

TEMA 1.

Introducción a la microbiología

Ingrid Gabriela Cazacu, Marina Ramírez Nieto, Ana
Isabel Espinosa López, Paloma Arzeno de Siles

Microbiología clínica

Grado en Bioquímica

Departamento de Biología Molecular

JMRR-UAM © 2025

ÍNDICE

1. Descripción de la asignatura Microbiología clínica.	3
2. Un poco de historia.....	3
3. Origen de las principales enfermedades infecciosas en humanos.....	14
4. Relación patógeno-hospedador	15
4.1. Infección y enfermedad.....	19
4.2. La respuesta inmunológica.....	20
4.3. La patogénesis como consecuencia directa de la interacción hospedador-patógeno.	21
5. Infección y autoinmunidad.....	23
5.1. Impacto del microbioma sobre la salud.....	26
6. El sistema del complemento y su evasión por los organismos patógenos.....	30
6.1. Características generales del sistema del complemento.....	30
6.2. Mecanismos de evasión del complemento.	34
6.3. Modulación del sistema del complemento por patógenos.....	35
7. Respuesta inmunitaria innata a nivel intracelular.....	36
7.1. Tipos de PRRs.....	37
7.2. Señalización de PRRs.....	41
Complejo de inflamósomas	42
7.3. Regulación de la señalización de PRRs	43
8. Conceptos de virulencia y patogenicidad.	44
9. Estrategias de lucha contra las enfermedades infecciosas y vacunas	44
10. Resistencia a fármacos.....	48
10.1 Mecanismo de resistencia de <i>S. aureus</i> a meticilina	50
10.2 Regulación de la resistencia a meticilina	53
Ejemplo virus de la gripe tipo A	55
10.3 Mecanismos de resistencia del virus de la gripe a adamantanos.....	55
11. Diagnóstico.....	57
Técnicas immunocromatográficas.....	59
Métodos colorimétricos.....	59
Métodos de imagen	60
Citometría de flujo.....	60
Bioluminiscencia.....	60
Microfluídica	61
REFERENCIAS	62

1. Descripción de la asignatura Microbiología clínica.

La génesis de esta asignatura se sitúa en el curso 1997-98, cuando empezó a impartirse como asignatura optativa de la Licenciatura de Bioquímica (Departamento de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid). El nombre inicial de la asignatura fue Microbiología, Virología y Parasitología clínica. Su temario hacía un recorrido por los principales agentes infecciosos de humanos, conocidos tanto por su elevada incidencia como por las graves patologías que producen. Así, el temario ya incluía un tema sobre priones, y diversos temas de virus, bacterias y parásitos. Dentro de estos últimos se dedicaba especial atención a los protozoos (o protistas).

En el curso 2013-14, en paralelo a los cambios en el modelo educativo acaecido en la Universidad española, esta asignatura se comienza a impartir como optativa en el Grado en Bioquímica, cuando adquiere la denominación actual, Microbiología clínica. Se mantiene esencialmente el temario, aunque se han producido algunas substituciones de temas en los bloques de virus y bacterias, dictados fundamentalmente por cambios en la incidencia y patogenicidad observados en estos años.

La asignatura está diseñada dentro del campo de la Biología Molecular (ámbito en el que están formados los estudiantes que cursan la asignatura), por lo que se dedica especial atención a los aspectos moleculares más relevantes de estos organismos patógenos. Si bien, el objetivo último es intentar correlacionar los aspectos moleculares de los patógenos con las patologías ocasionadas en el hospedador. Otro aspecto fundamental en la asignatura es la respuesta inmunitaria del hospedador, que, siendo un sistema de defensa frente al organismo invasor, es causante, en ocasiones, de los procesos patológicos asociados a una determinada enfermedad infecciosa. Otros aspectos que se abordan en la asignatura son el diagnóstico, el desarrollo de fármacos y las vacunas.

En definitiva, el objetivo de la asignatura es el de introducir al alumno de Bioquímica en un área amplia del conocimiento científico, donde la ciencia básica y la ciencia aplicada tratan de aunar esfuerzos.

2. Un poco de historia.

Probablemente, uno de los hitos más importantes en la lucha contra las enfermedades infecciosas fue el desarrollo de la vacunación.

Anteriormente, para combatir la viruela, se practicaba la inoculación deliberada (variolización) del virus de la viruela en personas susceptibles en África, China y la India, con los primeros registros alrededor del siglo XI d.C. Esta técnica consistía en inducir la inmunidad mediante una infección menos grave que la experimentada por las personas que la adquirían naturalmente, mediante la introducción de restos de pústulas humanas por las fosas nasales o, posteriormente, mediante inyección. De Asia llegó hasta Persia y Turquía, donde sería adoptada por Lady Mary Wortley Montagu, esposa del Embajador británico en Constantinopla, que inmunizó a sus propios hijos y, a su vuelta a Londres, divulgó la técnica entre la sociedad hasta que quedó establecida en 1721. Sin embargo, la variolización no presentaba la misma seguridad que una vacunación; las personas inoculadas podían transmitir la viruela a personas de la misma comunidad que no estaban protegidas.

En 1796, el científico inglés Edward Jenner, puso en práctica el primer sistema de vacunación a partir de la observación de que los ordeñadores expuestos a la viruela vacuna no contraían la terrible viruela. En 1798, Jenner publicó la observación de que la inoculación intencionada a individuos con el material obtenido de lesiones de la viruela bovina (vaccinia) podía protegerlos contra la infección posterior por el virus de la viruela humana. Su descubrimiento fue puramente empírico dado que no tenía los conocimientos teóricos sobre los mecanismos biológicos de resistencia a la enfermedad, ni siquiera que la enfermedad fuera causada por gérmenes infecciosos, cuya existencia por entonces se desconocía. No obstante, estos experimentos sentaron las bases sobre las que posteriormente evolucionó el concepto de vacunación, hasta llegar a la administración moderna del virus vivo de la vaccinia.

La relevancia de los experimentos de Jenner pronto fue percibida por la comunidad científica internacional y algunos gobiernos. Un ejemplo lo encontramos en la conocida como “La Real Expedición Filantrópica de la Vacuna”, conocida también como Expedición Balmis, en referencia al médico español Francisco Javier Balmis. Esta fue una expedición de carácter filantrópico que, entre los años 1803 y 1806, dio la vuelta al mundo. Su objetivo era en principio que la vacuna de la viruela alcanzase todos los rincones del Imperio español, ya que la alta tasa de mortalidad del virus estaba ocasionando la muerte de miles de niños. Esta expedición fue sufragada con fondos públicos por el rey Carlos IV, que había perdido a una de sus hijas por la viruela, María Teresa.

Uno de los principales problemas que se presentaron a la hora de idear la expedición fue cómo conseguir que la vacuna resistiese todo el trayecto en perfecto estado. La solución se le ocurrió al mismo Balmis: llevar en el viaje a un número de niños, e ir pasando cada cierto tiempo la vacuna de uno a otro, mediante el contacto de las heridas. La vacuna debía ser llevada por niños que no hubieran pasado la viruela y se transmitía de uno a otro cada 9 o 10 días. Así, se seleccionaron 22 niños de un orfanato, que al cuidado de la enfermera Isabel Zendal viajaron en una corbeta con destino al Nuevo Mundo.

La misión consiguió llevar la vacuna hasta las islas Canarias, Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Nueva España (Méjico), las Filipinas y China.

La aplicación generalizada de la vacuna permitió erradicar esta enfermedad, hecho que fue decretado oficialmente por la OMS el 8 de mayo de 1980.

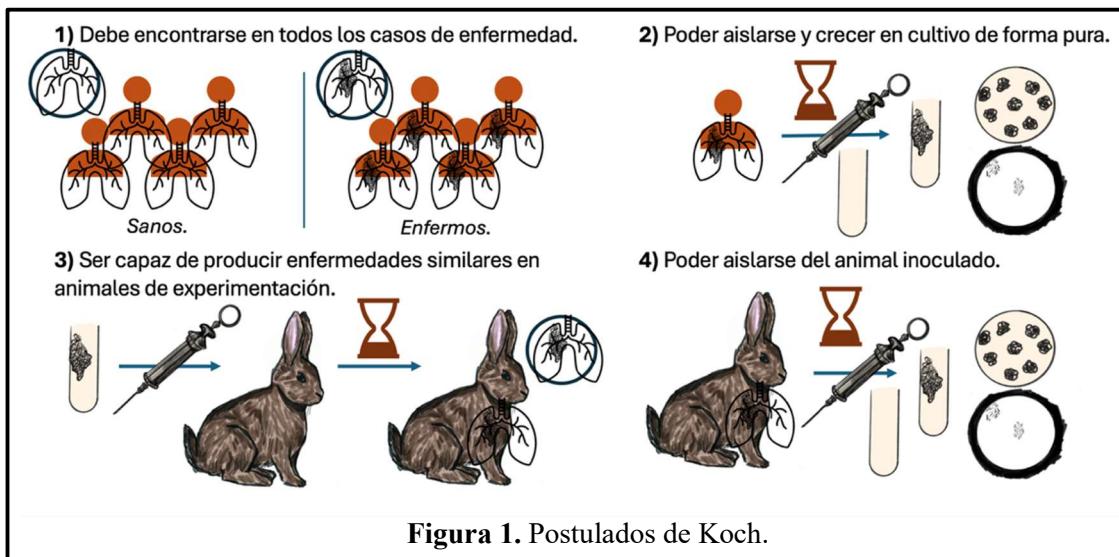
Resulta curioso que todo este procedimiento de prevención, que salvó muchísimas vidas, se hiciera sin conocer la naturaleza del agente infeccioso y la razón por la que se generaba, con esta práctica, un estado de protección.

La teoría de los gérmenes como causantes de las enfermedades fue establecida en la segunda mitad del siglo XIX a través de los trabajos de Luis Pasteur y Robert Koch.

Pasteur puso de manifiesto la inmensidad del mundo microbiano y de sus múltiples aplicaciones. Por ejemplo, él descubrió que los microbios eran los responsables de la fermentación de azúcar en alcohol y de la acidificación de la leche. Él también desarrolló el tratamiento térmico (pasteurización) de la leche, que mataba los microorganismos, y así se impedía la transmisión de enfermedades como la tuberculosis o el tifus. También desarrolló vacunas veterinarias contra el ántrax (carbunco, en español) y la rabia. Estos descubrimientos le generaron una gran estima por parte de sus conciudadanos que, a través de una subcripción popular, reunieron los fondos para la construcción del famoso Instituto Pasteur.

Quizás la contribución más importante de Koch fue conceptual. Él definió una serie de criterios lógicos y experimentales, posteriormente conocidos como los “postulados de Koch”, como una serie de estándares para los científicos para probar si un determinado organismo era el causante de una determinada enfermedad. Así, para que un organismo pueda ser considerado como agente causal de una enfermedad debe cumplir

los siguientes cuatro postulados (Fig. 1) 1) debe encontrarse en todos los casos de enfermedad; 2) poder aislarse y crecer en cultivo de forma pura; 3) ser capaz de producir enfermedades similares en animales de experimentación; 4) poder aislarse del animal inoculado. Además, en 1882 identificó la bacteria causante de la tuberculosis y posteriormente la del cólera. Por sus trabajos en tuberculosis, en 1905, recibió el premio Nobel en Medicina y Fisiología (este galardón comenzó a concederse en 1901, cuando ya Pasteur había muerto).

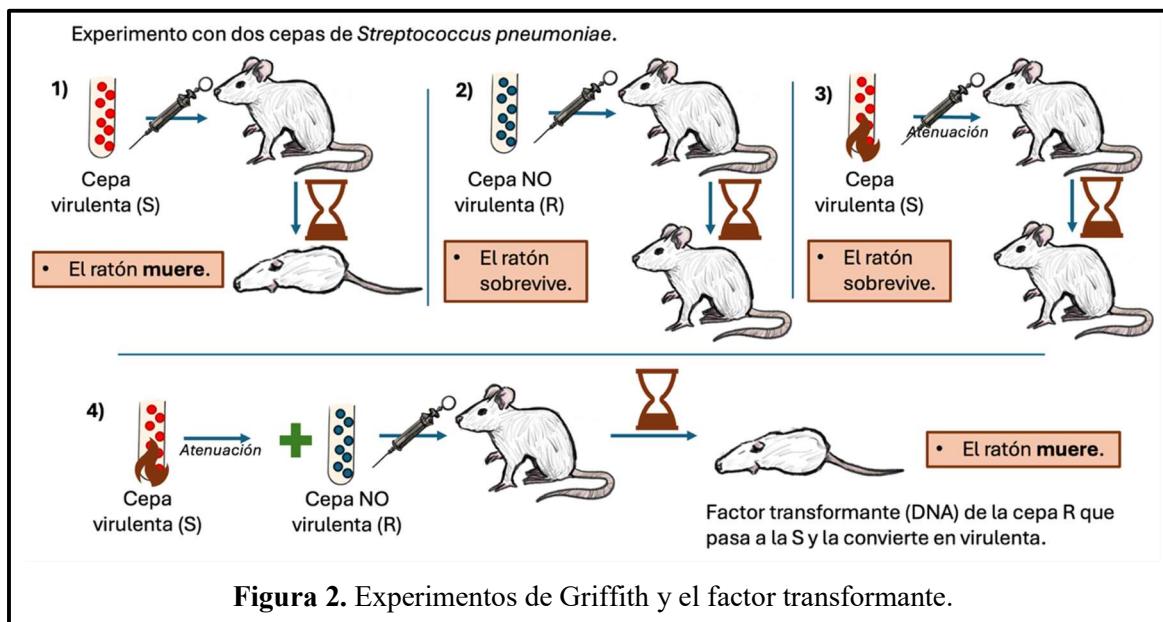


En 1892, el ruso Dmitri Ivanowski y el holandés Martinus Beijerinck, descubrieron la existencia de microbios más pequeños que las bacterias, por su capacidad de atravesar filtros que éstas no podían. Estos agentes, tan pequeños que no podían ser visualizados por los microscopios, los llamaron virus filtrables. El primer virus identificado fue el virus del mosaico del tabaco.

