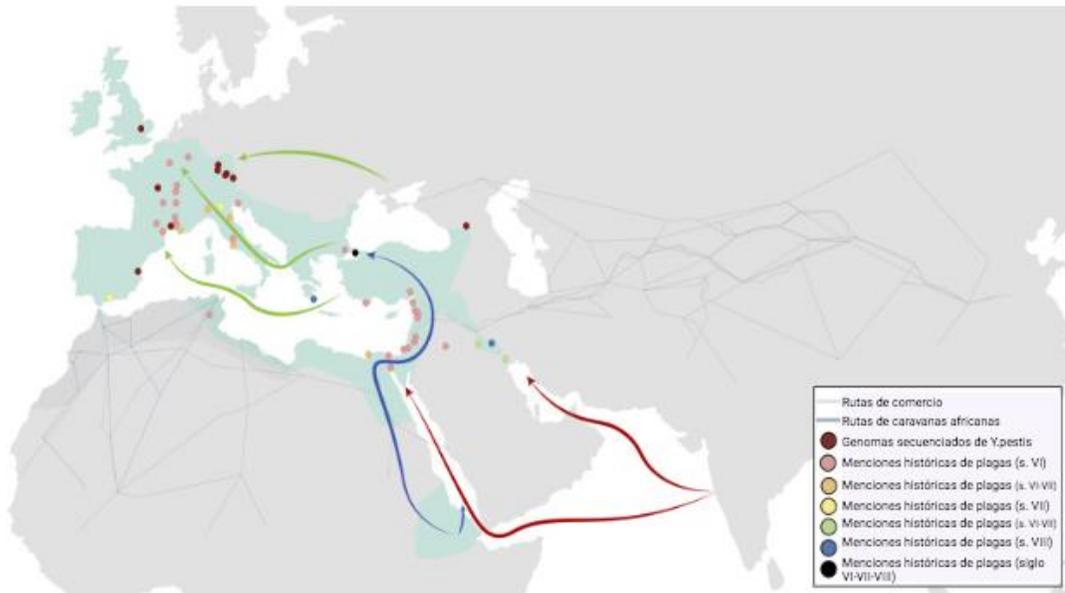
de alimentarse, pica repetidamente al hospedador, regurgitando más bacilos en cada picadura. Los puntos de inyección actúan como focos de diseminación de los bacilos. Si el hospedador muere, cosa probable, la pulga se traslada al roedor más cercano. De este modo la enfermedad se propaga con rapidez.

Conforme disminuye el número de ratas vivas, las pulgas parasitan hospedadores de sangre caliente a los que normalmente no atacarían, como seres humanos y animales domésticos, y se desencadena una epidemia. En el Medievo, ambas poblaciones se encontraban en contacto íntimo, las personas vivían rodeadas de ratas, tanto en las áreas urbanas como en las rurales.

Una vez introducida la enfermedad entre la población humana, puede transmitirse de una persona a otra a través de la inhalación de gotitas infectadas expulsadas con la respiración. Eso no quita que la manera habitual de propagación sea la picadura de pulga. De hecho, la enfermedad no subsiste al acabarse los roedores y sus pulgas.

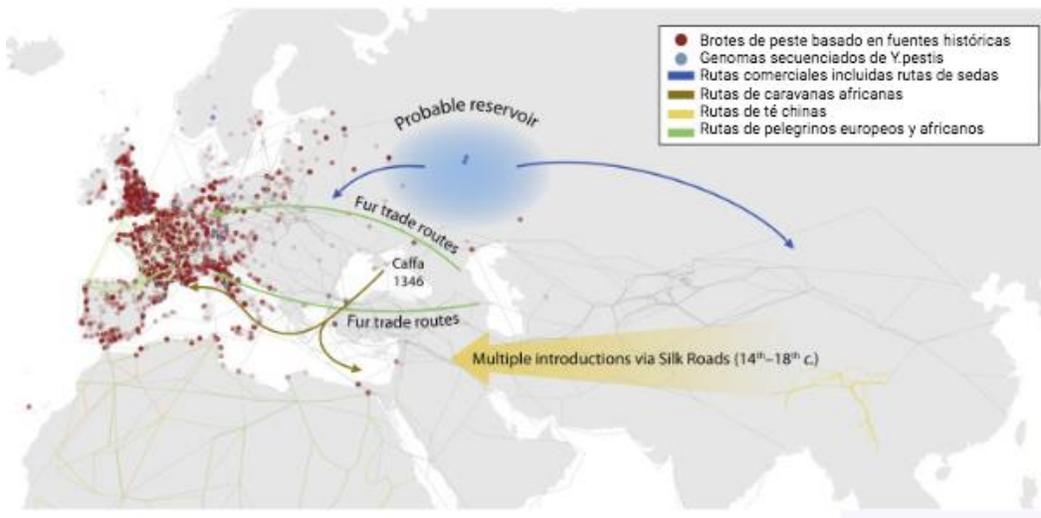
Con frecuencia, la condición esencial para que se produzca una epidemia (un brote en la población humana) es la existencia de una epizootia (un brote en la población animal, en este caso de roedores).

De acuerdo con fuentes históricas se han delineado tres periodos con importantes pandemias de peste. La primera pandemia se denomina la peste de Justiniano (desde el año 541 a los años 750/767). El nombre está asociado a Justiniano I, emperador del Imperio Romano de Oriente (527-565), por ser durante su gobierno cuando se declaró esta epidemia, cuyo origen se fecha en el año 541 y se localiza en el puerto de Pelusio (antiguo Egipto), desde donde se extendió por la Cuenca mediterránea entre los años 541 y 544; posteriormente, ocurrieron unas 21 oleadas adicionales entre los años 558 y 750/767. Sobre su origen, hay dos hipótesis: el este de Europa o la India (FIG. 1). En cuanto al número de víctimas tampoco hay mucha certeza, y las cifras oscilan entre 15 y 100 millones de personas, aunque pudieran haber sido menos.



**FIG 1.** Mapa global de la primera pandemia de peste (541 a 750/767). En verde se muestran las regiones afectadas en base a los datos históricos. Las flechas verdes, azules y rojas representan la expansión de la epidemia en función del punto de origen que sea considerado. Figura de Barbieri et al (2020).

La segunda pandemia se inició en 1346 y se extendió hasta bien entrado el siglo XVIII. Se piensa que el brote inicial ocurrió alrededor del año 1330 en Asia central o en China. Si bien, el primer episodio documentado ocurrió en 1346 en el puerto de Caffa (Península de Crimea), desde donde se extendió a Constantinopla, y desde ahí al Norte de África y Europa occidental (FIG 2). Entre los años 1346 a 1353 se produjo la muerte de un número muy significativo de la población existente en ese momento.



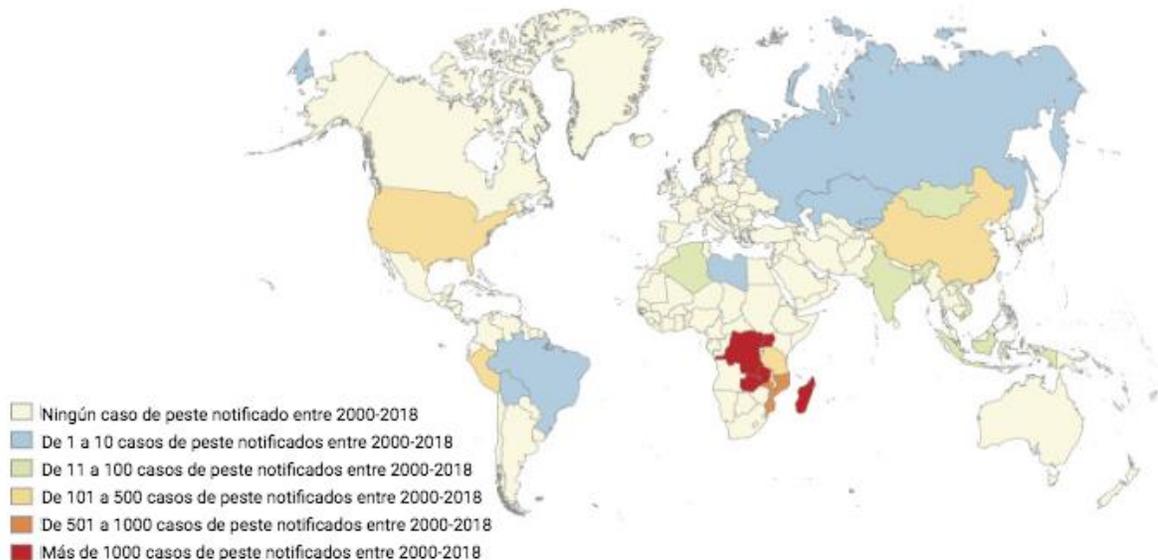
**FIG 2.** Mapa de la segunda pandemia (1346 hasta el siglo XVIII), que incluye la llamada Peste Negra (1346 a 1353) y los episodios de la peste secundaria (1357 a 1366). Figura de Barbieri et al (2020).

Desde 1347 hasta mediados del siglo XVII, la peste se mantuvo como una plaga recurrente en Europa occidental. La primera evidencia histórica de una posible plaga “yestis secunda” se observó en el verano de 1356 en la actual Alemania Centro-Sur. En el año siguiente (1357) la plaga se extendió por toda Alemania. En los años siguientes llegó al noroeste de Alemania, la parte oriental del obispado de Constanza (incluyendo el extremo noreste de Suiza), y el interior de Estrasburgo. En 1359 se extendió más a los Países Bajos en el noroeste, Austria en el sureste, y el interior de Zurich y Alsacia en el suroeste.

Después de 1670, estos episodios se hicieron menos frecuentes, aunque se produjeron brotes significativos en Marsella (1720 y 1722), Messina (1743), Moscú (1771) y el brote epidémico que ocurrió en 1839 en Constantinopla se considera el último de esta segunda pandemia.

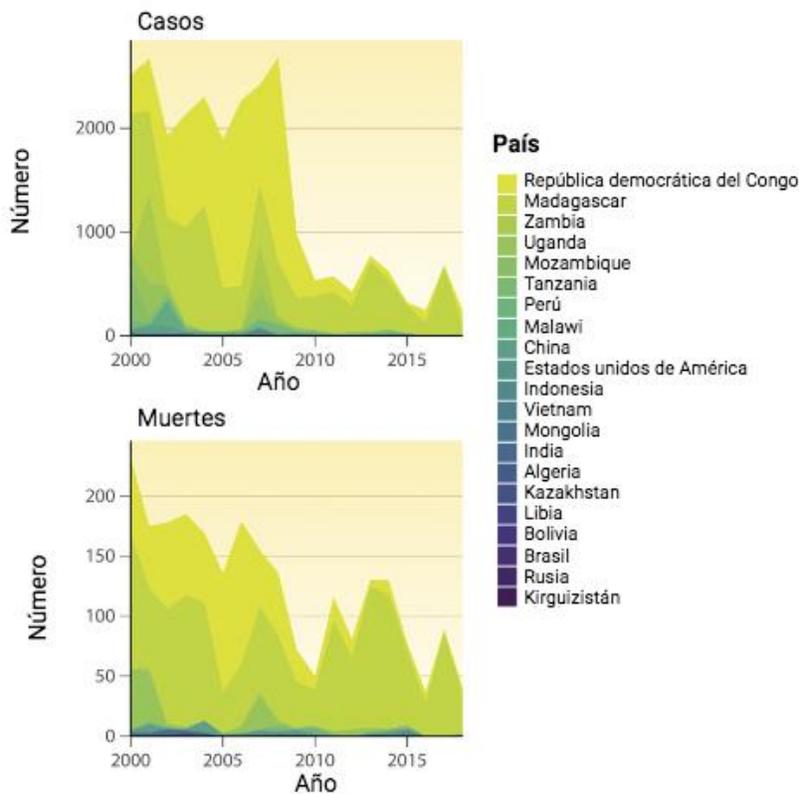
La tercera pandemia se fecha entre 1772 a 1945, y su origen se piensa estuvo en China.