Durante el periodo de 1880 al 1940 comenzó la “caza del microbio”, descubriendose un gran número de ellos. En este periodo, la mayoría de las bacterias causantes de enfermedad fueron identificadas. Pero, sin embargo, los microbios eran ignorados por la mayoría de los biólogos. La microbiología médica era tenida como una especialidad de medicina, y no era enseñada fuera de ella.

En este contexto resulta irónico que el principio fundamental de la biología molecular –que la información genética se encuentra en la secuencia de nucleótidos del DNA- se obtuviera a partir de estudios sobre tipos serológicos de pneumococos. El descubrimiento clave fue iniciado en 1928 por el médico Frederick Griffith (Fig. 2). Él encontró que los extractos de una cepa patogénica de pneumococos eran capaces de

transformar una cepa inocua en patogénica. La carrera fue entonces la de identificar el factor transformante en los extractos. En 1944, Oswald Avery, Colin MacLeod y Maclyn McCarty publicaron que era el DNA el factor transformante.



Estos descubrimientos reavivaron el interés sobre el estudio de la biología de las bacterias. Y en los años siguientes las bacterias, y los virus, desempeñaron un papel estelar en los estudios de Genética o Biología molecular y, en los últimos años, también en la Biotecnología.

Los años 50 son destacables por el descubrimiento de una serie de antibióticos (penicilina, estreptomicina, cloranfenicol y otros) muy eficaces para combatir enfermedades causadas por bacterias, tales como la sífilis y la tuberculosis. Previamente —en la década de 1930—, se había recurrido a sulfonamidas como el Prontosil, descubierto y utilizado como un colorante en sus inicios, aunque su uso continuado ocasionaba graves efectos secundarios por su composición de aminas aromáticas. También en estos años se descubrió el DDT (*dichlorodiphenyltrichloroethane*), un insecticida muy poderoso con el que se dio por hecho que se podría acabar con la malaria mediante la destrucción del insecto vector, el mosquito *Anopheles*. El empleo de esta sustancia también permitiría acabar con cualquier otra enfermedad transmitida por insectos, que son muchas.

Además, se comenzaron a desarrollar vacunas eficaces contra patógenos virales, como la vacuna contra el virus de la polio desarrollada por Jonas Salk y Albert Sabin. Además, vacunas clásicas, entre las que se encuentra la vacuna contra la viruela de Jenner,

se empezaron a aplicar a una gran proporción de la población a través de campañas de salud, muchas veces con excelentes resultados. A finales de los años 70, la viruela se convirtió en la primera enfermedad en ser erradicada con la experiencia humana.

Con todos estos avances, se generó una ola de optimismo que llevó a pensar que las enfermedades infecciosas estaban a punto de ser resueltas. De hecho, en una Asamblea de Naciones Unidas sobre Sanidad Mundial (Alma-Ata, 1979) se planteó el objetivo de conseguir un mundo libre de enfermedades infecciosas para el año 2000. Esto condujo a que muchos investigadores cambiaron su campo de investigación hacia otros problemas de salud como las enfermedades cardíacas, el cáncer y los desórdenes psiquiátricos.

Este optimismo desmesurado se paró de golpe en 1981 con el reconocimiento del SIDA. Desde entonces, esta pandemia se extendió por todos los continentes con terribles costes en vidas. La lucha contra el SIDA y el estudio del HIV ha concentrado el programa de investigación biomédica más importante de la historia, aunque éstos siguen desafiando nuestros contraataques.

Su extensión ha coincidido con otra llamada de atención: el problema creciente de la aparición de microorganismos resistentes a los antibióticos. Esto fue una consecuencia predecible del proceso evolutivo que ha operado sobre los microbios sometidos a la presión selectiva de los antibióticos. De hecho, Alexander Fleming, quién descubrió la penicilina (el primer antibiótico), en su charla de aceptación del premio Nobel en 1945, avisó que la administración de esta sustancia debía hacerse de forma controlada, dado que las bacterias susceptibles probablemente fueran capaces de desarrollar resistencia. Problema que se ha agravado en parte debido a irresponsables prescripciones médicas, ventas no reguladas y su uso en los alimentos de las granjas.

En los últimos años se han descubierto que enfermedades nunca asociadas a procesos infecciosos estaban causadas por microbios. Entre éstas, las más conocidas son las úlceras gástricas, que previamente se pensaban causadas fundamentalmente por el estrés y otras causas psicosomáticas. Sin embargo, ahora se sabe que *Helicobacter* es el principal culpable. Probablemente, otras enfermedades no agudas, como ciertas formas de cáncer, enfermedades crónicas del hígado y desórdenes neurológicos son desencadenadas, o incluso causadas, por infecciones.

Dentro de estas últimas enfermedades con posible etiología infecciosa se encuentra la enfermedad de Alzheimer (AD, *Alzheimer's disease*), que es posiblemente

la dolencia más temida en el mundo desarrollado. Dentro de la AD se distinguen dos variantes en cuanto a su etiología, aunque los síntomas son muy parecidos. Por un lado, está la forma familiar, que suele manifestarse antes de los 65 años y que progresan de una forma rápida. Su aparición se asocia a la existencia de ciertas mutaciones en la proteína APP, que dará lugar a una péptido beta-amiloide (amyloid beta, A β) con una gran capacidad para formar fibras. Por otro lado, está la forma esporádica, que suele aparecer en personas mayores de 65 años (sin existir razones genéticas aparentes), pero que suponen el 95% de los casos de AD (Fig. 3). El péptido A β se considera la molécula clave en la patología de la AD. Pero este péptido también está presente en condiciones normales, donde desempeñaría funciones fisiológicas tales como actuar de mecanismo de defensa frente a infecciones del cerebro.

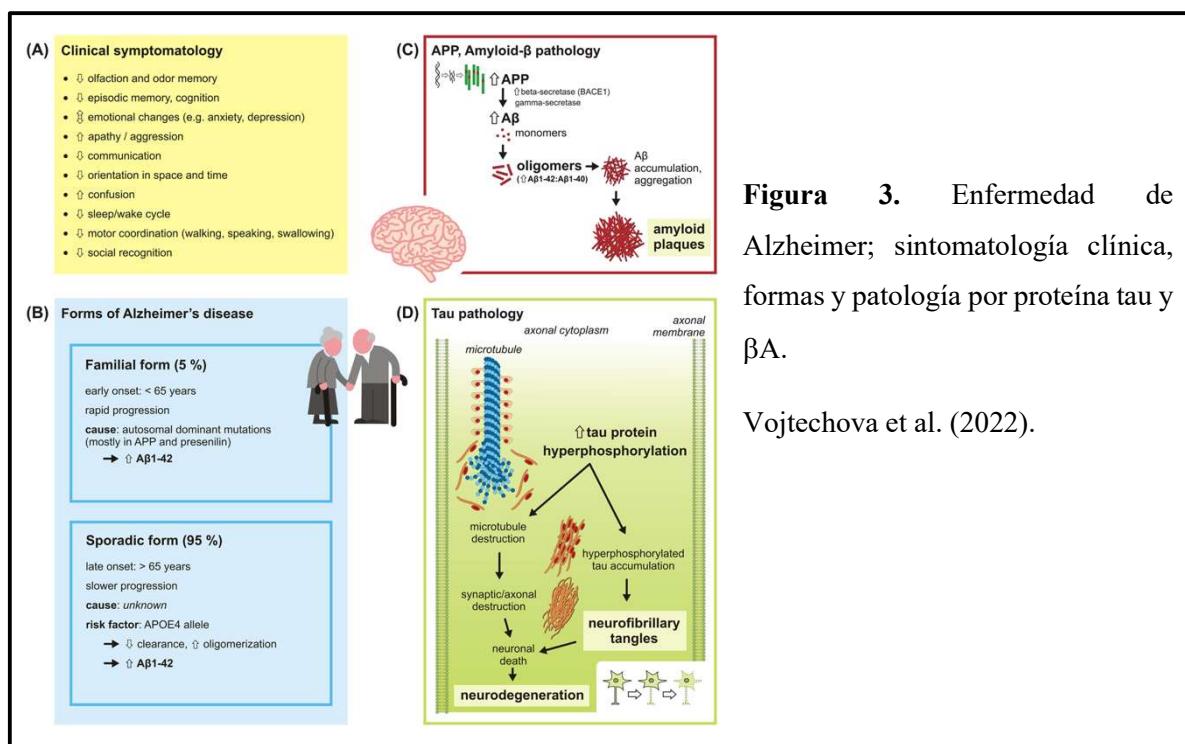


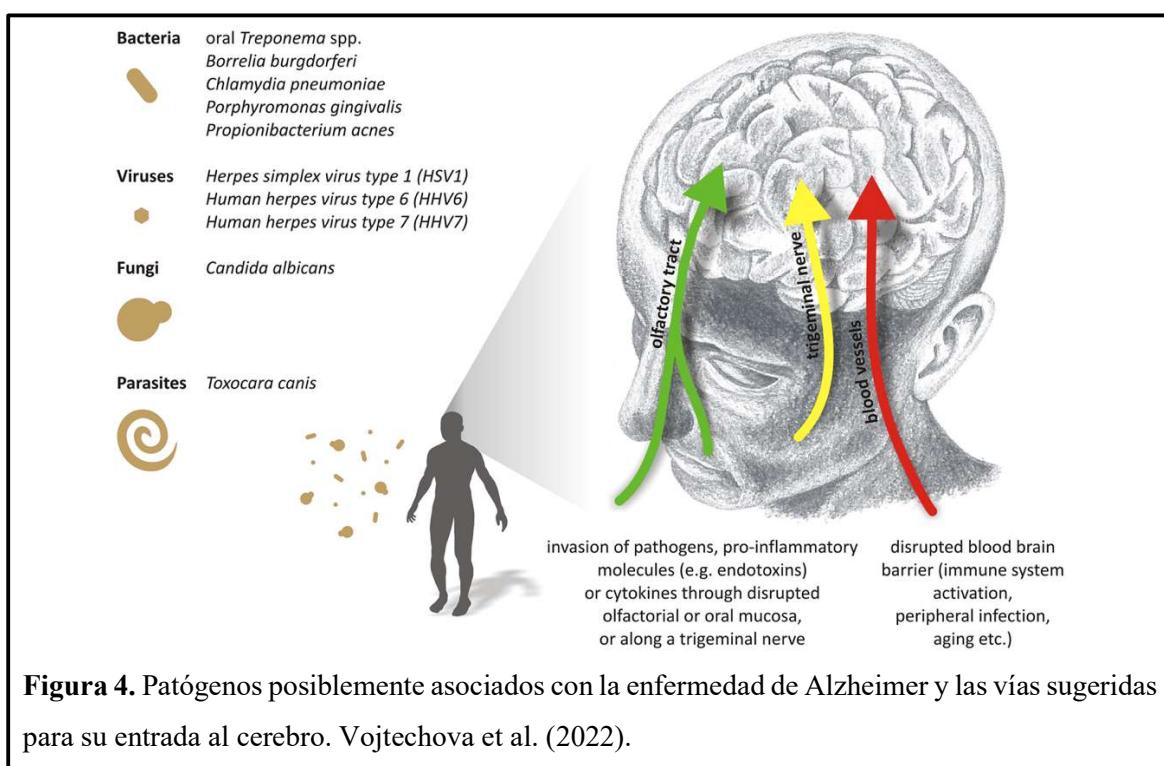
Figura 3. Enfermedad de Alzheimer; sintomatología clínica, formas y patología por proteína tau y A β .

Vojtechova et al. (2022).

Otra proteína importante en la patología de la AD es la proteína Tau, cuya función normal es la de estabilizar a los haces de microtúbulos de los axones neuronales. En el cerebro de pacientes con AD, la proteína Tau se encuentra hiperfosforilada y deja de interaccionar con los microtúbulos, que se van a desestabilizar y se producirá una alteración de la función sináptica. Tanto la sobreproducción del péptido A β como la hiperfosforilación de Tau tienen un efecto de disruptión de los procesos sinápticos, lo que va a conducir a la neurodegeneración.

Las células de microglía se encargan de retirar los depósitos de fibras $A\beta$, pero su actividad disminuye con el envejecimiento de las personas, lo que va a facilitar el desarrollo de AD.