En la actualidad los casos de peste son menos frecuentes. Aun así, en el periodo 2000-2018 se han reportado un total de 26237 casos (FIG 3 y 4), de los que la mayoría (97%) han afectado a países de África (principalmente en la República Democrática del Congo y en Madagascar).



**FIG 3.** Mapa mundial de casos de peste informados a la Organización Mundial de la Salud en el siglo XXI Figura de Barbieri et al. (2020).

Una cuestión que se sigue debatiendo es la causa que podría estar detrás de la disminución de la incidencia desde los brotes de los 1346-1352, caracterizados por una gran mortalidad, a los que se fueron produciendo posteriormente. Se han dado todo tipo de hipótesis, entre ellas, a la que se ha venido a llamar como la hipótesis bacteriológica. Esta hipótesis propone la aparición de una nueva especie de *Y. pestis*, evolucionada en sentido menos virulento que la estirpe anterior. Al ser menos dañina, habría actuado como una vacuna, confiriendo a los animales y a las personas infectadas una relativa inmunidad frente a las estirpes más virulentas de la misma bacteria. La hipótesis bacteriológica resulta aceptable por dos razones. Primero, está de acuerdo con el aforismo propuesto por el patólogo norteamericano Theobald Smith, que dice: “las manifestaciones patológicas sólo constituyen incidentes en el desarrollo de un proceso de parasitación”; esto es, que, a largo plazo, las formas más suaves de enfermedad tienden a desplazar a las más virulentas. Segundo, la hipótesis viene apoyada por la existencia de un bacilo de parentesco muy próximo al de la peste, *Y. pseudotuberculosis*, que no induce manifestaciones visibles de la enfermedad en ratas pero les confiere un elevado grado de inmunidad frente a la peste causada por *Y. pestis*. Se estima que *Y. pestis* y *Y. pseudotuberculosis* compartieron un ancestro que existió hace entre 13000 y 79000 años.



**FIG 4.** Todos los casos de peste y las muertes por peste por año y país reportados por la Organización Mundial de la Salud durante los últimos 19 años. Figura de Barbieri et al (2020).

La peste se caracteriza por alternancias periódicas entre epidemia y silencio. Los brotes causados por la *Yersinia* conllevan una disminución considerable de la población, lo que ayuda a llegar a la fase de silencio de la plaga. Tras años o décadas, el número de huéspedes y vectores de *Y. pestis*, aumenta de nuevo, y las epizootias reaparecen y se extienden hasta causar epidemias humanas.

Existen dos hipótesis que podrían explicar la reactivación de focos de plaga naturales.

Una primera hipótesis explica que *Y. pestis* se conserva en los huéspedes y vectores, o en el suelo; y su descendencia puede causar brotes bajo condiciones ecológicas (Tabla 1).

La segunda hipótesis explica la reactivación por la introducción de nuevas cepas de *Y. pestis* desde otras poblaciones.

	<b>Roedores</b>	<b>Pulgas</b>	<b><i>Y. pestis</i></b>
<b>Bajas temperaturas (&lt;10°C)</b>	Falta de comida = ↑ Mortalidad en roedores	↑↑ mortalidad del vector por infección de <i>Y.pestis</i>	Crecimiento bacteriano más rápido ↑ expresión de proteínas para la supervivencia de las pulgas ↓ expresión de proteínas para la evasión inmune de mamíferos
<b>Altas temperaturas (&gt;27°C)</b>	Sequías (causando escasez de comida) = ↑ mortalidad en roedores y ↑ la proximidad a los humanos al buscar comida	↓ bloqueo del proventrículo de la pulga por el biofilm = se pierden las bacterias en el intestino de la pulga, ↓ transmisión	No se forma biofilm a más de 26°C ↓ crecimiento de bacterias >35°C
<b>Precipitación y humedad</b>	↑ lluvia en primavera = ↑ comida, causando ↑ población de roedores 1-2 años después	Una humedad del 50% es esencial para el desarrollo larval	

	Inundaciones = ↑ muerte de roedores y ↑ proximidad a los humanos	>80% humedad = ↑ picaduras >95% humedad = ↑ posibilidad de la destrucción de larvas y huevos por fungi Inundaciones = ↑ destrucción de huevos y larvas	
--	---	---	--

**Tabla 1.** Efectos de las condiciones climáticas sobre el hospedador, el vector e *Y. pestis*. Adaptada de Alderson et al. (2020).

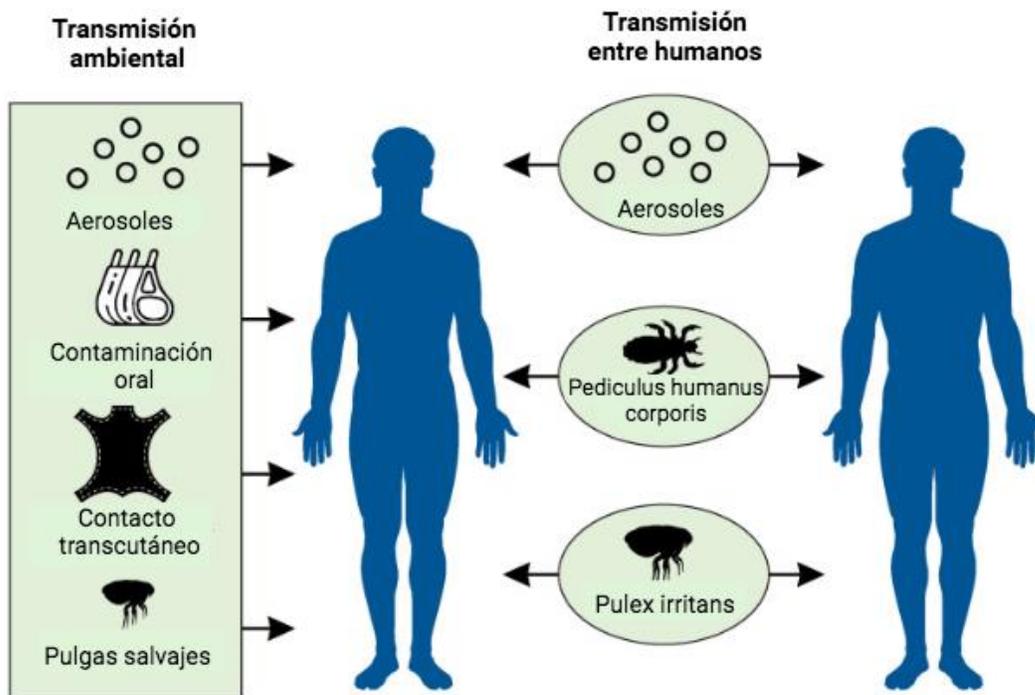
## 2. Reservorios de la *Y. pestis* y formas de transmisión

La bacteria se aísla fácilmente en muestras de suelo. También se ha descrito su presencia en el interior de algunos protozoos, como las amebas, lo que podría favorecer su persistencia en entornos naturales.

Más de 200 especies de mamíferos (principalmente roedores) pueden ser infectados por *Y. pestis* (FIG. 5), pero frecuentemente estos animales no muestran signos de enfermedad.

En cuanto a los vectores, se han documentado unas 80 especies de pulgas como vectores para la transmisión de *Y. pestis* entre roedores.





**FIG 6.** Diferentes vías de transmisión interhumana e infección humana a partir de fuentes de peste. Figura de Barbieri et al (2020).

Además, la forma de transmisión va a estar condicionada por la diversidad y abundancia de roedores, y por las consecuencias del cambio climático. Actualmente, vemos alteraciones en los ecosistemas, un mayor movimiento de la población, y migración de nuevas cepas a regiones donde antes no se presentaban las condiciones adecuadas. Sin embargo, hay otras fuerzas impulsoras que en un principio no se tuvieron en cuenta como es la eliminación de roedores y pulgas y la vacunación contra la peste *Yersinia*.

Posteriormente se observó que la distribución y transmisión de *Y. pestis*, el agente bacteriano de la peste, responden a dinámicas del clima, de manera más específica.

### 3. Especies patógenas de *Yersinia*

Las especies del género *Yersinia* se definen como bacilos o cocobacilos gramnegativos, de 0,5-0,8  $\mu\text{m}$  de diámetro y 1-3  $\mu\text{m}$  de longitud.

Entre las muchas especies del género *Yersinia*, sólo *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* y *Y. enterocolitica* están adaptadas para multiplicarse a expensas de un hospedador que está aún vivo,

y son patógenos de humanos. *Y. pestis* es inoculada a través de la picadura de pulgas mientras que las otras dos son normalmente transmitidas como contaminaciones alimentarias.

Estas bacterias tienen un tropismo por tejidos linfoides y una destacable habilidad para resistir la respuesta inmunitaria no específica. Las principales estrategias consisten en:

- 1) Evitar la lisis por complemento.
- 2) Evitar la fagocitosis por leucocitos polimorfonucleares y macrófagos.
- 3) Formar microcolonias extracelulares en los tejidos infectados.

*Y. pestis*, el agente de la peste, y *Y. pseudotuberculosis* son patógenos esencialmente de roedores. *Y. enterocolitica* es la especie patogénica más frecuente en humanos.

La enfermedad ocasionada por *Y. enterocolitica* se inicia por la ingestión de alimentos o agua contaminada.

En sistemas modelo, conejo y ratón, la infección se inicia tras la translocación a través del epitelio del ileon o del colon hacia la región de la submucosa. En el ileon del ratón, hay alguna evidencia que indica que *Y. enterocolitica* se encuentra dentro de una subserie de células llamadas células M, localizadas sobre los parches linfoides de Peyer, que se encuentran alineados a lo largo del tracto gastrointestinal. En los animales modelo, *Y. enterocolitica* drena en los nódulos linfáticos mesentéricos, y gran número de bacterias se detectan en estos órganos linfoides tras 24 h de la infección inicial. Las bacterias se localizan exclusivamente de forma extracelular y continúan fuera de las células del hospedador durante toda la enfermedad. En los distintos tejidos infectados, la bacteria forma microcolonias que son resistentes a la fagocitosis por macrófagos y neutrófilos.

En las infecciones de humanos, parece que la enfermedad termina al tiempo de infectar los nódulos linfáticos mesentéricos. En las personas, la infección puede causar síndromes gastrointestinales de severidad variada, que van desde una diarrea moderada auto-limitada a adenitis (=inflamación de los ganglios linfáticos) mesentérica que presenta síntomas similares a la apendicitis.

Infecciones sistémicas son inusuales con *Y. enterocolitica*, pero con frecuencia, asociados a infecciones bacterianas moderadas o inaparentes, se disparan desórdenes autoinmunes. Entre éstos se encuentran la tiroiditis y la artritis reactiva. En Europa, el cerdo es la fuente más común de contaminación con *Y. enterocolitica*. En estudios durante los últimos años se ha visto la gran similitud entre cepas de humanos y cerdos domésticos, así como una alta coincidencia en los

perfiles de roedores de la misma granja. Lo que explicaría porque es la fuente más común de contaminación.