Existen diversos estudios que han establecido correlaciones entre determinadas infecciones a nivel del cerebro y el desarrollo de la AD (Fig. 4). Así, por ejemplo, espiroquetas del género *Borrelia* se encuentran presentes en el cerebro, fluido cerebroespinal y sangre de pacientes AD. Además, la exposición *in vitro* de neuronas y células de glía humanas a *B. burgdorferi* (causante de la enfermedad de Lyme) induce la producción de fibras amiloides y la fosforilación de Tau. Los herpesvirus también se han postulado como posibles agentes etiológicos de la AD. En el modelo ratón se ha mostrado que la infección recurrente con HSV1 (*Herpes simplex virus type 1*) conduce a una acumulación de fibras $A\beta$ e hiperfosforilación de Tau en el neocortex e hipocampo. Ciertos hongos y parásitos con propensión a infectar el cerebro también se han sugerido como desencadenantes de la AD.



La hipótesis que se baraja es que la producción del péptido $A\beta$, su oligomerización y la formación de fibras formarían parte de la respuesta inmunitaria innata del cerebro cuyo objetivo es destruir patógenos invasores. Existen datos que sugieren que el péptido $A\beta$ funcionaría de forma similar a los péptidos microbicidas que muchas células del sistema inmunitario producen. Sin embargo, como consecuencia del envejecimiento, se

produciría un deterioro en el sistema encargado de retirar el exceso de fibras amiloides, desencadenándose la neurodegeneración.

Por otro lado, pequeños, pero letales, brotes de virus supervirulentos han sembrado el pánico entre la población. Entre ellos, cabe destacar los brotes en África del virus Ébola en 1976, en 1995 y el más terrible ocurrido hasta ahora en los años 2014-15.

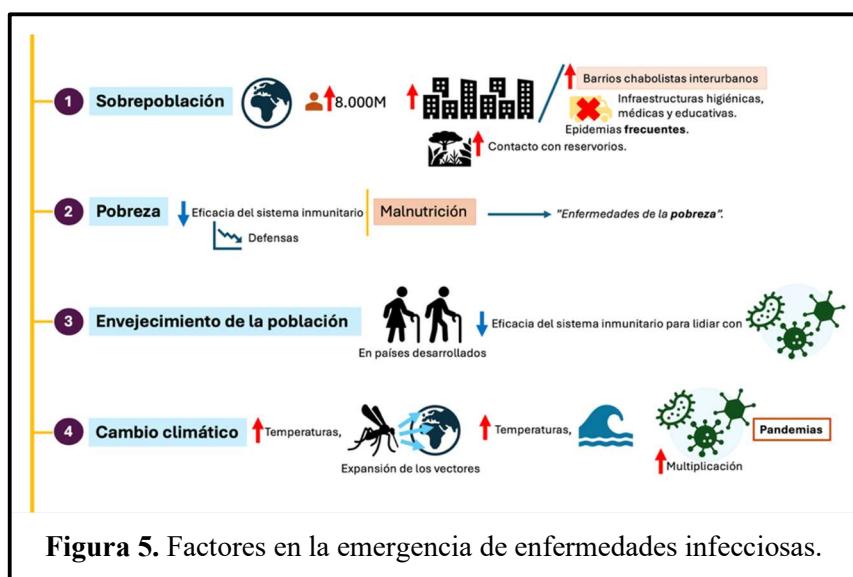
La capacidad de mutación de muchos de estos agentes infecciosos hace fundamental un estado de continua vigilancia. A modo de ejemplo, cabe destacar los procesos de reordenamientos génicos del virus de la gripe (entre cepas derivados de diferentes hospedadores) que conducen a la generación de cepas muy virulentas para humanos. Esto ocurrió en 1997 cuando un virus de origen aviar se transfirió a 18 habitantes de Hong Kong, provocando la muerte de un tercio de los afectados. En 2004, se produjo una explosión de nuevos casos, así en Tailandia y en Vietnam se reportaron un total de 43 casos de los que 31 fueron mortales. Hasta ahora, los brotes han podido ser cortados a través del sacrificio de más de 100 millones de aves de corral, pero el aumento en los brotes son una clara indicación de que una nueva pandemia de gripe puede ser inminente. De hecho, en el año 2009, un virus de origen porcino, H1N1, se extendió a la población humana con una incidencia de magnitud pandémica. Afortunadamente, la virulencia de este virus fue baja.

Otra enfermedad de origen animal que emergió en la última década del siglo XX ha sido la forma variante de la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (vCJD, *variant Creutzfeldt-Jakob Disease*), un tipo de enfermedad neurodegenerativa letal que afecta a gente joven, que era extremadamente rara pero que en esta década causó 143 muertes. La enfermedad fue transmitida a humanos por el consumo de carne de vacas infectadas con el príón de la encefalitis espongiforme bovina (BSE, *bovine spongiform encephalitis*).

Finalmente, el uso de patógenos con fines bioterroristas es una grave amenaza para la humanidad. A lo largo de la historia, las enfermedades infecciosas, utilizadas de una forma más o menos consciente, han sido claves en el devenir de muchos conflictos bélicos y disputas territoriales. Actualmente, conscientes de la clara amenaza que el bioterrorismo supone, las autoridades han creado laboratorios encargados de una continua vigilancia. Para aquellos lectores interesados en conocer más detalles sobre esta temática, se recomienda leer el artículo escrito por Elizabeth Wagar (ver lista final de referencias).

Desde 1970 hasta la actualidad se han producido más de 40 brotes epidémicos de enfermedades infecciosas nuevas. Todo esto implica que en el ambiente y el mundo animal hay una tremenda reserva de microbios que, en circunstancias apropiadas, pueden saltar la barrera de especie y generar nuevos patógenos en humanos. La sociedad moderna provee del caldo de cultivo adecuado para que esto suceda; así los cambios que la actividad humana está produciendo en el ecosistema continuamente distorsionan el equilibrio entre los microbios y sus hospedadores, exponiéndolos a nuevos ambientes donde su comportamiento es impredecible, causando a veces enfermedades. Es por tanto fácil de predecir que en las próximas décadas asistiremos a la emergencia de nuevos agentes infecciosos en humanos.

En resumen, la creencia de que las enfermedades infecciosas podrían ser eliminadas fue uno de los errores más grandes del siglo pasado. Aún más, podemos estar seguros de que el riesgo de aparición y expansión de enfermedades infecciosas es ahora mayor que en ningún otro momento de la historia humana. Este riesgo aumentado se asocia a factores como la demografía, la pobreza, la degradación medioambiental, las guerras, el transporte masivo y el olvido social (Fig. 5). También las migraciones humanas favorecen la transmisión de infecciones desde unas poblaciones a otras. El mercado internacional de plantas y animales es otro factor que contribuye a la expansión de infecciones.



Entre los factores más importantes en la emergencia (y re-emergencia) de enfermedades infecciosas está la sobre población. Actualmente, la población mundial ha sobrepasado los 8.000 millones, lo que conlleva un tremendo efecto sobre el medio ambiente, se han creado ciudades gigantescas y barrios chabolistas carentes

de infraestructuras higiénicas, médicas y educativas, donde ocurren epidemias importantes de dengue, tuberculosis y cólera (Fig. 6). Además, la ocupación de regiones nuevas hace que aumente el contacto con reservorios de nuevos agentes infecciosos.

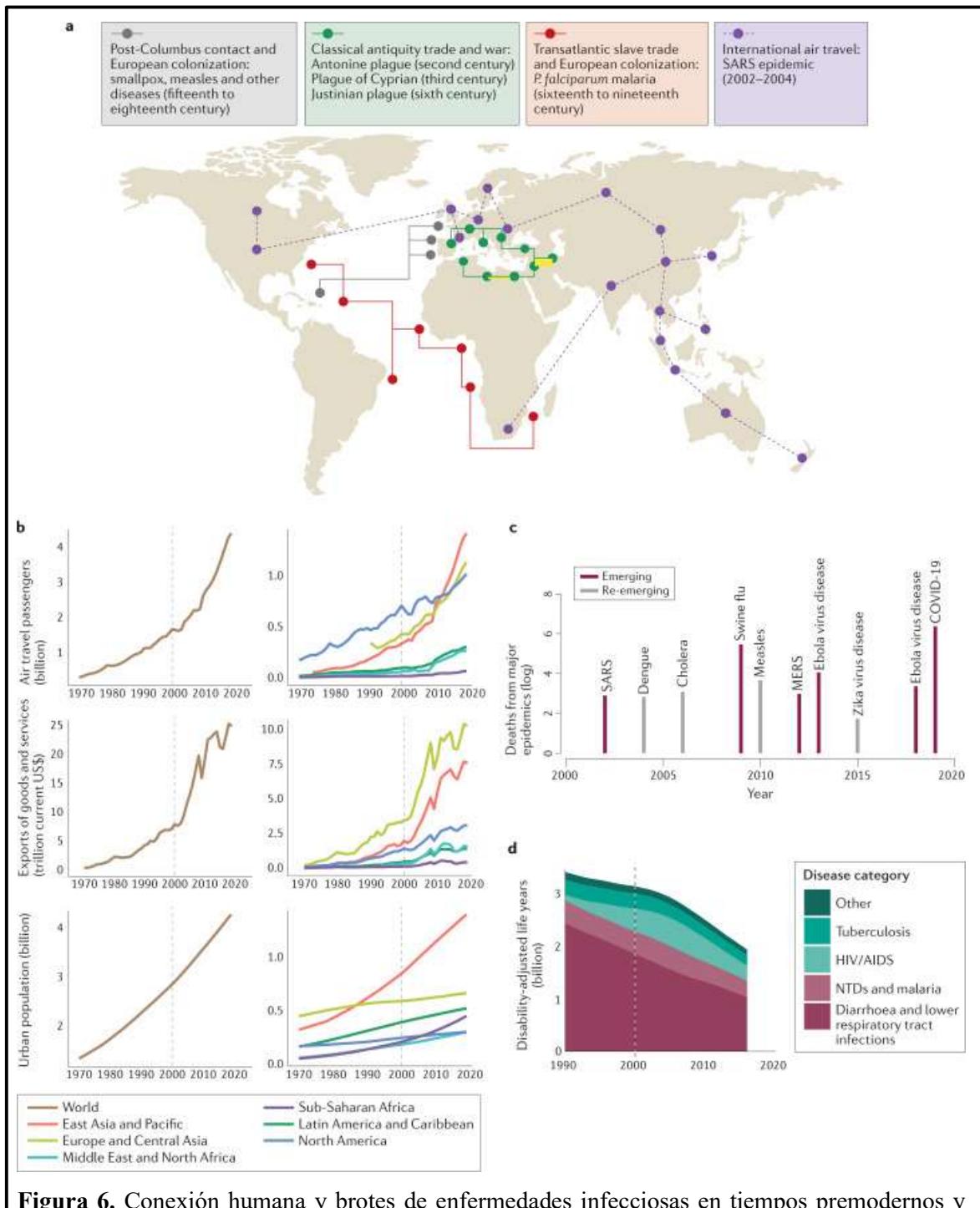


Figura 6. Conexión humana y brotes de enfermedades infecciosas en tiempos premodernos y modernos. Baker et al (2022).

Otro factor importante es la pobreza. La eficacia del sistema inmunitario se ve disminuida como consecuencia de la malnutrición. De ahí, que muchas de las enfermedades infecciosas más importantes son llamadas “enfermedades de la pobreza”.

Otro factor es el envejecimiento de la población, que ocurre especialmente en países desarrollados, pues en estas personas se produce una disminución de la capacidad del sistema inmunitario para contener a los agentes infecciosos.

Otro factor es el cambio climático. Así, como consecuencia del calentamiento global, se observa una expansión de los nichos de vectores transmisores de infecciones. También el aumento de la temperatura del mar y los ríos favorece la multiplicación de patógenos y la aparición de epidemias.

3. Origen de las principales enfermedades infecciosas en humanos.

Se considera que la mayoría de las enfermedades infecciosas graves han aparecido en la población humana hace menos de 11.000 años, coincidiendo con el desarrollo de la agricultura. La razón de esta conclusión se encuentra en el hecho de que muchas de estas enfermedades sólo persisten en poblaciones humanas suficientemente densas y éstas no se produjeron hasta la introducción de la agricultura.

Se postula la existencia de cinco etapas en el proceso de aparición y establecimiento de una enfermedad infecciosa endémica de humanos (Fig. 7). En cada una de estas etapas se encuentran los diversos patógenos que afectan a humanos. Estas etapas son:

- Etapa 1. Microbios que están presentes en animales pero que no se detectan en humanos. Hay infinidad de ellos, por ejemplo, muchas especies del género *Plasmodium*.
- Etapa 2. Un patógeno de animales que, en algunas circunstancias, puede ser transmitido a humanos, pero que luego no es transmitido entre humanos. Por ejemplo, el bacilo del carbunco (*antrax*, en inglés) o el de la tularemia, el virus de la rabia, etc.
- Etapa 3. Patógenos animales que pueden experimentar algunos ciclos de transmisión entre humanos, pero que su expansión declina por la rápida muerte de los que sufren la infección primaria y la relativa poca eficacia de transmisión entre humanos. Un ejemplo es el virus Ébola.
- Etapa 4. Enfermedades que existen en animales y que son transmitidas a humanos, donde pueden mantenerse y transmitirse sin una continua transmisión desde los

animales. Estas son muchas de las enfermedades que afectan a humanos. Ejemplos: la enfermedad de Chagas, el virus del dengue o la gripe.

- **Etapa 5.** Un patógeno que es exclusivo de humanos. Ejemplos: *Plasmodium falciparum*, los virus del sarampión, viruela, HIV-1, etc. Esta especialización se ha podido producir por dos vías: a) un patógeno ancestral presente en la rama evolutiva de los humanos que evolucionó con la propia especie humana; b) un patógeno que ha infectado recientemente a humanos, pero que rápidamente se ha especializado en la infección a humanos. Este último caso parece haber sido el del HIV-1.

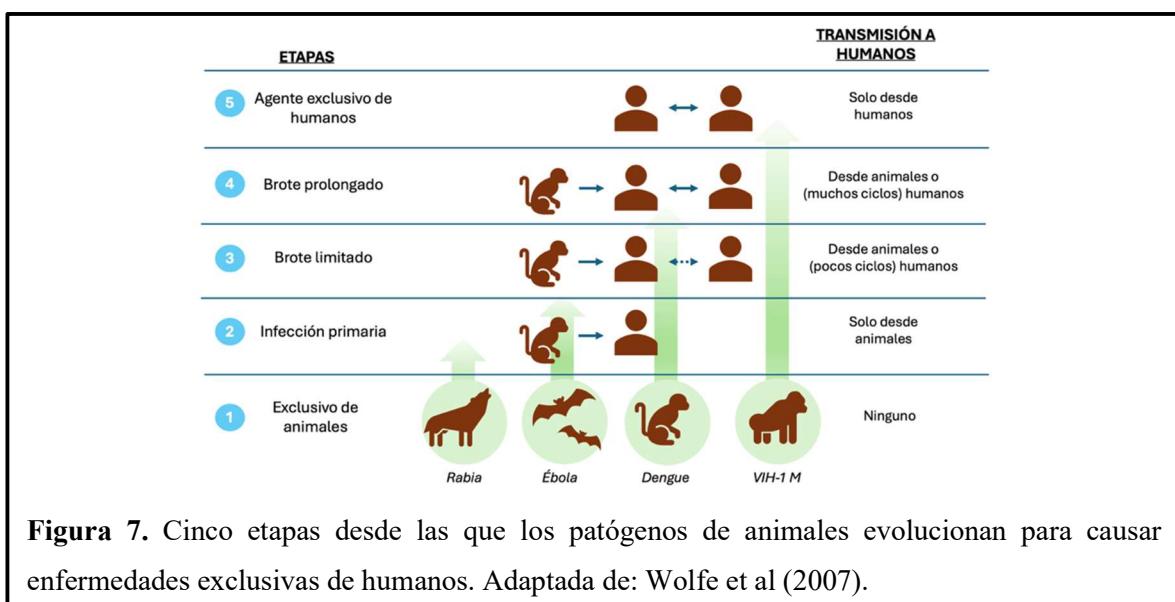


Figura 7. Cinco etapas desde las que los patógenos de animales evolucionan para causar enfermedades exclusivas de humanos. Adaptada de: Wolfe et al (2007).

4. Relación patógeno-hospedador

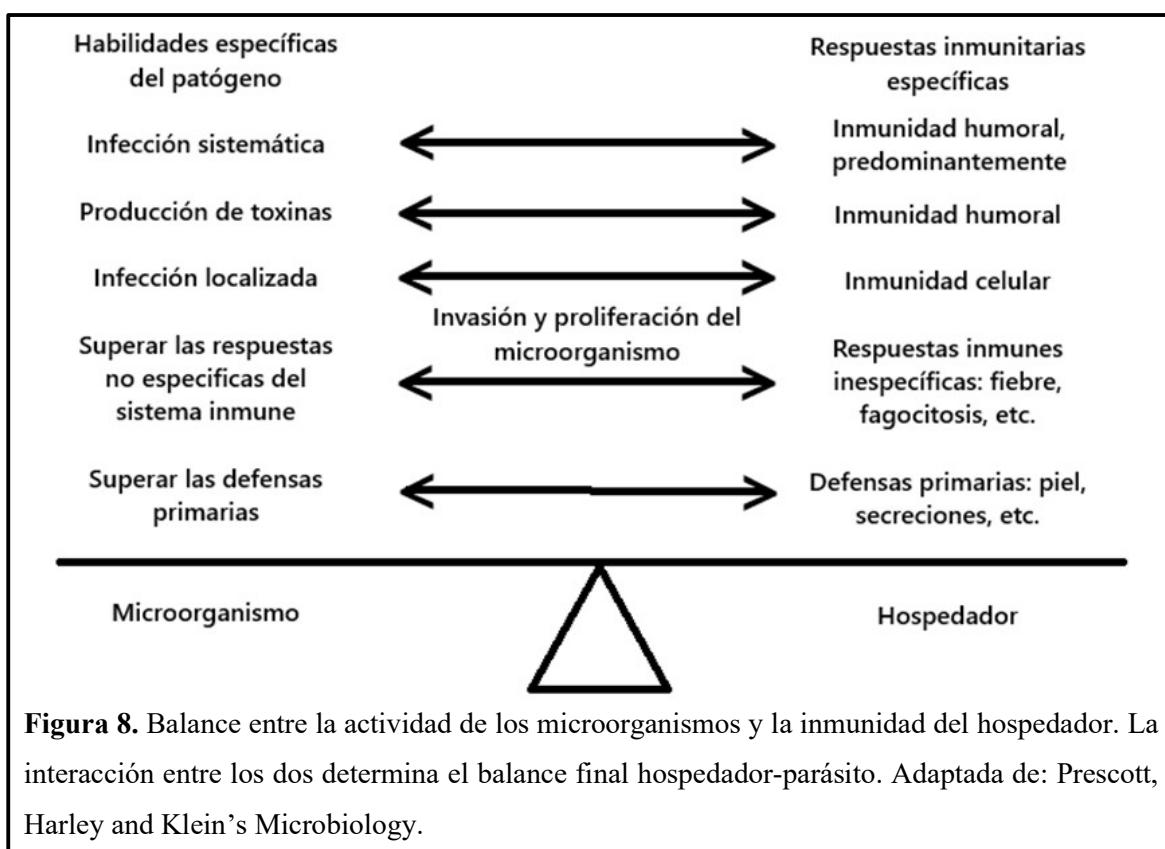
Las interacciones hospedador-patógeno tienen unas implicaciones evolutivas muy significativas dado que van a actuar de fuerza conductora para la aparición y fijación de cambios en los genotipos tanto de los patógenos como de los hospedadores. La genética en la coevolución hospedador-parásito está dirigida en un alto grado por genes dominantes. Este concepto está ligado a la hipótesis de la coevolución *gen por gen* que se basa en que por cada gen causante de la resistencia en un hospedero hay un gen correspondiente a la virulencia del patógeno.

Las estrategias de patogénesis han evolucionado hacia mecanismos altamente especializados. Entre ellos destacan los sistemas de secreción bacterianos (tipo III, IV y VI) que permiten la inyección de efectores proteicos dentro de las células del hospedador para manipular su citoesqueleto y evadir la apoptosis o la respuesta inmune. Otro ejemplo es la capacidad de formar biopelículas, como en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* o

Staphylococcus aureus, que protegen a las bacterias del sistema inmunitario y de los fármacos.

La idea de que la infección puede ejercer un papel importante en la selección natural la podemos ver reflejada en el predominio de las hemoglobinopatías entre la población africana al estar asociada a una protección frente al desarrollo de la malaria causada por *Plasmodium falciparum*. Otra asociación entre infección y evolución la encontramos en la delección ccr5 (receptor de quimioquina), una alteración genética que confiere un cierto grado de protección frente al SIDA. Sería muy interesante conocer qué factores –posiblemente otro patógeno- han sido la causa conductora de la aparición y expansión de este polimorfismo entre la población humana.

El grado de especificidad de la interacción en cuestión es determinante para que sea considerada como un proceso coevolutivo en el cual existen reciprocidad y simultaneidad.



Las interacciones patógeno-hospedador pueden clasificarse según su resultado biológico en comensalismo, mutualismo y parasitismo, siendo este último el que más relacionado está con la patogenicidad. Según Lewis Thomas, la patogenicidad no es la regla. Es, de hecho, infrecuente al involucrar un número tan pequeño de microorganismos

si tenemos en cuenta la enorme población de organismos que habitan la Tierra. Así, la enfermedad es resultado de negociaciones inconclusas de simbiosis, un malentendido de los límites que ha llevado a que alguna de las dos especies sobrepase la línea.

Hay interacciones microbianas beneficiosas para la salud, siendo un ejemplo la interacción del microbiota con su hospedero. En los últimos años, gracias a estudios metagenómicos, se ha visto que muchos microorganismos constitutivos del microbiota son en realidad potencialmente patogénicos. Solo se comportan como agentes de enfermedad cuando se altera el equilibrio ecológico de ese microbiota, un fenómeno conocido como *disbiosis*.

Este descubrimiento añade un factor importante a tener en cuenta en las interacciones patógeno-hospedador: el entorno. A estos organismos se les denomina “oportunistas” por esa capacidad de inducir un estado enfermo solo cuando las condiciones son óptimas para ello.

Las infecciones son el resultado de las interacciones patógeno-hospedador de tipo parasíticas. No obstante, no todas las infecciones derivan en enfermedad. En la tabla 1 se describen los distintos tipos de infecciones.

TABLA 1. TIPOS DE INFECCIONES

Tipo	Definición
Absceso	Infección localizada con acumulación de pus rodeada por un área inflamada
Aguda	Infección corta en el tiempo, pero severa en sus consecuencias
Bacteriemia	Presencia de bacterias viables en la sangre
Crónica	Persistente durante un largo tiempo
Encubierta	Subclínica, sin síntomas
Cruzada	Transmitida entre huéspedes infectados con diferentes organismos
Focal	Existente en áreas geográficamente limitadas
Fulminante	Agente infeccioso que se multiplica con gran rapidez
Iatrogénica	Causada como resultado de una práctica médica
Latente	Persistente en tejidos durante largos períodos, la mayoría sin síntomas
Localizada	Restringida a una región o a una o más áreas anatómicas
Nosocomial	Desarrollada durante la estancia en un hospital o centro de atención clínica
Oportunista	Resultante de la microbiota endógena, especialmente cuando la resistencia del huésped es baja

Manifiesta	Sintomática
Fitogénica	Causada por patógenos vegetales
Polimicrobiana	Más de un organismo presente simultáneamente
Primaria	Primera infección que permite que otros organismos invadan en el mismo sitio
Piógena	Que resulta en formación de pus
Secundaria	Causada por un organismo después de una infección inicial o primaria
Sepsis	Condición resultante de la presencia de bacterias o sus toxinas en la sangre o tejidos; respuesta sistémica con fiebre, taquicardia, taquipnea o alteraciones hematológicas.
Septicemia	Infección sanguínea con persistencia de organismos patógenos o sus toxinas en la sangre
Choque séptico	Sepsis con hipotensión a pesar de reanimación adecuada, junto con alteraciones de perfusión o mentales
Sepsis grave	Sepsis con disfunción orgánica, hipoperfusión o hipotensión
Esporádica	Ocurre solo ocasionalmente
Subclínica	Sin síntomas o manifestaciones detectables
Sistémica	Propagada por todo el cuerpo
Toxémica	Condición causada por toxinas en la sangre
Zoonótica	Causada por un organismo normalmente encontrado en animales no humanos

Las enfermedades infecciosas son aquellas en las que parte o la totalidad del correcto y normal funcionamiento del hospedador se ve comprometida directamente por la presencia del parásito o indirectamente por sus productos. Estas enfermedades dependen de dos factores principales:

1. La resistencia del hospedador a la infección, factor directamente relacionado con la respuesta inmunitaria.
2. La virulencia del patógeno, que mide el grado de patogenicidad de los microrganismos implicados. La virulencia también viene determinada por el número de microrganismos infectando al hospedador.

Una forma de medir la virulencia es determinando, experimentalmente, la dosis letal 50 o LD50 que se refiere al número de microorganismos que matan a la mitad de los hospedadores infectados, dentro de un rango de tiempo definido. Cuanta menor sea la LD50 de un patógeno mayor será su virulencia tal como se ilustra en la figura 9.