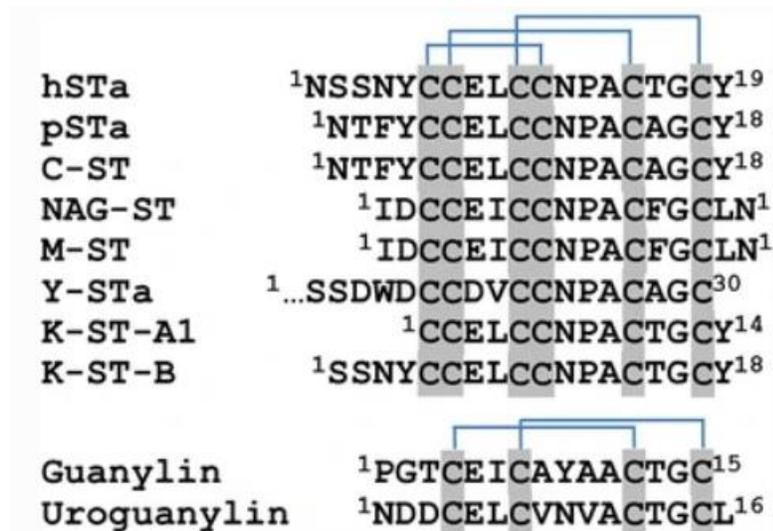
Las especies patogénicas de *Yersinia* han evolucionado para adquirir su patogenicidad. *Y.pestis* surgió de *Y. pseudotuberculosis*, cuando adquirió horizontalmente dos plásmidos adicionales, pMT1 (100-110 kb) y pPCP1 (9,5kb), y una isla de alta patogenicidad compuesta por 32 genes cromosómicos. Algunos determinantes codificados por plásmidos pMT1 y pPCP1 facilitan la invasión tisular específica de *Y. pestis*, la supervivencia en las pulgas vectores o posiblemente su fuerte crecimiento en la sangre del huésped.

Estos elementos genéticos, aunque no son esenciales para la supervivencia, fueron cruciales para la aparición de *Yersinia* como patógeno en general. Por ejemplo, la virulencia de la *Yersinia* patógenas (*Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* y *Y. enterocolitica*) depende estrictamente de la presencia del plásmido pCD1.

#### 4. Factores de virulencia de *Yersinia enterocolitica* codificadas en el cromosoma.

##### 4.1. La enterotoxina Yst.

En el cromosoma de *Y. enterocolitica* se encuentra codificada una enterotoxina estable al calor, Yst. Es un péptido de 30 aminoácidos que se asemeja a la enterotoxina estable al calor STI de *E. coli* y a la guanilina, un activador endógeno de la guanilato ciclasa intestinal (FIG 7).



**FIG 7.** Secuencia de aminoácidos con los correspondientes puentes disulfuro de las enterotoxinas estables al calor (hSTa, pSTa) de *Escherichia coli* enterotoxigénica (ETEC), junto con enterotoxinas (STs) de otras bacterias, comparándolas con análogos de guanilina y uroguanilina. C-ST: STa de *Citrobacter freundii*; NAG-ST: ST de *Vibrio cholerae*; M-ST: ST de *Vibrio mimicus*; Y-STa: STa de *Yersinia enterocolitica*; K-ST-A1 y K-ST-B: STs de *Klebsiella pneumoniae*. Obtenida de Duan & Zhang (2018).

La enterotoxina Yst se sintetiza como un polipéptido de 71 aminoácidos. Los 30 aminoácidos C-terminales corresponden a la toxina tal y como se extrae del sobrenadante de los cultivos de la bacteria. Los 19 aminoácidos N-terminales tienen las propiedades de un péptido señal y los 22 residuos centrales son retirados durante o después del proceso de secreción (FIG H).



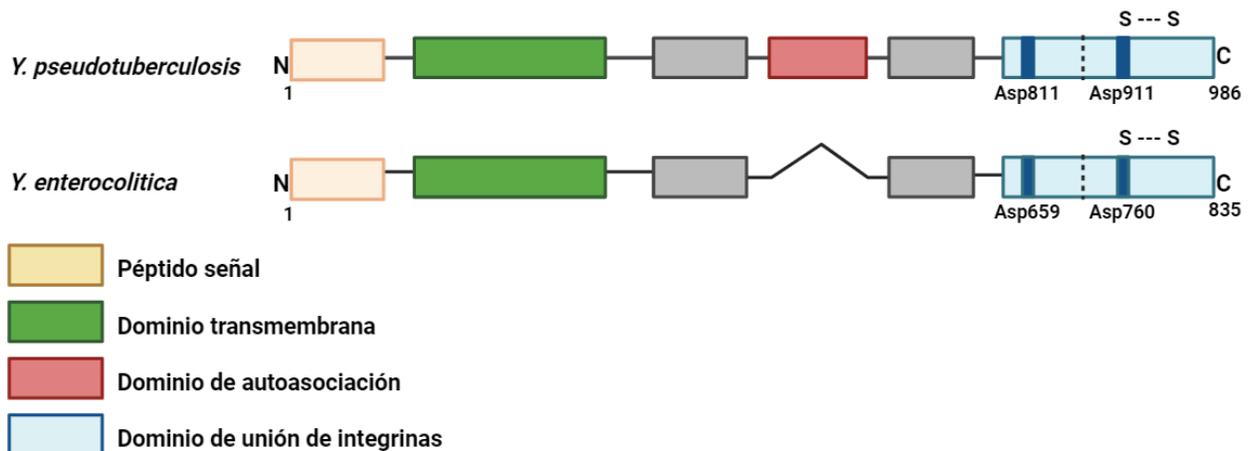
**FIG 8.** Secuencia peptídica de la enterotoxina Yst A. Imagen generada con Biorender a partir de datos de UniProt (<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P07593>)

En vista de la similitud tan grande entre Yst y STa y la asociación con serotipos patogénicos, resulta tentativo especular que la producción de Yst es responsable de las manifestaciones diarréicas asociadas con la yersiniosis. En el modelo ratón, al menos, se ha demostrado que la toxina Yst es responsable de la diarrea.

#### 4.2. La internalina o invasina (Inv).

*In vivo*, la internalina Inv parece desempeñar un papel vital en promover la entrada en el tejido intestinal durante la etapa inicial de la infección.

El gen *inv* es muy similar a varios *loci* asociados con interacciones bacteria-célula hospedadora que han sido encontrados en una variedad de patógenos entéricos gram-negativos como la *E. coli* enteropatogénica (FIG. 9). La proteína codificada en el gen *inv*, con un tamaño de 986 aminoácidos, es expuesta sobre la superficie de la bacteria. Las bacterias que expresan la invasina se unen fuertemente a la superficie de células de mamífero.



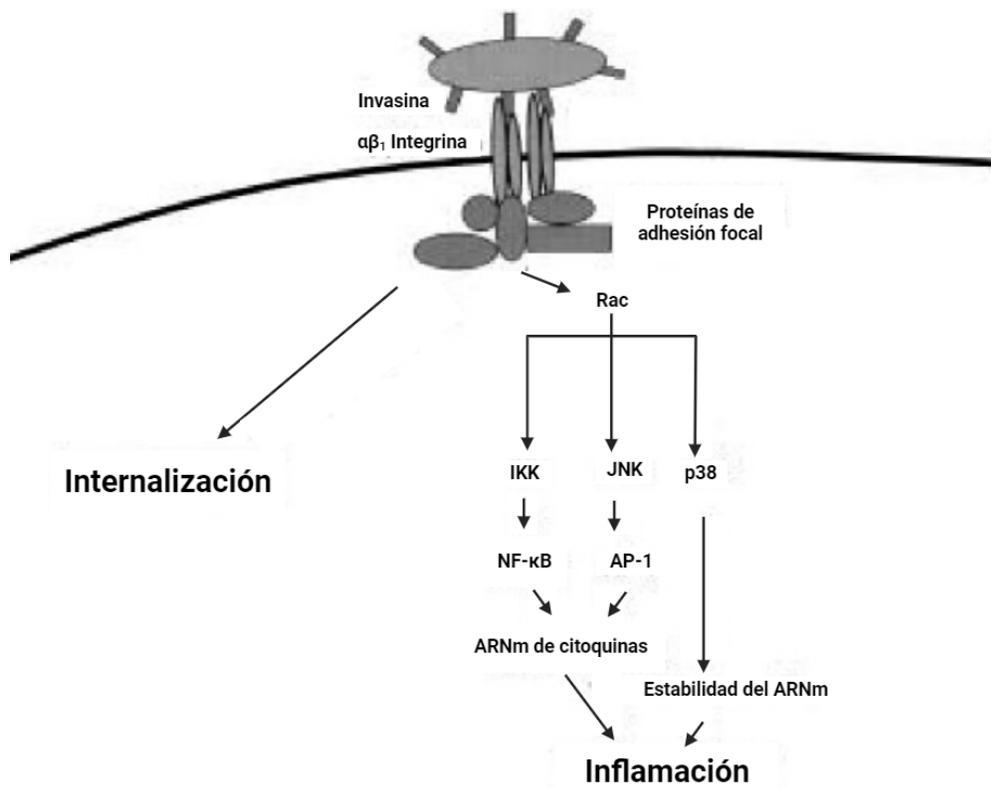
**FIG 9.** Esquema de la Invasina en *Yersinia pseudotuberculosis* y *Y. enterocolitica* (imagen de creación propia inspirada en Grassl *et al.* (2003).

La invasina parece interactuar con las integrinas situados sobre las células del hospedador. Las integrinas son una familia de proteínas formadas por más de 20 proteínas heterodiméricas  $\alpha\beta$  implicadas en la unión a proteínas de la matriz extracelular y en interacciones célula a célula.

La asociación de elementos del citoesqueleto con la cadena  $\beta$  de la integrina puede ser importante para la entrada de la bacteria, promovida por la invasina. La internalización parece requerir del reordenamiento del citoesqueleto y es inhibida por agentes que despolimerizan la actina, tales como la citocalasina D.

La invasina se une al receptor-integrina con una extremadamente alta afinidad, que es uno o dos órdenes de magnitud mayor que la afinidad por la mayoría de los substratos naturales de las integrinas.

Además de mediar la entrada de la bacteria en la célula, la invasina tiene efecto proinflamatorio sobre las células del epitelio intestinal. La unión de la invasina de *Yersinia* a las integrinas de los receptores del huésped dispara cascadas de señalización que conducen a la producción de citoquinas quimiotácticas por la vía de NF- $\kappa$ B. Estos agentes quimioatrayentes reclutan células del sistema inmunitario al foco de infección para que *Yersinia* las utilice como vehículos de difusión por el organismo (FIG 10).



**FIG 10.** Señalización inducida por la invasina de *Yersinia*. Imagen modificada a partir de Grassl *et al.* (2003).

## 5. Factores de virulencia codificadas en el plásmido pYV.

Las especies patogénicas de *Yersinia* presentan como particularidad un plásmido de 70-kb denominado pYV (*plasmid Yersinia Virulence*; en *Y. pestis*, el plásmido se llama pCD1). La importancia de este plásmido, y de los genes situados en él, se puso de manifiesto en estudios de infección en animales utilizando cepas de *Yersinia* “curadas” del plásmido (cepas P<sup>-</sup>). Así, se vio que las cepas P<sup>-</sup> eran capaces de establecer infecciones intestinales e incluso acceder a los parches de Peyer, mostrando que los genes codificados en este plásmido no son requeridos para atravesar la barrera intestinal. Sin embargo, las cepas P<sup>-</sup> desaparecen de estos nódulos linfáticos a los pocos días mientras que las cepas P<sup>+</sup> continúan creciendo. Las funciones principales de las proteínas codificadas en este replicón son las de prevenir la fagocitosis de la bacteria y la de evadir la respuesta inmunitaria tanto específica como innata del hospedador.