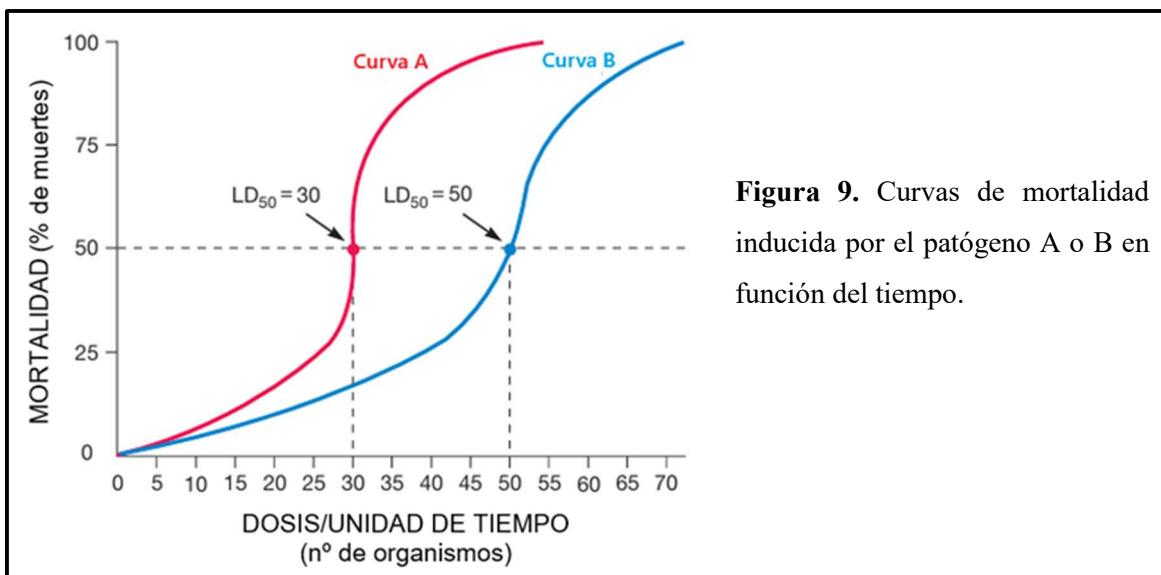


Figura 9. Curvas de mortalidad inducida por el patógeno A o B en función del tiempo.

La virulencia también depende de la capacidad de invasión y toxicidad del patógeno.

La **capacidad de invasión** es un reflejo de la capacidad de crecer en los tejidos del hospedador en grandes cantidades, produciendo la inhibición de las funciones del hospedador mientras que la **toxicidad** es la capacidad de producir daño mediante la secreción de toxinas.

La virulencia de la mayoría de los patógenos es causada por una combinación de ambas características. No obstante, hay ejemplos de microorganismos que se valen de solo uno de ellos como *Clostridium tetani* con la secreción de toxina tetánica o *Streptococcus pneumoniae* con la síntesis de cápsulas que potencian la invasión.

La virulencia es, por tanto, una característica intrínseca del patógeno que está influenciada por factores ambientales, genéticos y fisiológicos. Un ejemplo de factor genético que condiciona la virulencia son las islas patogénicas (PAIs) que son segmentos de DNA que contienen los genes responsables de la virulencia en bacterias. Estas PAIs han sido adquiridas durante la evolución por transferencia horizontal, un mecanismo de transferencia genética que también es la responsable de la propagación de genes que confieren resistencia a antibióticos, como veremos más adelante.

4.1. Infección y enfermedad.

Ambos, la teoría y los datos empíricos apoyan la idea de que los parásitos evolucionan hacia la reducción de la virulencia, o lo que es igual, disminuir la patogenicidad producida en el hospedador, con el objetivo de prolongar la supervivencia de ambos, el hospedador y el parásito. Los patógenos han desarrollado la facultad de

hacernos enfermar e incluso matarnos. Pero los patógenos tienen interés en que sus hospedadores sobrevivan: un hospedador muerto supone también un punto final para el mismo invasor. Así, la domesticación del hospedador es la estrategia mejor a largo plazo para los patógenos.

No solo los patógenos evolucionan hacia un estado que minimiza el daño a los hospedadores sino también los propios hospedadores, desde lo que se habla en ecología microbiana como el *paradigma de la tolerancia*, que no solo resisten la infección eliminando el patógeno, sino que desarrollan mecanismos para minimizar el daño fisiológico sin necesariamente eliminar la infección.

4.2. La respuesta inmunológica.

En general los hospedadores se defienden de los parásitos a través de inducir respuestas inmunológicas fuertes, que incluyen respuestas inmunitarias humorales y celulares. Esto debería asegurar que el hospedador se hiciera resistente a la enfermedad e incluso a la reinfección. Los parásitos, sin embargo, pueden a menudo evadir la respuesta inmunitaria a través de varios mecanismos tales como:

- **Variabilidad antigénica:** basado en el cambio de antígenos del patógeno que permiten no ser reconocidos por los receptores del sistema inmunitario que se habían activado. Este hecho se produce por ejemplo en *Neisseria* o en *Trypanosoma brucei*.
- **Resistencia a las actividades destructoras de los macrófagos:** hay diferentes formas de resistir a los macrófagos como, por ejemplo, escapando de ellos como en el caso de *Rickettsia spp* o *Plasmodium spp* que invaden células del hospedador rápidamente después de la inoculación, antes de que lleguen macrófagos al sitio de infección. Otro mecanismo, característico de *Mycobacterium tuberculosis* o *Toxoplasma gondii*, es evitando la fusión del fagosoma con el lisosoma. Algunos patógenos, como *Leishmania*, no necesitan evitar dicha fusión porque son capaces de sobrevivir e incluso replicarse en el fagolisosoma.
- **Adopción de antígenos del hospedador:** un ejemplo lo encontramos en *Trypanosoma cruzi* que puede incorporar glucoconjungados del hospedador en su superficie, reduciendo su reconocimiento.
- **Producción de antígenos que similares a los del hospedador o que pueden bloquear reacciones inmunológicas** como la citotoxicidad: Un ejemplo, al igual

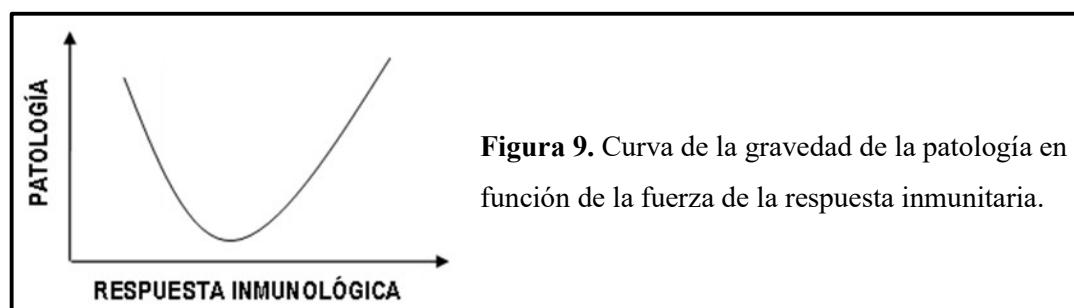
que en caso anterior, es un tripanosomárido, en concreto *Trypanosoma brucei*, que expresa glucoproteínas de superficie variante (VSG) que pueden imitar componentes del huésped y confundir la respuesta adaptativa.

- **Secreción de inmunomoduladores** como proteínas y toxinas procedentes de células ya infectadas que disminuyen la respuesta inmunitaria o interfieren con la apoptosis. Ejemplos de esto los encontramos en *Mycobacterium tuberculosis* con la secreción de ESAT-6 que altera señales inflamatorias y modula la activación de macrófagos.

Las consecuencias de esta evasión activa de la respuesta inmunitaria son obvias: el parásito no es eliminado y continúa dañando al individuo infectado.

4.3. La patogénesis como consecuencia directa de la interacción hospedador-patógeno.

Como se ha indicado antes, el daño va a ser una consecuencia directa de la virulencia del patógeno y de la fuerza de la respuesta inmunitaria que se induzca en el hospedador (figura 10).



En la tabla 2 se muestra una clasificación de patógenos y de los daños que producen en función de la respuesta inmunitaria del hospedador.

TABLA 2. CLASIFICACIÓN DE PATÓGENOS HUMANOS BASADO EN EL NIVEL DE DAÑO QUE INFILGEN EN FUNCIÓN DE LA RESPUESTA INMUNITARIA DEL HOSPEDADOR.

Patógeno	Daño en función de la magnitud de la respuesta inmunitaria		
	Leve	Intermedia	Fuerte
<i>Legionella pneumophila</i>	Legionelosis	-	-
<i>Bacillus anthracis</i>	Ántrax		-
<i>Bordetella pertussis</i>	Neumonía secundaria	Tos ferina	-
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Infeción persistente acompañada de artritis y meningitis	Enfermedad de Lyme	-
<i>Candida spp</i>	Candidiasis mucocutánea	Candidiasis vaginal	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	Listeriosis		-
<i>Neisseria meningitidis</i>	Estado asintomático de meningococos	Meningitis	-
<i>Plasmodium spp</i>	Malaria		-
<i>Rickettsia rickettsii</i>	Fiebre de las montañas rocosas		-
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmosis	Linfadenopatía cervical	-
<i>Vibrio cholera</i>	Diarrea		-
<i>Yersinia pestis</i>	Septicemia, peste neumocócica y meningocócica.	Peste bubónica	-
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Escarlatina, erisipela, síndrome del shock tóxico		Fiebre reumática, glomerulonefritis
<i>VIH</i>	Sida		Síndrome de Sjogren
<i>Leishmania spp</i>	Leishmaniasis visceral	Leishmaniasis	Síndrome de Guillain-Barré, mielitis transversal, glomerulonefritis
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculosis pulmonar y diseminada	Complejo primario en pulmón, infección latente	Cáncer de pulmón, pericarditis constrictiva, mediastinitis fibrosa.
<i>Salmonella spp</i>	Estado asintomático de salmonelosis	Fiebre entérica	Síndrome de Reiter
<i>Trypanosoma spp</i>	Tripanosomiasis		Cardiomiopatía
<i>Helicobacter pylori</i>	-	-	Gastritis, cáncer, linfoma.

Como ejemplo de organismos que producen una grave patología, induciendo una leve respuesta inmunitaria, está *Legionella pneumophila* (causante de la legionelosis). Se producen infecciones agudas consecuencia de una multiplicación incontrolada de la bacteria. Otros patógenos inducen respuestas inmunitarias moderadas, que van a controlar la multiplicación del patógeno, haciendo que se produzcan infecciones asintomáticas durante mucho tiempo, como ocurre con los virus de la hepatitis B o el HIV (en personas tratadas con fármacos antivirales). Finalmente, existen patógenos, con baja virulencia pero capaces de inducir fuertes respuestas inmunitarias. Y éstas van a ser las causantes de las graves patologías asociadas a la infección por estos patógenos. Ejemplos son *Helicobacter pylori*, desencadenantes de úlceras gástricas, y *Trypanosoma cruzi*, causante de cardiomiopatías graves.

5. Infección y autoinmunidad.

El sistema inmunitario es un conjunto asombroso de procesos biológicos diseñados para defender al organismo frente a la invasión por patógenos y por células tumorales. Por otro lado, el sistema inmunitario debe ser tolerante y distinguir entre lo propio y lo extraño, restringiendo su respuesta frente a las estructuras propias (auto-tolerancia).

La autoinmunidad es una consecuencia de la rotura de la auto-tolerancia, y el resultado es un ataque por parte del sistema inmunitario a órganos y tejidos, tal si fueran invasores extraños. En el mundo industrializado, las enfermedades autoinmunes son la tercera causa de morbilidad y mortalidad, después de las enfermedades cardíacas y el cáncer.

En el desarrollo de un proceso autoinmune confluyen factores genéticos, inmunológicos, hormonales y ambientales. Entre estos últimos, los agentes infecciosos desempeñan un papel muy relevante.

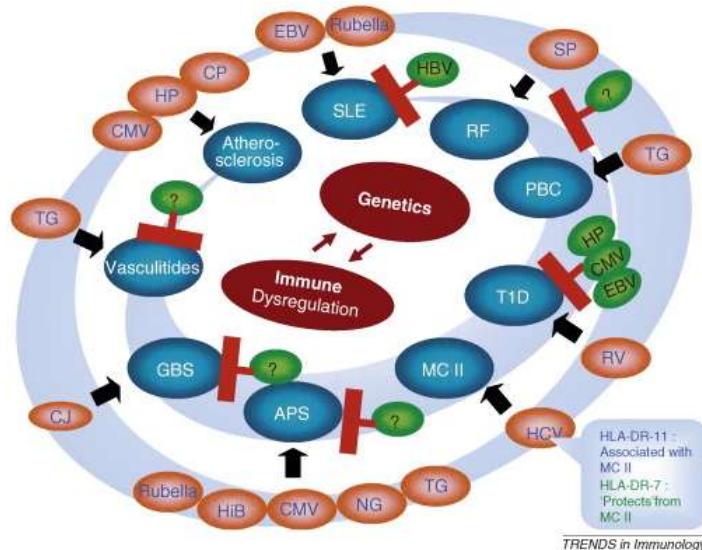


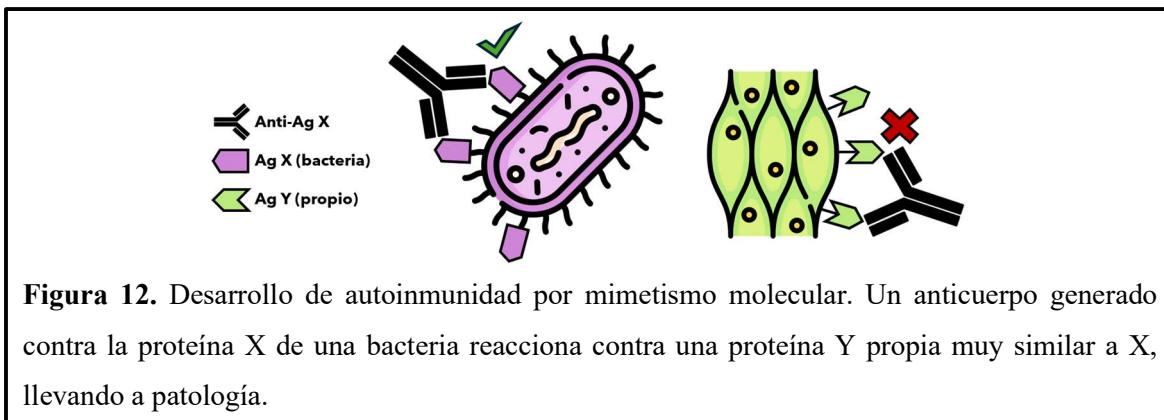
Figura 11. Interacción de infecciones patogénicas y protectoras asociadas con enfermedades autoinmunes. Diferentes enfermedades autoinmunes (azul) pueden ser causadas por infecciones patogénicas (naranja) o mejoradas por infecciones protectoras (verde). La susceptibilidad genética contribuye de manera importante a esta amplia red de interacciones, por ejemplo, diferentes HLAs pueden ser asociados con una protección de crioglobulinemia mixta (MC-II) inducida por el virus de la hepatitis C (HCV).

Abreviaturas: CJ, *Campylobacter jejuni*; CP, *Chlamydia pneumoniae*; HiB, *Haemophilus influenzae*; HP, *Helicobacter pylori*; NG, *Neisseria gonorrhoeae*; SP, *Streptococcus pyogenes*; RV, *Rotavirus*; TG, *Toxoplasma gondii*. SLE, Lupus eritematoso sistémico; GBS, síndrome de Guillain-Barre; APS, síndrome antifosfolípido; PBC, cirrosis biliar primaria; RF, fiebre reumatoide. Kivity et al. (2009)

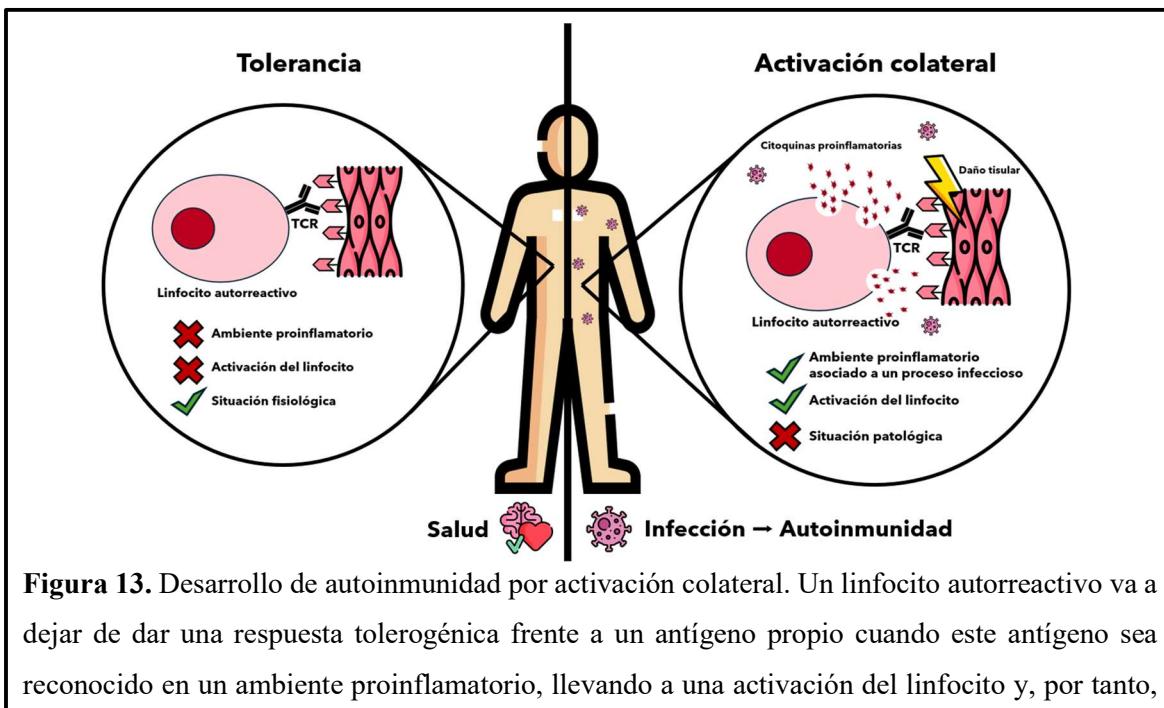
La mayoría de las enfermedades autoinmunes están asociadas a uno o varios agentes infecciosos (Fig. 11). Uno de los ejemplos más conocidos son las fiebres reumatoideas agudas (RF, *rheumatic fever*), que se desarrollan varias semanas después de una infección con *Streptococcus pyogenes*. *Helicobacter pylori* está implicada en el desarrollo de gastritis autoinmunes, en aterosclerosis y otros desórdenes autoinmunes. Otro ejemplo es la asociación que existe entre SLE (*systemic lupus erythematosus*) y la infección por EBV (*Epstein-Barr virus*). La infección por *Trypanosoma cruzi*, protozoo causante de la enfermedad de Chagas, conduce al desarrollo de cardiomiopatías autoinmunes en un 30% de los pacientes. Ver figura 11 para otras asociaciones.

Los mecanismos por los que los agentes infecciosos inducen autoinmunidad son variados:

a) **Mimetismo molecular.** La existencia de epítopos (proteínas, carbohidratos o DNA) similares entre el patógeno y el hospedador conduce a la inducción de una respuesta inmunitaria cruzada (*crossreactivity*). Por ejemplo, la proteína M de *S. pyogenes* presenta similitud con la miosina cardiaca y, de hecho, experimentos con ratas han mostrado que la transferencia de anticuerpos frente a la proteína M conduce al desarrollo de cardiomiopatía.



b) **Activación colateral.** Como consecuencia de la destrucción de tejidos asociados a un proceso infeccioso se van a liberar antígenos intracelulares que pueden activar linfocitos autorreactivos. Por ejemplo, linfocitos T específicos de virus pueden iniciar la destrucción de células infectadas por el virus, liberando gránulos citotóxicos y citoquinas. Como consecuencia se creará un microambiente inflamatorio que puede conducir a la destrucción de células vecinas no infectadas.



c) **Persistencia del agente infeccioso y activación policlonal.** Una infección prolongada de un patógeno y una activación continua del sistema inmunitario puede conducir a desencadenar una activación policlonal de linfocitos B con la consiguiente producción de elevados niveles de anticuerpos que pueden asociarse a los propios tejidos e inducir su daño, iniciando un proceso autoinmune.

A pesar del gran número de ejemplos que apoyan una asociación entre infecciones y autoinmunidad, en algunos casos las infecciones podrían estar protegiendo a otros individuos de enfermedades autoinmunes y alérgicas. Esta idea, conocida como hipótesis de la higiene (*hygiene hypothesis*) fue sugerida por David P. Strachan en 1989, basada en el aumento de enfermedades autoinmunes que se ha producido durante la segunda parte del siglo XX en los países desarrollados, coincidiendo con la disminución de enfermedades infecciosas y el aumento de la higiene en estos países. Por otro lado, datos experimentales obtenidos en animales también apoyan esta hipótesis. Así, la infección con el helminto *Schistosoma mansoni* previene el desarrollo de diabetes en ratones NOD. De forma similar, la infección con el parásito de la malaria *Plasmodium berghei* previene del desarrollo de lupus en ratones y de artritis en ratas. Estos datos pueden explicar la observación de que la incidencia de SLE es baja en la población de África, en lugares donde hay incidencia de malaria, a pesar de que la población afroamericana (descendientes de africanos) sufre de mayores incidencias de SLE que la población caucasiana.

5.1. Impacto del microbioma sobre la salud.

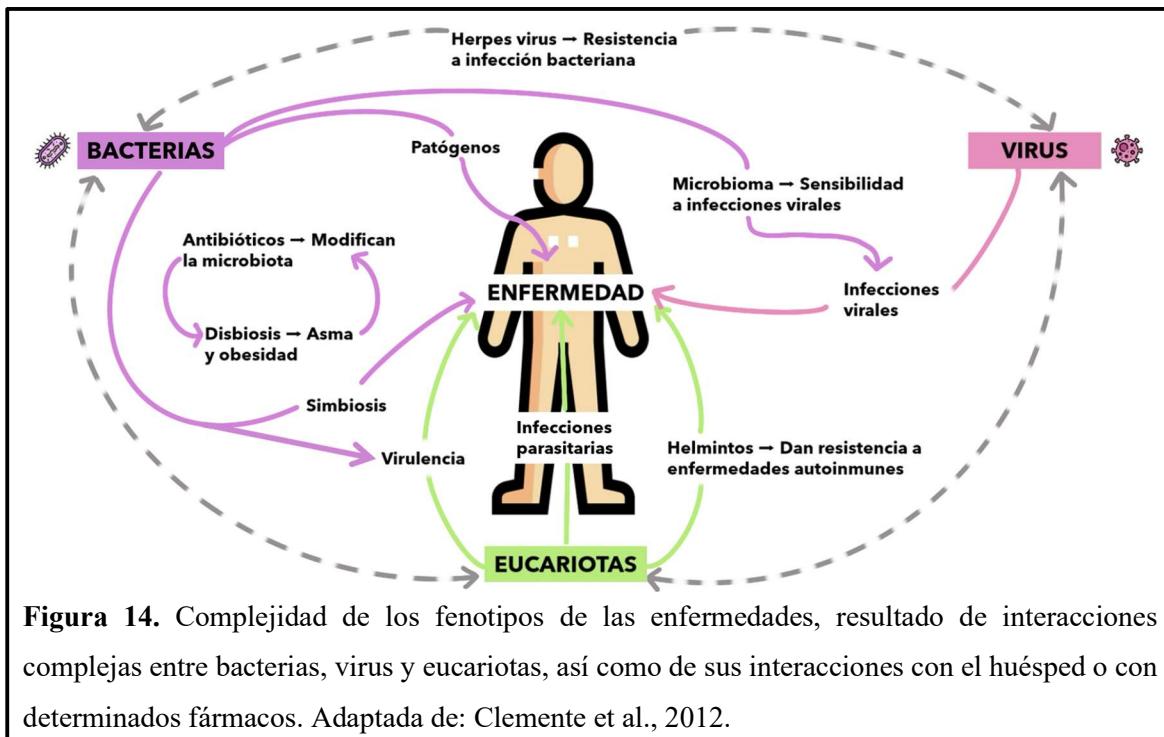
Los microorganismos que se encuentran asociados normalmente a nosotros, que residen en el cuerpo humano, constituyen el microbiota, y los genes que codifican se conocen como microbioma. Esta comunidad compleja está formada por bacterias, eucariotas, virus e incluso alguna arqueobacteria. Estos microorganismos interaccionan entre si y con las células de nuestro cuerpo, impactando de forma importante nuestra fisiología. Su número sobrepasa al de las células que constituyen nuestro cuerpo ($\sim 10^{13}$); así se estima que cada uno de nosotros cobija alrededor de 10^{14} células microbianas y unos 10^{17} virus. Aunque sólo unos pocos de estos microorganismos pueden ser cultivados in vitro, su identificación es ahora posible gracias a las técnicas de secuenciación masiva. La importancia de esta comunidad microbiana es tal que ha llevado a algunos autores a referirse a ellos como el “órgano olvidado”.

Los microorganismos colonizan todas las superficies del cuerpo humano que están en contacto con el medio ambiente, aunque la mayor concentración ocurre en el tracto intestinal. Además, existen muchos datos que avalan la importante interacción que tiene lugar entre el microbiota intestinal y el sistema inmunitario, generando señales que promueven la maduración de células inmunitarias y el desarrollo normal de las funciones inmunológicas. Desbalances en la composición del microbiota pueden ser la causa de importantes enfermedades.

Por otro lado, las características genéticas del individuo también van a influir de forma significativa sobre la composición y establecimiento del microbiota intestinal. Un factor que afecta significativamente a la composición del microbiota es la dieta alimentaria, que va a favorecer el crecimiento de determinados grupos de microorganismos en detrimento de otros. El uso de antibióticos también tiene unos efectos grandes en la composición del microbiota que resulta grandemente afectado por el tratamiento, lo que además conduce a aumentar los genes de resistencia a antibióticos del microbioma de la persona tratada.

Dada la larga co-evolución de los mamíferos con su microbiota, no es sorprendente que nuestro sistema inmunitario, y especialmente el asociado a las mucosas, ha establecido una estrecha conexión con nuestra microbiota. Tanto el sistema inmunitario innato como el adaptativo requieren de una interacción con el microbiota para su normal desarrollo. Así, la diferenciación de las poblaciones de linfocitos T es condicionada, además de por los mecanismos de discriminación entre lo propio y lo extraño, por el microbiota comensal.

Las enfermedades infecciosas, como veremos a lo largo de la asignatura, se describen y abordan desde la visión de “un microbio – una enfermedad”. Sin embargo, como ocurre con el paradigma de “un gen – una enzima – una función”, se trata de una simplificación que no sirve para explicar los fenotipos complejos y variados que se observan durante los procesos infecciosos. Ahora, empezamos a vislumbrar que las enfermedades van a ser afectadas por el microbiota, e incluso, algunas enfermedades van a ser el resultado de la falta del microbiota normal (*dysbiosis*) más que el resultado de la presencia del microbio (agente etiológico).