En el plásmido de virulencia se encuentran codificadas las proteínas Yop efectoras y las proteínas necesarias para inyectarlas dentro de las células del hospedador. Así, el virulón Yop es un arquetipo de sistemas de secreción tipo III.

### 5.1. El aparato de secreción de las Yops (El inyector Ysc).

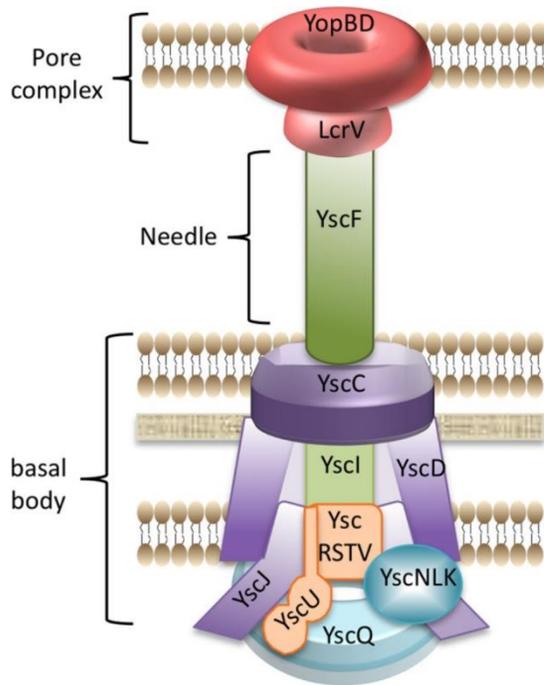
Hasta el momento se han identificado 30 genes *ysc* (*Yop secretion*) implicados en el proceso de liberación de Yop's. Su origen es una duplicación del operón que codifica para la formación del flagelo. Muchos de estos genes son homólogos a otros sistemas de secreción tipo III de otros patógenos bacterianos (*Shigella*, *Salmonella*, *Xanthomonas* y *Pseudomonas*, los dos últimos patógenos de plantas).

El aparato de secreción (FIG 11) es un orgánulo que consiste de un cuerpo basal, que atraviesa la capa de peptidoglicano y las dos membranas bacterianas, y que se continúa con una estructura similar a una aguja que sale de la bacteria.

El proceso de secreción requiere a YscN, una proteína de 47,8-kDa con motivos de unión a ATP que recuerda a la subunidad catalítica  $\beta$  de la protón-translocasa F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>.

Mientras no existe contacto con una célula eucariótica, una válvula de parada, posiblemente hecha con YopN, TyeA y LcrG, bloquea el canal de secreción Ysc. Tras el contacto con la célula blanco eucariótica, la bacteria se ancla fuertemente a través de la interacción entre sus adhesinas YadA e Inv y las  $\beta$ -integrinas, y el canal de secreción se abre. YopB y YopD forman un poro en la membrana plasmática de la célula blanco. Así, el aparato Ysc sirve como un conducto

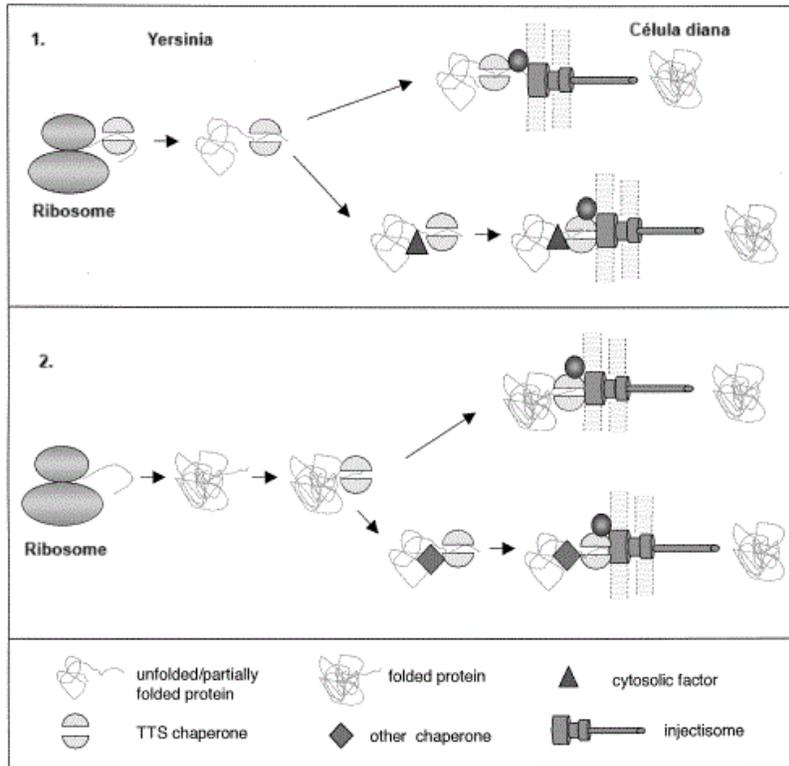
a través del cual las proteínas exportadas atraviesan las dos membranas y la barrera de péptidoglicano en una sola etapa.



**FIG 11.** El inyectosoma Ysc: estructura y subunidades que lo conforman. Figura de Dewoody *et al.* (2013).

## 5.2. Chaperonas citosólicas.

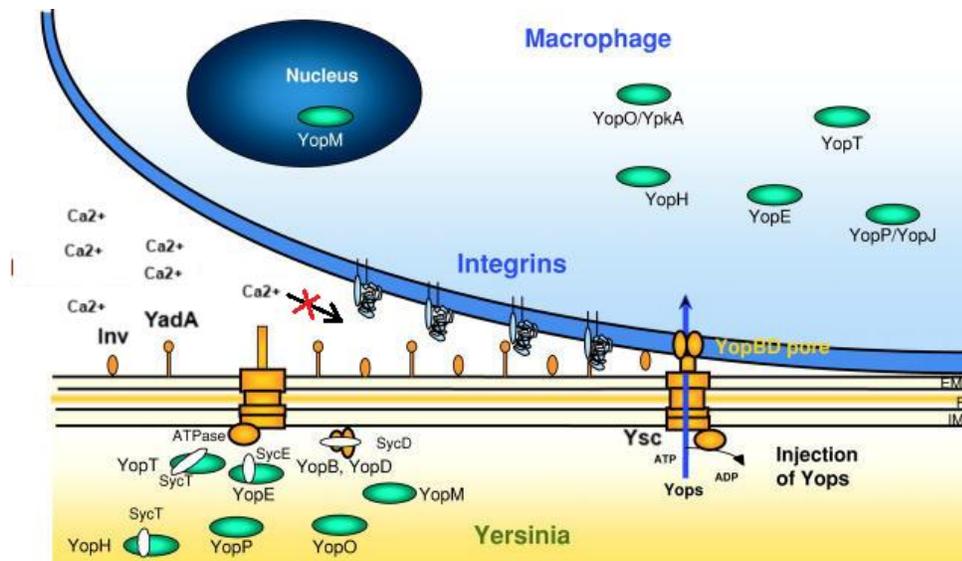
Otra de las peculiaridades del sistema de secreción Yop es que utiliza chaperonas citoplasmáticas que son específicas para Yops individuales. Se llaman *Syc* (*specific yop chaperone*) seguido de la letra de la correspondiente Yop. Si un gen *syc* es mutado, la correspondiente Yop no es exportada pero la secreción de otras Yops no es afectada. Por su unión a la Yop, la chaperona *Syc* asegura la estabilidad y conformación apropiada de la proteína. En el momento de la secreción, la chaperona es liberada de su Yop pareja (FIG 12).



**FIG 12.** Acción de las chaperonas TSS o Syc de Yersinia a la hora de permitir el paso de las Yops por el inyectosoma Ysc. Ilustración modificada a partir de una figura de Feldman *et al.* (2002).

### 5.3. Control de la inyección.

*Yersinia* secreta las Yops *in vitro* bajo condiciones de falta de  $\text{Ca}^{2+}$ . Pero se piensa que *in vivo* la señal disparadora del proceso va a ser el contacto con la célula eucariótica. Varios trabajos indican que la liberación de las Yops es un fenómeno “direccional”, en el sentido de que la mayoría de la carga es liberada dentro de la célula eucariótica y que existe poco escape (FIG 13).



**FIG 13.** Regulación del inyectosoma Ysc mediada por  $Ca^{2+}$ . Ilustración modificada a partir de la figura de Cornelis *et al.* (2002).

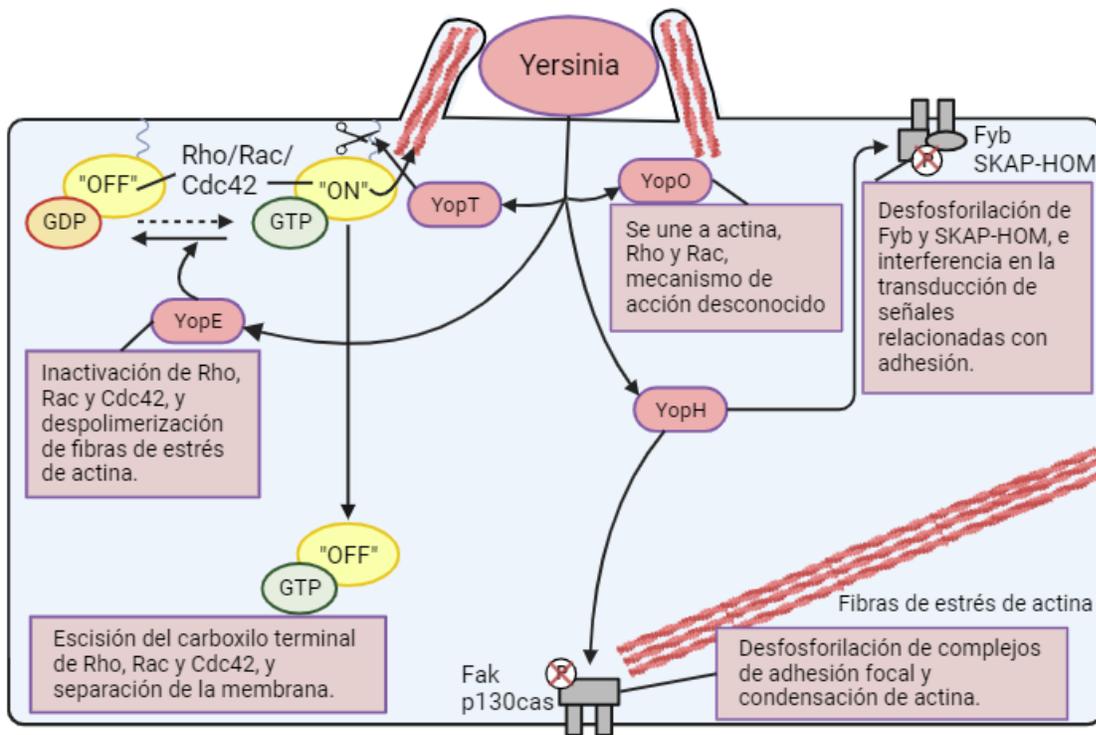
#### 5.4. Efecto de las proteínas Yops sobre las células del hospedador.