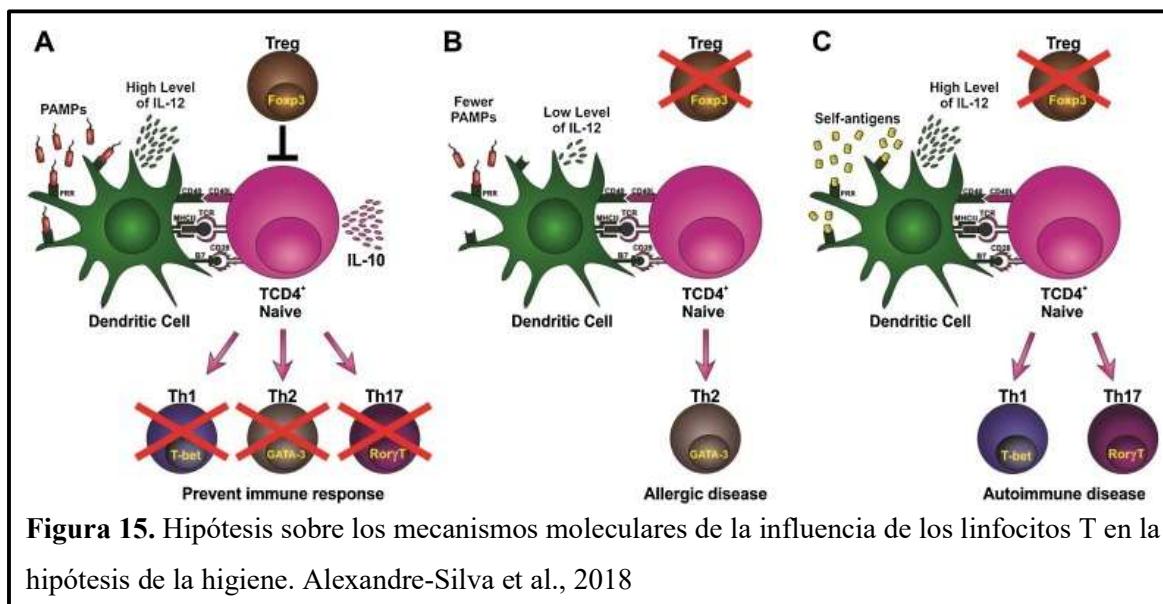
La figura 14 pretende ilustrar la complejidad en las interacciones entre el microbiota y su hospedador y cómo esta relación puede condicionar los estados de salud y enfermedad. La virulencia de algunos eucariotas está, por ejemplo, relacionada con la presencia de ciertas bacterias como en el caso de *Entamoeba histolytica* y *Escherichia coli*. La susceptibilidad del huésped a las infecciones virales está condicionada por la composición de la microbiota, mientras que la infección por el virus del herpes puede contrarrestar la resistencia a ciertas infecciones bacterianas. Los antibióticos pueden modificar significativamente la composición de la microbiota. Dado que se ha observado una clara correlación entre muchas enfermedades y la disbiosis, el uso generalizado de antibióticos puede estar relacionado con el aumento de las enfermedades autoinmunes observado en los últimos años. Por el contrario, los helmintos confieren resistencia a las enfermedades autoinmunes.

La importancia de la interacción entre el sistema inmunitario y el microbiota queda evidenciada en las consecuencias que los cambios ambientales producidos en nuestro entorno han tenido sobre el aumento de desórdenes autoinmunes, y en particular de las alergias, observado en los países desarrollados. En la sociedad moderna, los individuos no están expuestos al microbiota habitual en nuestro pasado evolutivo. Así, de acuerdo con la “hipótesis de la higiene”, la no exposición a microorganismos patogénicos y no patogénicos en etapas tempranas de la vida favorece el desarrollo de procesos alérgicos debido a un desarrollo incompleto del sistema inmunitario. En cambio, factores

como la vida en ambientes rurales, condiciones sanitarias pobres, bajo consumo de antibióticos y prevalencia de ciertas infecciones (como helmintos), que son más habituales en países en desarrollo, estarían tras la baja incidencia de alergias en estos países. No obstante, no hay que olvidarse que factores genéticos también contribuyen al desarrollo de estos procesos alérgicos.

La hipótesis de la higiene puede entenderse mejor si consideramos el papel clave de las células T reguladoras (Treg) en el equilibrio inmunitario, como se resume en la figura X. En la figura X, se ilustra la hipótesis en base a 3 situaciones:

- **Situación A:** El aumento de la carga microbiana durante la infancia da lugar a la activación de las células T reguladoras (Treg), que impiden la respuesta Th1, Th2 y Th17. Así, las células Treg inducen la inmunomodulación e inhiben las enfermedades alérgicas (Th2) y autoinmunes (Th1 y/o Th17).
- **Situación B:** La reducción de la carga microbiana durante la infancia impide la activación de las células T reguladoras (Treg). Por lo tanto, si se dan condiciones propicias (genéticas y ambientales), pueden desarrollarse enfermedades alérgicas.
- **Situación C:** La presentación de autoantígenos durante la infancia en ausencia de células Treg puede dar lugar a la activación autorreactiva de Th1 y Th17. Por lo tanto, si se dan condiciones propicias (genéticas y ambientales), pueden desarrollarse enfermedades autoinmunes.



Otro ejemplo muy ilustrativo de la importancia de la interacción entre el microbiota y el sistema inmunitario, y cómo la alteración de este equilibrio puede

conducir al desarrollo de enfermedad, lo encontramos en la colonización gástrica por *H. pylori*. Se estima que el tracto gástrico de la mayoría de las personas, antes de los 10 años, resulta colonizado por esta bacteria; colonización que ya persiste durante toda la vida salvo que se someta a tratamiento con antibióticos. Curiosamente, existen estudios que apoyan una relación entre la menor prevalencia de *H. pylori* en los países desarrollados, como consecuencia del tratamiento con antibióticos, y la mayor incidencia de asma y procesos alérgicos en esta población. Por otro lado, alteraciones gástricas y el desarrollo de adenocarcinoma de esófago se ha asociado a una disminución de la cepa cagA⁺ de *H. pylori*.

6. El sistema del complemento y su evasión por los organismos patógenos.

El sistema del complemento es uno de los componentes más eficientes del sistema inmunitario, cuya función es el reconocimiento y eliminación de forma rápida de patógenos invasores. El sistema está constituido por una compleja red de enzimas, complejos proteicos y receptores, finamente regulados, que está especializado en el reconocimiento, y su eliminación, de estructuras extrañas. Sin embargo, por su complejidad, también ofrece muchas posibilidades de interferencia, y muchos patógenos han encontrado formas de escapar del ataque del complemento a través de diversos mecanismos.

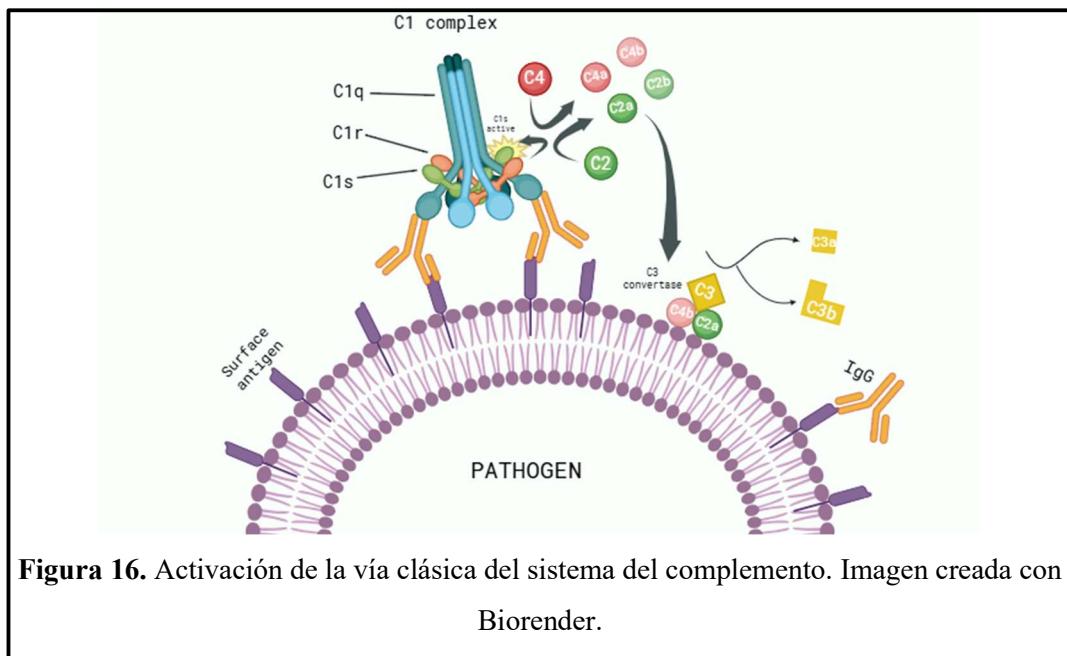
6.1. Características generales del sistema del complemento.

El sistema del complemento consiste en una red bien balanceada de proteínas circulantes y otras unidas a la superficie celular, que actúan como sustratos, enzimas o moduladores de una serie jerarquizada de cascadas proteolíticas extracelulares.

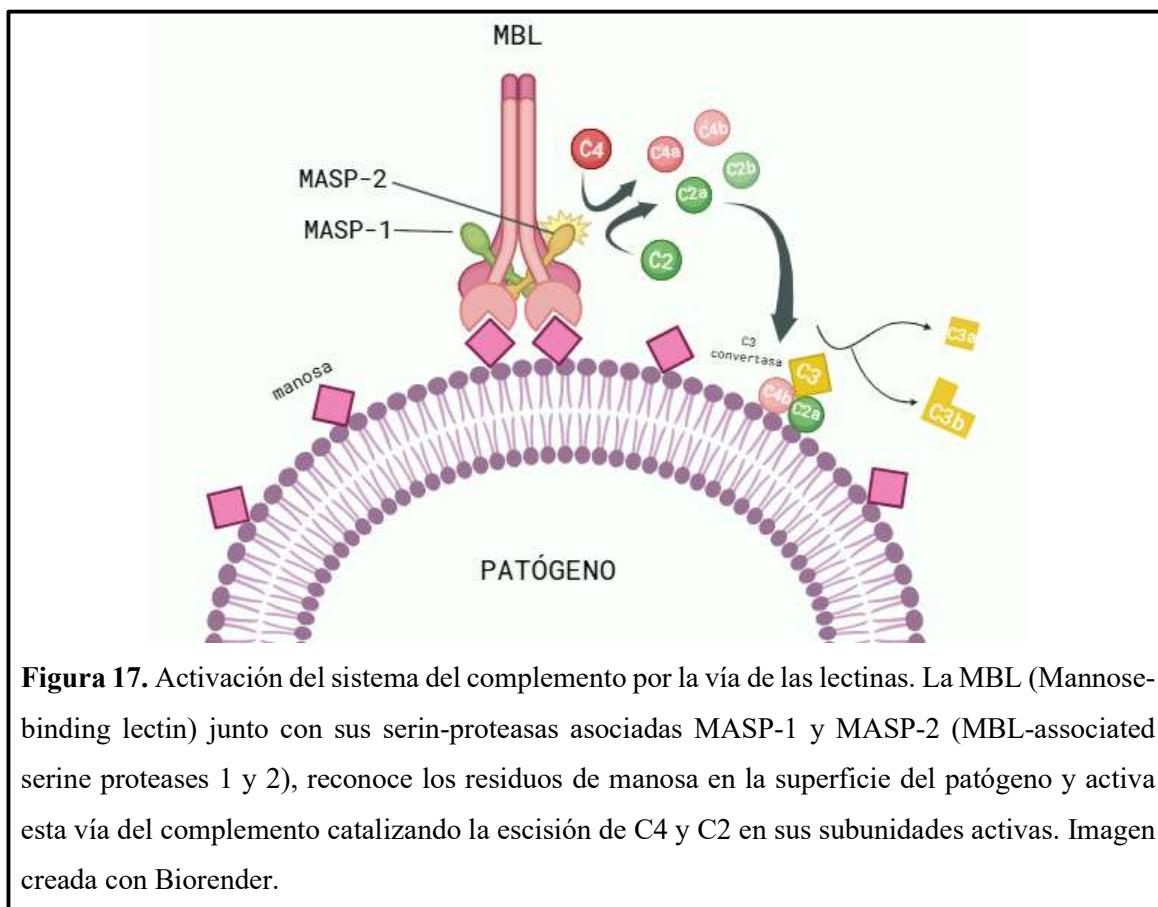
Existen tres grandes mecanismos o vías de activación del complemento: la vía clásica, de las lectinas y alternativa. Las diferencias entre estas vías se sitúan en las etapas iniciales que disparan la activación del sistema del complemento.