Hasta el momento, se ha encontrado que las proteínas inyectadas por el aparato de secreción tipo III en el citoplasma eucariótico van a tener un papel clave en la inhibición de la fagocitosis, el bloqueo de la respuesta inflamatoria y la inducción de apoptosis en macrófagos.

##### 5.4.1. Inhibición de la fagocitosis.

YopH es una tirosín-fosfatasa que desfosforila  $p130^{cas}$ , paxilina y la quinasa de adhesión focal (FAK, *focal adhesion kinase*), lo que conduce a la rotura de la adhesión focal, lo que resulta en una inhibición de la fagocitosis (FIG. 14).

La proteína Fyb, de unión a Fyn, y la proteína SKAP-HOM interaccionan entre si y resultan fosforiladas en respuesta a la adhesión del macrófago, y su desfosforilación por YopH le permite a *Yersinia* interferir en la vía de transducción de señales regulada por adhesión en macrófagos (FIG. 14). Así, YopH también bloquea otras respuestas asociadas con la fagocitosis, como son la producción de radicales libres de oxígeno por macrófagos y neutrófilos.



**FIG 14.** Dianas de YopE, YopH, YopT y YpkA/YopO. YopH es una potente proteína tirosina fosfatasa que desfosforila tanto a Fak y p130cas en complejos de adhesión focal, como a Fyb y SKAP-HOM en complejos de señalización de adhesión. YopE ejerce una actividad de proteína activadora de GTPasas (GAP) sobre GTPasas monoméricas de la familia Rho (Rho, Rac y Cdc42), y YopT escinde estas mismas GTPasas monoméricas cerca de su extremo carboxilo, lo que las libera de su anclaje a la membrana. YopE y YopT actúan provocando la inactivación de las proteínas Rho y la despolimerización de las fibras de estrés de actina. YopO es una quinasa, con homología a las serin/treonin-quinasas eucariotas, que se activa por la unión a actina y que se une a RhoA y Rac1. Su modo de acción no está claro en la actualidad. Figura de creación propia inspirada en Cornelis *et al.* (2002).

Las otras tres Yops efectoras que inhiben fagocitosis (YopE, YopT y YopO) actúan sobre GTPasas de la familia Rho. Estas GTPasas pertenecen a un numeroso grupo de GTPasas eucarióticas que actúan como interruptores moleculares y controlan eventos clave en la célula a través de la oscilación entre sus formas “on” y “off” de acuerdo al nucleótido unido (Fig 14). El reemplazamiento del nucleótido es catalizado por proteínas especializadas, entre las que se incluyen las proteínas activadoras de GTPasa (GAPs) y el factor intercambiador de nucleótidos de guanina (GEFs). Las proteínas de la familia Rho están ancladas a la cara interna de la membrana plasmática de la célula a través de un grupo prenilo que está unido covalentemente al extremo carboxilo-terminal de la proteína. Este anclaje es esencial para su función. Los miembros de la familia Rho que están implicados en controlar la dinámica del citoesqueleto de actina son Rho,

## **CAJA 1**

### **El ciclo de las GTPasas y la organización del citoesqueleto de actina.**

El estado de la actina fluctúa entre actina monomérica soluble (G-actina) y la actina polimerizada (F-actina), especialmente durante la fagocitosis. Arp2/3 es un complejo proteico que se une al extremo de la F-actina y recluta complejos profilina-actina-ATP. La profilina es un factor de intercambio que une actina-ADP y estimula el intercambio de nucleótido para generar G-actina-ATP. Por otro lado, la cofilina estimula la hidrólisis de actina-GTP a actina-GDP, favoreciendo la despolimerización.

La nucleación de actina y la formación de fibras de estrés, filopodios y lamelipodios son reguladas por las Rho GTPasas Rho, Rac y Cdc42. Las Rho GTPasas actúan como interruptores moleculares que controlan vías de transducción de señales a través de un ciclo en las formas inactiva (unida a GDP) y la activa (unida a GTP). En su estado unido a GTP, estas interaccionan con otras proteínas para inducir una gran variedad de respuestas intracelulares, la función mejor caracterizada es la regulación de la dinámica de actina.

Rho regula el ensamblaje de fibras de estrés contráctiles de actina-miosina, mientras que Rac y Cdc42 regulan la polimerización de actina para formar lamelipodios periféricos, regulando las rugosidades de membrana y la locomoción celular, y Cdc42 regula los filopodios para definir la polaridad del movimiento celular.

La interacción de las Rho GTPasas con la membrana plasmática es mediada por modificaciones postraduccionales con lípidos. En concreto, experimentan geranilgeranilación, catalizada por la geranilgeraniltransferasa tipo I (GGTasa-I), que afecta al residuo de cisteína situado en el motivo CAAX del extremo C-terminal. Como consecuencia de esta prenilación, los tres aminoácidos C-terminales son retirados y la proteína queda anclada a la membrana por el residuo de cisteína.

El ciclo de las Rho GTPasas es regulado por tres grupos de proteínas. Las Rho-GTPasas inactivas son secuestradas de forma soluble en el citoplasma con la formación de un complejo con los inhibidores de disociación del nucleótido de guanina (GDIs, *Guanine nucleotide Dissociation Inhibitors*). Las proteínas ERM estimulan la liberación de GDI de las proteínas Rho, lo que desenmascara el grupo lipófilo isoprenil, facilitando la transferencia de las Rho GTPasas a la

membrana celular. Además, la liberación de GDI permite que las proteínas Rho se asocien con los GEFs (*Guanine nucleotide Exchange Factors*), que estimulan la conversión de Rho-GDP a Rho-GTP. Ahora, las Rho-GTP unidas a membrana interaccionan con las proteínas efectoras para estimular la reorganización del citoesqueleto de actina. La inactivación de las Rho-GTP a Rho-GDP es estimulada por proteínas GAPs (*Rho specific GTPase-activating proteins*), que actúan aumentando la actividad GTPasa intrínseca de las Rho GTPasas. Finalmente, el ciclo se completa cuando las Rho-GDP son extraídas de la membrana celular por las GDI.

---

YopE actúa como una GAP, cambiando RhoA, Rac y Cdc42 a su forma “off” al acelerar la hidrólisis de GTP (FIG 14). YopE se une a la GTPasa e introduce una secuencia que contiene arginina (“*the arginine finger*”) en el sitio catalítico de la GTPasa. Este residuo de arginina (Arg-144) completa el sitio activo y promueve una hidrólisis eficiente de GTP. Este mecanismo de acción de YopE está conservado con el de otras GAPs eucarióticas.

YopT tiene un fuerte efecto despolimerizador sobre la actina, al modificar a las proteínas de la familia-Rho e inducir su liberación de la membrana al citoplasma. YopT es una cisteín-proteasa que rompe RhoA, Rac y Cdc42 cerca del extremo carboxilo terminal, liberándolas de su anclaje a membrana. *In vivo*, YopT parece tener una actividad preferencial hacia RhoA y menor para las otras dos GTPasas.

La proteína efectora YopO tiene un dominio similar a la molécula GDI (*GDP-Dissociation Inhibitor*) con el que interacciona con las RhoGTPasas. Se postula que podría interaccionar con la proteína Rac1 anclada a la membrana, facilitando su liberación y su desactivación.

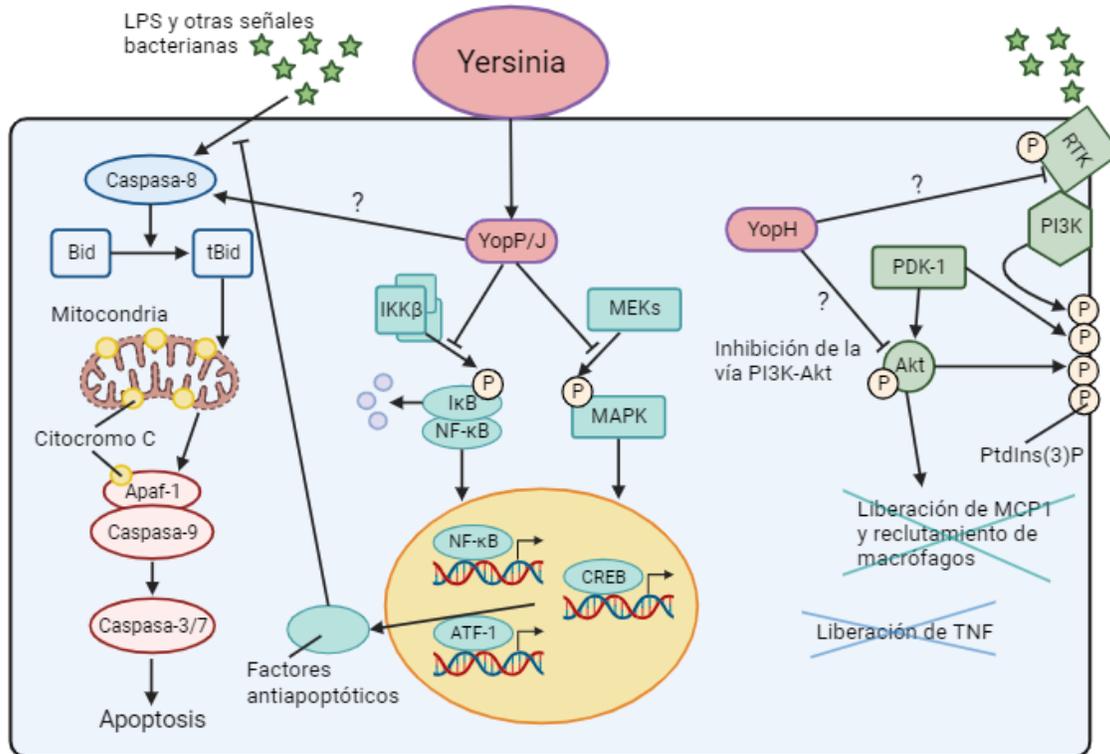
Mutantes de *Yersinia* carentes de cualquiera de estas cuatro Yops resultan mejor fagocitados por PMN y macrófagos que lo son las yersinias normales, lo que indica que cada una de las cuatro Yops contribuyen al efecto antifagocítico y que no hay redundancia entre ellas, más bien habría sinergismo.

Así, la inhibición de la fagocitosis permite a *Yersinia* proliferar en los parches de Peyer (*Peyer's patches*), y otros tejidos más profundos, como microcolonias extracelulares. En este punto, cabe destacar que contrario a lo que ocurre en *Shigella* y *Salmonella*, las que usan el sistema de secreción tipo III para entrar en células no fagocíticas, *Yersinia* utiliza el mismo tipo de sistema para evitar ser tomada por células fagocíticas.

#### 5.4.2. Bloqueo de la respuesta inflamatoria.

Dos efectores intracelulares (YopP y YopH) se han encontrado que son capaces de contrarrestar la respuesta pro-inflamatoria de las células (FIG 15). YoP reduce la liberación de TNF (*tumour-necrosis factor*) (ver CAJA 2) por los macrófagos y la IL-8 por células epiteliales y endoteliales. También reduce la presentación de moléculas de adhesión, tales como ICAM1 (*intercellular adhesion molecule 1*) y E-selectina en la superficie de células endoteliales, y esto probablemente reduce el reclutamiento de PMNs al sitio de infección.

Todos estos eventos son la consecuencia, en parte, de la inhibición de la activación de NF- $\kappa$ B (un factor transcripcional que es central para desencadenar la inflamación). La inhibición de la activación del NF- $\kappa$ B es provocada por YopP al inhibir a la NF- $\kappa$ B quinasa  $\beta$  (IKK $\beta$ ) –una quinasa que fosforila al inhibidor de NF- $\kappa$ B (I $\kappa$ B). Dentro de la vía NF- $\kappa$ B, IKK $\beta$  es un activador y ejerce su efecto fosforilando al inhibidor I $\kappa$ B, que como consecuencia sufre ubiquitinación y degradación. La degradación de I $\kappa$ B deja expuesta la señal de localización nuclear de NF- $\kappa$ B y éste se transloca al núcleo para activar la transcripción. Al impedir la fosforilación de I $\kappa$ B, YopP impide la degradación de I $\kappa$ B y, de esta forma, la traslocación de NF- $\kappa$ B al núcleo (FIG 15).



**FIG 15.** Acción antiinflamatoria de las proteínas Yop. En la infección de macrófagos con *Yersinia enterocolitica*, Bid, un miembro pro-apoptótico de la familia de proteínas Bcl-2, se escinde a su forma trunca pro-apoptótica (tBid), presumiblemente por la caspasa-8 activada. Esta proteína tBid desencadena la liberación de citocromo c de las mitocondrias, el cual activa a Apaf-1 (apoptotic protease activating factor-1), que a su vez activa a la caspasa-9. Como consecuencia de ello se activan las caspasas 3 y 7, lo que desencadena la apoptosis. Se cree que YopP/J puede activar la apoptosis a través de dos vías, bien impidiendo la liberación de factores antiapoptóticos por su capacidad antiinflamatoria (véase más adelante) o a través de una vía más "directa". YopP/J inhibe la migración al núcleo del factor nuclear NF- $\kappa$ B, al impedir la fosforilación de I $\kappa$ B, el inhibidor de NF- $\kappa$ B. Esta inhibición de la fosforilación resulta de la inhibición de la quinasa de I $\kappa$ B (IKK $\beta$ ). YopP/J también inhibe las vías de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) mediante la inhibición de kinasas que actúan por encima de MAPK (MEKs). Como resultado de estas acciones inhibitorias, factores de transcripción como CREB (cAMP-response-element-binding protein) y ATF-1 (activating transcription factor-1), así como el NF- $\kappa$ B no pueden estimular la transcripción de genes implicados en la síntesis de citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión. La relación entre la función proapoptótica (parte izquierda de la figura) y la función antiinflamatoria (parte central de la figura) de YopP/J sigue siendo un misterio, al igual que su modo de acción exacto. YopP/J parece ser una proteasa, posiblemente de la familia de las des-SUMOilantes (donde SUMO es "small ubiquitin-related modifier" o "modificador pequeño relacionado con la ubiquitina"), pero cómo se relaciona la actividad de la proteasa con la inhibición de las vías NF- $\kappa$ B y MAPK es algo que aún se desconoce. La parte derecha de la figura muestra que el contacto del lipopolisacárido (LPS) u otras señales bacterianas con un receptor tirosina quinasa (RTK) no identificado, hace que la fosfatidilinositol-3-quinasa (PI3K) sea reclutada a la membrana. La PI3K activada fosforila fosfoinosítidos lipídicos, lo que conduce a la aparición en la membrana plasmática de fosfatidilinositol-3-fosfatos (PtdIns(3)Ps). Estos, a su vez, reclutan

proteínas como la quinasa PDK-1 (phosphoinositide-dependent kinase-1), que fosforila y activa a Akt (también conocida como proteína quinasa B). La Akt activada, a su vez, puede fosforilar a una serie de proteínas, lo que conduce, entre otros muchos eventos, a la síntesis MCP1 (monocyte chemotactic protein 1) y TNF (tumour necrosis factor). Figura de creación propia inspirada en Cornelis *et al.* (2002).

Además de actuar sobre la vía NF- $\kappa$ B, YopP también inhibe vías de MAPK (*mitogen-activated protein kinase*) mediante la inhibición de MEKs (*MAPK kinases*) que se encuentran por encima en la vía de señalización (FIG 15). Como resultado de estos efectos inhibitorios, activadores transcripcionales tales como la proteína CREB (*cAMP-response-element-binding*) y el factor ATF-1 (*activating transcription factor 1*), al igual que NF- $\kappa$ B, no pueden estimular la transcripción de los genes implicados en la síntesis de citoquinas pro-inflamatorias y de moléculas de adhesión.

Por otro lado, se ha demostrado que YopH previene la síntesis de MCP1 por los macrófagos infectados (FIG 15). Esta inhibición tiene un papel crucial durante la infección al inhibir el reclutamiento de macrófagos a los nódulos linfáticos.

---

## CAJA 2

El TNF- $\alpha$  es una citoquina pro-inflamación y desempeña un papel central en el desarrollo de una respuesta inmunitaria frente a la infección. Secretado principalmente por los macrófagos, el TNF- $\alpha$  actúa sobre varios tipos de células implicadas en los mecanismos de defensa del hospedador. Estimula la actividad microbicida de macrófagos y PMN y actúa sobre las células NK junto con la IL-12 para provocar la liberación de IFN- $\gamma$ , que adicionalmente aumenta la actividad microbicida de los macrófagos. Además, el TNF- $\alpha$  induce la expresión de moléculas de adhesión sobre las células endoteliales y es quimiotáctico para monocitos, contribuyendo así a la amplificación de la actividad microbicida de macrófagos.

---

### 5.4.3. Inducción de apoptosis en macrófagos.

Estudios pioneros en 1986 pusieron de manifiesto que los macrófagos de ratón mueren tras 4-6 horas tras la infección con *Y. pestis* o *Y. pseudotuberculosis*. Posteriormente se vio que una cepa de *Y. pestis* carente del plásmido pCD1 no fue capaz de matar a los macrófagos. En 1997, se describió que los macrófagos infectados por *Yersinia* mueren de apoptosis.

En 2001, se detectó que en los macrófagos infectados por *Yersinia* se producía la rotura de

la proteína Bid (un miembro pro-apoptótico de la familia Bcl-2), un sustrato específico de la caspasa-8, lo que sugirió que era la activación de la caspasa 8 una de las etapas iniciales de la muerte inducida en macrófagos infectados por *Yersinia*. tBid, el producto de degradación de Bid, induce la liberación de citocromo c por la mitocondria. La liberación del citocromo c promueve el ensamblaje del “apoptosoma”, la rotura y activación de la caspasa-9, y finalmente la activación de las caspasas ejecutantes 3 y 7 que producen la muerte celular.

YopP (YopJ en *Y. pestis*) es requerida por las tres especies patogénicas de *Yersinia* para inducir apoptosis en macrófagos. Sin embargo, esta proteína no induce apoptosis en otros tipos celulares.

Como se indicó arriba, YopP inhibe las vías de señalización que operan a través de las quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y por el factor de transcripción NF- $\kappa$ B. Sobre esta base, se ha postulado que YopP induce apoptosis a través de bloquear las proteínas antiapoptóticas que están bajo el control de NF- $\kappa$ B.

Teniendo en cuenta que YopP parece actuar bloqueando las proteínas antiapoptóticas inducidas por la activación del factor NF- $\kappa$ B, es necesario implicar la presencia de un factor apoptótico asociado a la infección por *Yersinia*. Esta molécula podría ser el LPS, un componente de la pared celular de todas las bacterias Gram-negativas. Estudios preliminares han puesto de manifiesto que los macrófagos expuestos a LPS mueren de apoptosis si se bloquea la síntesis de proteínas. LPS estimula la muerte de los macrófagos a través de su interacción con TLR4; sin embargo, esta muerte puede ser inhibida a través de la síntesis de factores antiapoptóticos que se encuentran bajo el control transcripcional de NF- $\kappa$ B. Hay que tener en cuenta, que el LPS es un inductor de una respuesta pro-inflamatoria mediada a través de señalización por el factor NF- $\kappa$ B. De hecho, los macrófagos deficientes en TLR4 son menos sensibles a la apoptosis inducida por *Yersinia*. Entre los inhibidores de la apoptosis que son regulados por NF- $\kappa$ B están: c-FLIP, que interfiere con la activación de la caspasa-8; miembros de la familia Bcl-2, que inhiben la apoptosis al impedir la despolarización de la mitocondria y la liberación de citocromo c.

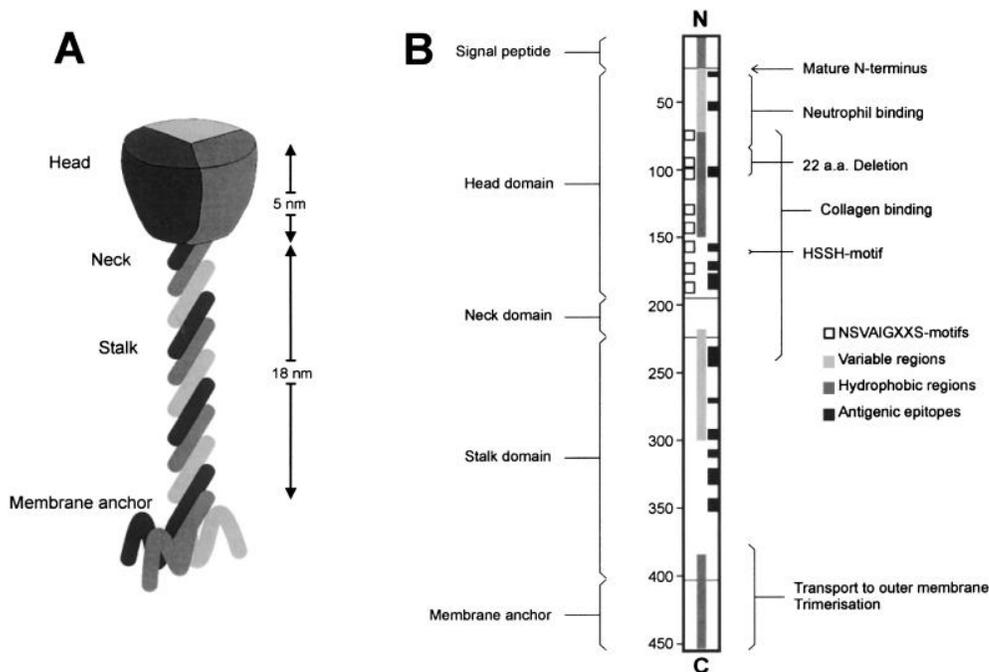
Así, en conjunto, estas Yops están dedicadas a frustrar al macrófago, por un lado bloquean su aparato de fagocitosis y, por otro, lo inducen a suicidarse.

### 5.5. La proteína YadA.

La proteína YadA (FIG 16) es una proteína mayoritaria de la membrana externa que forma una matriz fibrilar sobre la superficie de *Y. enterocolitica* y *Y. pseudotuberculosis*, cuando son cultivadas a 37°C.

El nombre YadA fue dado por "*Yersinia adhesin*", dado que su presencia hace a la bacteria adherente a las células epiteliales. YadA es también responsable de una marcada autoaglutinación y por la unión a las fibras de colágeno y a la fibronectina.

Aunque estas propiedades tienden a sugerir que YadA podría ser un factor de colonización, algunas observaciones indican que, al menos en *Y. enterocolitica*, YadA desempeña un papel mayoritario en la defensa frente a la respuesta inmunitaria no específica. De hecho, la presencia de YadA, debido a su unión al factor H, reduce la deposición de C3b en la superficie de *Y. enterocolitica*. Esto tiene dos consecuencias: (1) inhibe la formación del complejo de ataque a la membrana del complemento, lo que inhibe la muerte de la bacteria; (2) impide la opsonización, lo que drásticamente reduce la fagocitosis y muerte por leucocitos polimorfonucleares.

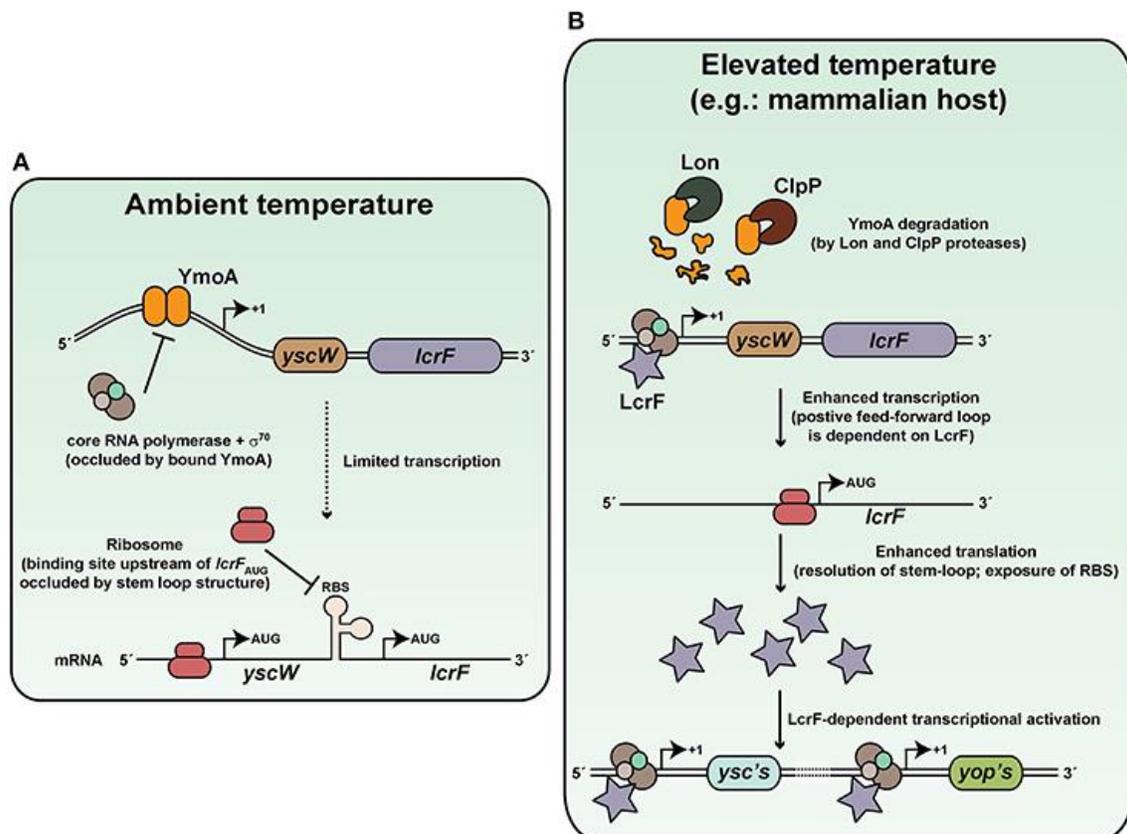


**FIG 16.** Estructura molecular (tridimensional y lineal) propuesta para la proteína YadA, necesaria para establecer el contacto íntimo entre *Yersinia* y la célula diana. Figura de El Tahir, Y. & Skurnik (2001).

## 6. Regulación de los genes de virulencia.

En 1986 mediante estudios de mutagénesis con el transposón Tn5 en *Y. pestis* identificaron el gen *lcrF* como un locus responsable de la activación transcripcional de los genes *yop* (FIG. 17).

Posteriormente, se descubrió el homólogo en *Y. enterocolitica* que se denominó *virF*. El gen *virF* codifica un activador transcripcional de 30-kDa que controla la expresión de los genes *yop*, de *yadA* y también del operón *virC* (donde se encuentran los genes *Ysc*, que codifican para las proteínas que forman el inyectosoma), además de su propia síntesis. La proteína VirF pertenece a la familia AraC de reguladores. Esta larga familia incluye reguladores de las vías degradativas en *E. coli* al igual que reguladores implicados en el control de virulencia de *Shigella*, *Yersinia* y *Pseudomonas*.



**FIG 17.** Termorregulación de la secreción de Ysc-Yop tipo III por *Yersinia*. La termorregulación de la secreción de Ysc-Yop tipo III está mediada por el control del activador transcripcional, LcrF. (A) A temperatura ambiente, la transcripción del operón *yscW-lcrF* es inhibida por la proteína de unión a ADN YmoA. Además, se produce una inhibición post-transcripcional como resultado de la formación de un stem-loop en el ARNm dentro de la región intergénica entre las regiones codificantes para *yscW* e *lcrF*. (B) La desregulación se produce a temperaturas elevadas porque la afinidad de YmoA por el promotor del operón *yscW-lcrF* disminuye drásticamente en esas condiciones, lo que promueve la transcripción del operón. Además, la temperatura elevada deshace

la estructura stem-loop de los transcritos de ARNm, de modo que puede tener lugar la traducción de LcrF. Esto da lugar a una cascada de autorregulación positiva que potencia la transcripción de LcrF. La acumulación de LcrF produce una activación transcripcional de los promotores *ysc* y *yop*. Figura obtenida de Chen *et al.* (2016)

VirF actúa como una proteína de unión a DNA. Experimentos de “footprinting” con DNasaI mostraron que VirF se une en una región de los promotores de los genes *yopE*, *yopH*, *virC* y otros, unos 40-pb por encima del sitio de unión de la RNA polimerasa.

La transcripción de los genes *yop* y *vir*, incluyendo *virF*, es fuertemente termodependiente (FIG 17). La transcripción del gen *virF* clonado en una cepa de *Y. enterocolitica* curada del plásmido pYV es termodependiente, lo que indica que *virF* es en sí termorregulado por un gen cromosomal.

Experimentos de mutaciones con transposones pusieron de manifiesto un gen modulador, situado en el cromosoma, que se llamó *ymoA* (*Yersinia modulator*). Este gen codifica una proteína de 8064 daltons extremadamente rica en residuos cargados positiva y negativamente.

El hecho de que *virF* esté termorregulado puede explicar por qué las Yops son sólo producidas a 37°C. Sin embargo, parece ser que la temperatura desempeña un papel adicional en la regulación de estos genes.

De hecho, cuando *virF* es transcrito a bajas temperaturas a partir de un promotor diferente al suyo, los genes *yop* y *yadA* son transcritos pobremente y no se traducen las Yops. Esta transcripción pobre a 25°C del regulón *yop* en presencia de VirF puede ser debida a una conformación inadecuada del promotor. La hipótesis más probable es que la temperatura, de alguna forma, podría modificar la estructura de la cromatina, haciendo que los promotores sean más accesibles a VirF. Datos experimentales indican que la temperatura altera el superenrollamiento y la curvatura del DNA donde interacciona VirF, quizás al retirar un represor, que podría ser YmoA, de las regiones promotoras de los genes regulados por VirF.

## **7. Alteraciones producidas por *Y. pestis* en su vector para favorecer la transmisión.**

A primera vista, se podría pensar que los insectos que transmiten patógenos, como es el caso de *Y. pestis*, actúan de vehículos o vectores de transmisión mientras que el patógeno se deja llevar, en una actitud pasiva. Pero cuando se profundiza en el estudio de la interacción que existe

entre el patógeno y su vector, queda claro la existencia de una interacción activa por parte de la bacteria y la relevancia que la interacción tiene para la transmisión a los hospedadores mamíferos. Esto resulta evidente en el caso de la infección por *Y. pestis*, cuya infección no es posible si la bacteria en cultivo es depositada de forma intradermal en el hospedador.

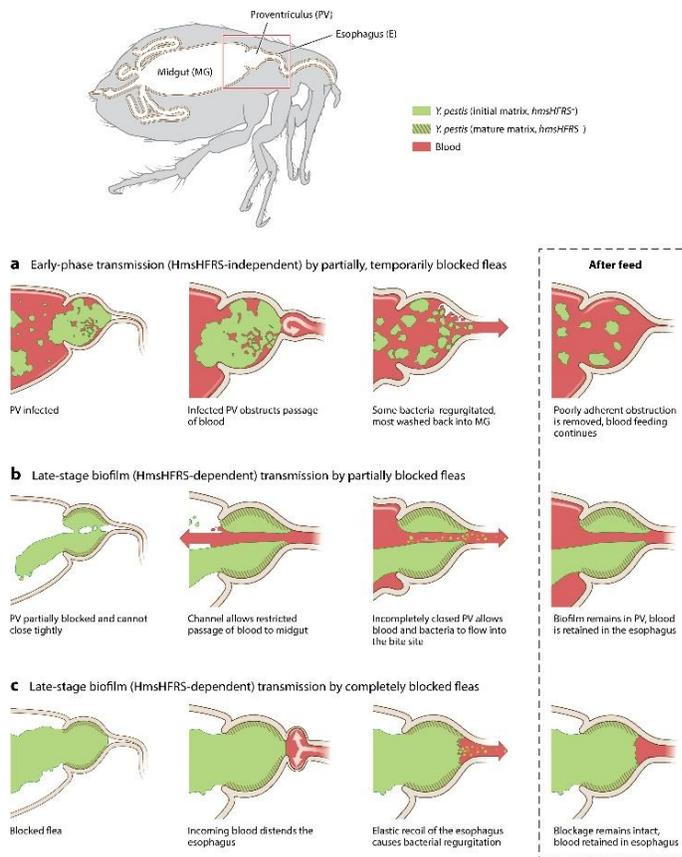
*Y. pestis* se mantiene siempre en el tubo digestivo de la pulga, desde donde será transmitido. La pulga hace ingestas pequeñas de sangre (entre 0,1 y 0,4  $\mu$ ), pero con mucha frecuencia. Una vez realizada la ingestión, se produce la liberación de tripsina y otras proteasas destinadas a hidrolizar las proteínas de la sangre. La digestión se completa en unas 24 horas. Por otro lado, la pulga cuenta con su propia flora intestinal (microbiota), donde son abundantes bacterias de los géneros *Rickettsia*, *Wolbachia* y *Bartonella*.

Así, una vez que la *Y. pestis* accede al tubo digestivo del insecto como parte de la ingesta de sangre, la bacteria debe evitar su destrucción y eliminación por las heces al tiempo que genera las condiciones que favorezcan su transmisión a un nuevo hospedador.

Poco después de la ingestión de *Y. pestis* junto a la sangre, se observa la formación de agregados de bacterias situadas dentro de una matriz amorfa. Estos agregados, con características de biofilm, se localizan en la parte anterior del tubo digestivo (el proventrículo), donde parecen adherirse. Según va creciendo, este agregado va a impedir que la válvula proventricular pueda cerrarse y termina además bloqueándola, lo que favorece la regurgitación de estos agregados en la dermis del mamífero cuando las pulgas intentan alimentarse (FIG 18, 19 y 20) Además, como el bloqueo impide alimentarse adecuadamente a la pulga, esta comienza a picar frenéticamente en múltiples sitios, lo que favorece la transmisión de la bacteria.

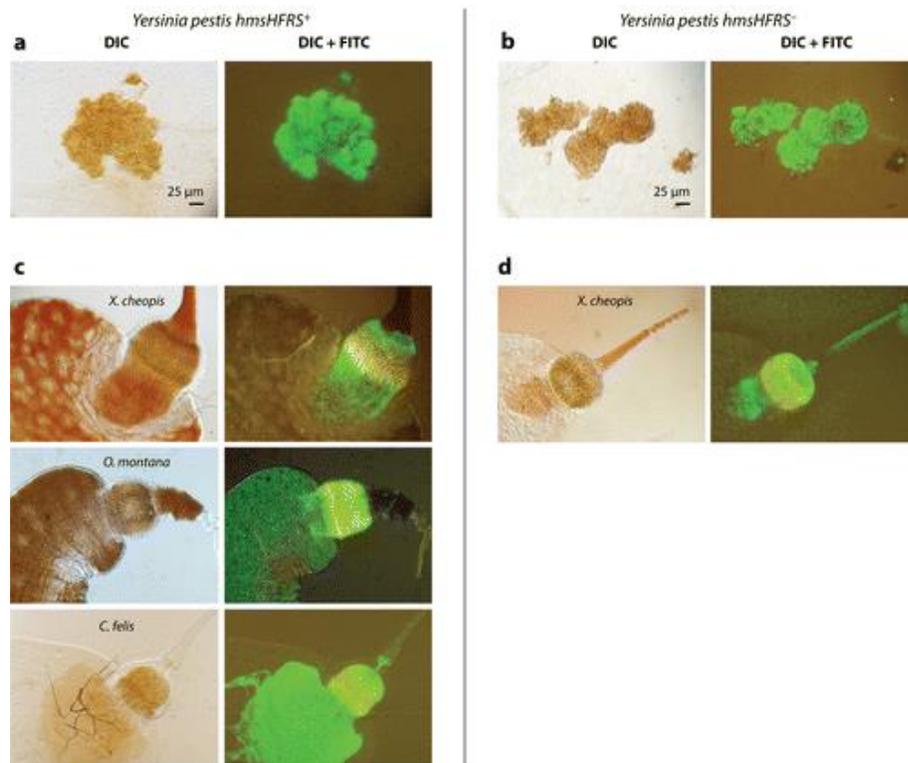


**FIG 18.** Bloqueo total del proventrículo de la pulga *Oropsylla montana* por parte de *Yersinia*, impidiendo el paso de la sangre al intestino. Figura de Hinnebusch *et al.* (2017).



Hinnebusch BJ, et al. 2017.  
Am J Trop Med Hyg. 96:321-327

**FIG 19.** Modelos de transmisión de *Yersinia* en pulgas. La expresión del operón hmsHFRS es vital para la colonización persistente del proventrículo e impedir el paso de sangre al tubo digestivo posterior. Figura de Hinnebusch *et al.* (2017).



Hinnebusch BJ, et al. 2017. Annu. Rev. Microbiol. 71:215-32

**FIG 20.** Agregados de *Yersinia* en el tubo digestivo, especialmente en el proventrículo, de distintas especies de pulgas. Figura de Hinnebusch *et al.* (2017).

## Bibliografía

-Alderson J, Quastel M, Wilson E, Bellamy D. Factors influencing the re-emergence of plague in Madagascar. *Emerg Top Life Sci.* (2020). Dec 11;4(4):411-421. doi: 10.1042/ETLS20200334. PMID: 33258957; PMCID: PMC7733672.

-Baldwin, M.R. and Barbieri, J.T. (2005) The type III cytotoxins of *Yersinia* and *Pseudomonas aeruginosa* that modulate the actin cytoskeleton. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 291: 147-166.

-Barbieri R, Signoli M, Chev e D, Costedoat C, Tzortzis S, Aboudharam G, Raoult D, Drancourt M. (2020). *Yersinia pestis*: the Natural History of Plague. *Clin Microbiol Rev.* Dec 9;34(1):e00044-19. doi: 10.1128/CMR.00044-19. PMID: 33298527; PMCID: PMC7920731.

-Bonczarowska JH, Susat J, Krause-Kyora B, Dangvard Pedersen D, Boldsen J, Larsen LA, Seeberg L, Nebel A, Unterweger D. (2023) Ancient *Yersinia pestis* genomes lack the virulence-associated YpfΦ prophage present in modern pandemic strains. *Proc Biol Sci.* Jul 26;290(2003):20230622. doi: 10.1098/rspb.2023.0622. Epub 2023 Jul 19. PMID: 37464758; PMCID: PMC10354491.

- Carniel, E. (2002) Plasmids and pathogenicity islands of *Yersinia*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 264: 89-108.
- Chen, S., Thompson, K.M. & Francis, M.S. (2016). Environmental Regulation of *Yersinia* Pathophysiology. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6.
- Cornelis, G.R. (1994) *Yersinia* pathogenicity factors. *Cur. Top. Microbiol. Immunol.* 192: 243-263.
- Cornelis, G.R., Boland, A., Boyd, A.P., Geuijen, C., Iriarte, M., Neyt, C., Sory, M.-P. and Stainier, I. (1998) The virulence plasmid of *Yersinia*, an antihost genome. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 1315-1352.
- Cornelis, G.R. (2000) Molecular and cell biology aspects of plague. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97: 8778-8783.
- Cornelis, G.R. (2002). *Yersinia* type III secretion: send in the effectors. *The Journal of Cell Biology*, 158(3): 401-408. doi: 10.1083/jcb.200205077.
- Cornelis, G.R. (2002) The *Yersinia* Ysc-Yop 'type III' weaponry. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 3: 742-752.
- Cornelis, G.R. (2006). The type III secretion injectisome. *Nat Rev Microbiol* 4: 811-825.
- Dewoody, R.S., Merritt, P.M. & Marketon, M.M. (2013). Regulation of the *Yersinia* type III secretion system: traffic control. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3: 4. doi: 10.3389/fcimb.2013.00004.
- Donnenberg, M.S. (2000) Pathogenic strategies of enteric bacteria. *Nature* 406: 768-774.
- Duan, Q., Zhang, W. (2018). Structure, Enterotoxicity, and Immunogenicity of Enterotoxigenic *Escherichia coli* Heat-Stable Type I Toxin (STa) and Derivatives. In: Stiles, B., Alape-Girón, A., Dubreuil, J., Mandal, M. (eds) *Microbial Toxins. Toxinology*. Springer, Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-6449-1\\_31](https://doi.org/10.1007/978-94-007-6449-1_31)
- El Tahir, Y. & Skurnik, M. (2001). YadA, the multifaceted *Yersinia* adhesin. *International Journal of Medical Microbiology : IJMM*, 291(3): 209-218. doi: 10.1078/1438-4221-00119.
- Feldman, M.F., Müller, S., Wüest, E. & Cornelis, G.R. (2002). SycE allows secretion of YopE-DHFR hybrids by the *Yersinia enterocolitica* type III Ysc system. *Molecular Microbiology*, 46(4): 1183-1197. doi: 10.1046/j.1365-2958.2002.03241.x.
- Fell HG, Jones M, Atkinson S, Stenseth NC, Algar AC. (2023). The role of reservoir species in mediating plague's dynamic response to climate. *R Soc Open Sci.* May 17;10(5):230021. doi: 10.1098/rsos.230021. PMID: 37206964; PMCID: PMC10189594.
- Grassl, G.A., Bohn, E., Müller, Y., Bühler, O.T. y Autenrieth, I.B. (2003). Interaction of *Yersinia enterocolitica* with epithelial cells: invasin beyond invasion. *International Journal of Medical Microbiology*, 293(1): 41-54. doi: 10.1078/1438-4221-00243.

- Hinnebusch, B.J., Bland, D.M., Bosio, C.F. & Jarrett, C.O. (2017). Comparative Ability of *Oropsylla montana* and *Xenopsylla cheopis* Fleas to Transmit *Yersinia pestis* by Two Different Mechanisms. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 11(1): e0005276. doi: 10.1371/journal.pntd.0005276.
- Hinnebusch, B.J., Jarrett, C.O. & Bland, D.M. (2017). "Fleaing" the Plague: Adaptations of *Yersinia pestis* to Its Insect Vector That Lead to Transmission. *Annual Review of Microbiology*, 71: 215-232. doi: 10.1146/annurev-micro-090816-093521.
- Isberg, R.R. (1996) Uptake of enteropathogenic *Yersinia* by mammalian cells. *Cur. Top. Microbiol. Immunol.* 209: 1-24.
- McEvedy, C. (1988) La Peste Negra. *Investigación y Ciencia* 139: 82-87.
- Qin J, Shi L, Wu Y, Kong J, Qian X, Zhang X, Zuo X, Fan H, Guo Y, Cui M, Dong S, Tan H, Zhong Y, Song Y, Yang R, Wang P, Cui Y. (2023). Genomic epidemiological analysis of county-scale *Yersinia pestis* spread pattern over 50 years in a Southwest Chinese prefecture. *PLoS Negl Trop Dis.* Aug 7;17(8):e0011527. doi: 10.1371/journal.pntd.0011527. PMID: 37549110; PMCID: PMC10406180.
- Qin J, Wu Y, Shi L, Zuo X, Zhang X, Qian X, Fan H, Guo Y, Cui M, Zhang H, Yang F, Kong J, Song Y, Yang R, Wang P, Cui Y. (2023). Genomic diversity of *Yersinia pestis* from Yunnan Province, China, implies a potential common ancestor as the source of two plague epidemics. *Commun Biol.* Aug 15;6(1):847. doi: 10.1038/s42003-023-05186-2. PMID: 37582843; PMCID: PMC10427647.
- Parker CE, Hiss AN, Spyrou MA, Neumann GU, Slavin P, Nelson EA, Nagel S, Dalidowski X, Friederich S, Krause J, Herbig A, Haak W, Bos KI. (2023). 14th century *Yersinia pestis* genomes support emergence of *pestis secunda* within Europe. *PLoS Pathog.* Jul 18;19(7):e1011404. doi: 10.1371/journal.ppat.1011404. PMID: 37463152; PMCID: PMC10414589.
- Ramamurthi, K.S. and Schneewind, O. (2003) Substrate recognition by the *Yersinia* type III protein secretion machinery. *Mol. Microbiol.* 50: 1095-1102.
- Sannö A, Rosendal T, Aspán A, Backhans A, Jacobson M. (2023). Comparison of Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Profiles of Enteropathogenic *Yersinia* spp. Obtained from Humans, Domestic Pigs, Wild Boars, Rodents, Pork and Dog Food. *Animals (Basel).* Sep 29;13(19):3055. doi: 10.3390/ani13193055. PMID: 37835661; PMCID: PMC10571951.
- Viboud, G.I. and Bliska, J.B. (2005) *Yersinia* outer proteins: role in modulation of host cell signaling responses and pathogenesis. *Annu. Rev. Microbiol.* 59: 69-89.
- Yang R, Atkinson S, Chen Z, Cui Y, Du Z, Han Y, Sebbane F, Slavin P, Song Y, Yan Y, Wu Y, Xu L, Zhang C, Zhang Y, Hinnebusch BJ, Stenseth NC, Motin VL. (2023). *Yersinia pestis* and

Plague: some knowns and unknowns. *Zoonoses (Burlingt)*;3(1):5. doi: 10.15212/zoonoses-2022-0040. Epub Jan 19. PMID: 37602146; PMCID: PMC10438918.

-Zhang, Y. and Bliska, J.B. (2005) Role of macrophage apoptosis in the pathogenesis of *Yersinia*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 289: 151-173.

## **Webgrafia**

-<https://www.uniprot.org/uniprotkb/P07593>