- La **vía clásica** es iniciada por el reconocimiento de complejos antígeno-anticuerpo sobre la superficie del patógeno, que es realizado por el componente hexamérico C1q. (Fig. 16) El componente C1q también puede interaccionar con otras

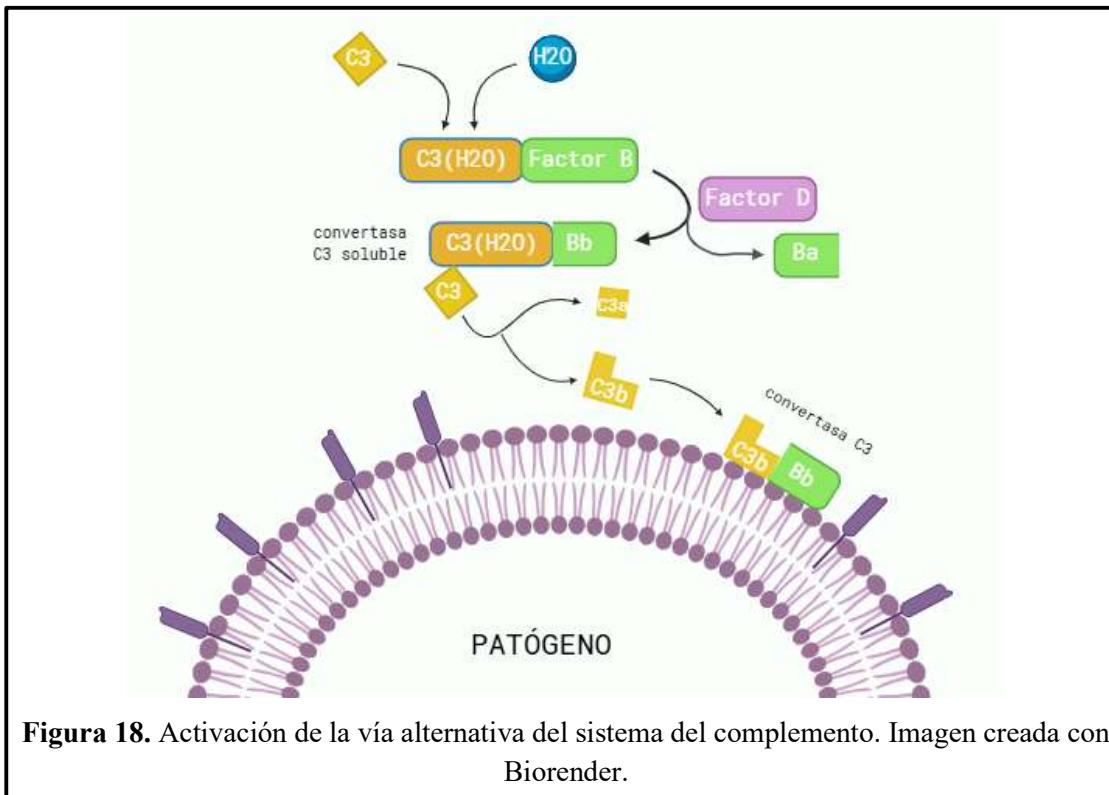
moléculas depositadas sobre el patógeno como son la proteína reactiva C (CRP, *C-reactive protein*) o la pentraxina-3, activando la vía clásica.



- La **vía de las lectinas** es iniciada tras el reconocimiento de carbohidratos sobre los patógenos a través de receptores PRR (*pattern-recognition receptors*), tales como MBL (*Mannose-binding lectin*), ficolinas y colectinas. (Fig. 17)

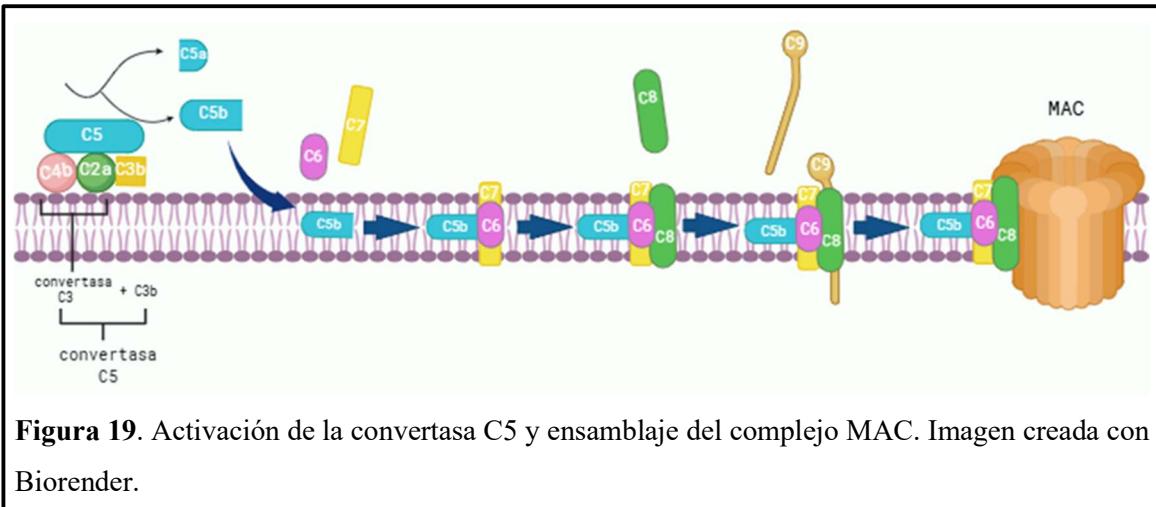


- La **vía alternativa**, considerada evolutivamente la más antigua de las tres, consiste en la deposición sobre estructuras extrañas del componente C3 y su hidrólisis espontánea. Esta vía requiere de la participación de dos factores: B y D. (Fig. 18)



Las tres vías convergen en una etapa central que es la rotura de C3 en sus fragmentos activos C3a y C3b, proceso que es producido por la **convertasa C3**. La deposición de C3b sobre la superficie de los patógenos (proceso conocido como **opsonización**) es desencadenante de 3 importantes procesos:

1. La **fagocitosis del patógeno**, mediada por el reconocimiento de C3b por receptores específicos de células fagocíticas (CR, *complement receptors*).
2. La **amplificación de la activación del complemento** mediante la estimulación de mayor formación de la convertasa C3 unida a membrana.
3. El **ensamblaje de la convertasa C5**: La rotura de C5 en C5b induce la formación de un complejo multiproteico MAC (*membrane attack complex*), primero atrayendo a los componentes C6 y C7 (que se anclan a la superficie del patógeno) y luego reclutando a C8 y C9; finalmente, el **complejo MAC** va a formar poros en la membrana del patógeno, lo que va a provocar su lisis. (Fig. 19)



Por otro lado, durante la activación del complemento se liberan los fragmentos **C3a** y **C5a**, conocidos como **anafilotoxinas**, que van a tener efectos quimiotácticos sobre diversas células del sistema inmunitario, lo que va a desencadenar una **respuesta inflamatoria**.

Finalmente, la presencia de receptores para diversos componentes del complemento en varios tipos de leucocitos, van a inducir la fagocitosis de los patógenos opsonizados con el complemento, lo que a su vez va a conducir a la estimulación de la respuesta inmunitaria adaptativa (activación de linfocitos T y B). En consecuencia, el **sistema del complemento**, componente básico de la respuesta inmunitaria innata o inespecífica, es también un **disparador de la respuesta inmunitaria específica**.

El sistema del complemento, dada su activación en cascada, requiere de una regulación muy fina, pues una deposición sobre los tejidos propios puede producir graves daños, siendo causa de diversas enfermedades. Para evitar una activación del complemento sobre las células propias, el sistema consta de una serie de **reguladores solubles** y unidos a membrana cuya función es la de **impedir la deposición**, o **inhibir la activación**, de componentes **del complemento sobre las células propias**. Dentro de estos reguladores, existe una clase de moléculas estructuralmente relacionadas, conocidas como **RCA** (*regulators of complement activation*), entre las que se encuentran: CR1 (*complement receptor 1*), factor H, FHL-1 (*factor H-like protein-1*), C4BP (*C4-binding protein*), DAF (*decay-accelerating factor*) y MCP (*membrana cofactor protein*). Las RCAs van a **desestabilizar la convertasa C3** o van a promover la **degradación** (mediada por el factor I) de **C3b** a **C3bi**.

Otras moléculas reguladoras son CD59 o la **vitronectina**, que **impiden la formación** del complejo **MAC**, y el inhibidor de C1, que controla la activación de varias enzimas implicadas en las primeras etapas de las vías clásica y de las lectinas.

6.2. Mecanismos de evasión del complemento.

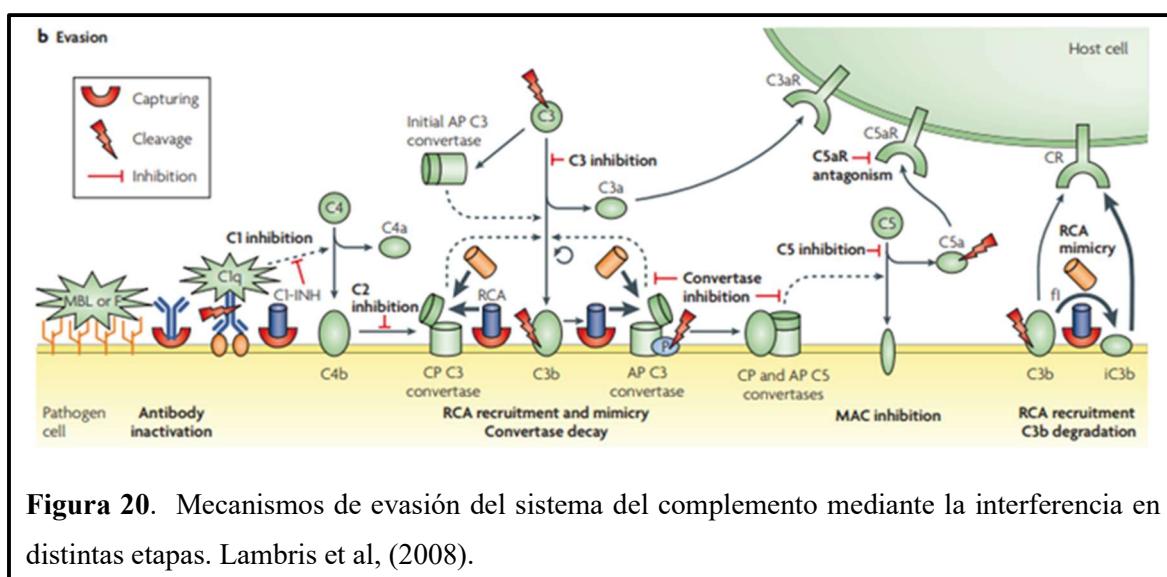
Dado que el sistema del complemento es una pieza fundamental de la respuesta inmunitaria innata y actúa como una primera línea de defensa, no es de extrañar que muchos patógenos hayan desarrollado estrategias de evasión del sistema del complemento. Por otro lado, al contar con muchos componentes, el sistema del complemento va a ser atacado en diversos puntos por los diferentes patógenos.

De acuerdo con su mecanismo de acción, las estrategias de evasión pueden ser clasificadas como:

- **Mimetismo o reclutamiento de proteínas reguladoras:** Aunque los patógenos no suelen poseer moléculas RCA sobre su superficie, sí que han desarrollado métodos para unir de forma estable moléculas RCA presente en el plasma. Esta estrategia es la más ampliamente empleada por los patógenos para evadir el sistema del complemento. Esta estrategia es común en bacterias, hongos, parásitos e incluso virus, como el HIV-1. Esta estrategia tiene una ventaja muy clara: las RCAs son los moduladores naturales del sistema del complemento y, en consecuencia, su reclutamiento asegura un perfecto control del mismo. No obstante, ciertos virus (p. ej., viruela) poseen proteínas inhibidoras del complemento que mimetizan la acción de las RCAs.
- **Inhibición de componentes del complemento:**
 - **Degradación mediada por proteasas:** muy frecuente entre patógenos bacterianos. Por ejemplo, *Pseudomonas* produce una elastasa que rompe inmunoglobulinas y el complejo C1q. También en *Pseudomonas* se han descrito proteasas que rompen C3 dando lugar a fragmentos no funcionales. Los estreptococos poseen una peptidasa específica frente a C5a, interfiriendo así con la señalización quimiotáctica y proinflamatoria (Fig. 20).
 - **Por interacción directa con los componentes del patógeno:** algunos microorganismos poseen moléculas inhibidoras de la función de componentes del complemento. Así, por ejemplo, *Borrelia burgdorferi*, posee en su membrana una

proteína con gran afinidad por C9 y C8b, impidiendo la formación del complejo MAC. De forma similar, los estreptococos también interfieren con la formación del complejo MAC al poseer una molécula con gran afinidad por los complejos C5b-C7 y C5b-C8. Las glicoproteínas de superficie gC1 y gC2 de los virus herpes simplex interaccionan con C3b produciendo un bloqueo de la vía alternativa. Parásitos como *Schistosoma* y *Trypanosoma* poseen moléculas que interaccionan directamente con los componentes C2 y C4, impidiendo la formación de la convertasa C3 a través de la vía clásica. (Fig. 20)

- **Mecanismos pasivos de evasión:** muchos microorganismos lo presentan. Un ejemplo claro es la pared celular de las bacterias Gram-positivas, que por su estructura impide la formación del complejo MAC y, en consecuencia, la lisis celular. (Fig. 20)



6.3. Modulación del sistema del complemento por patógenos.

Aunque la inhibición y la regulación del complemento son los mecanismos predominantes empleados por los patógenos para evadir su acción, **algunos patógenos** son capaces de **inducir la activación del complemento en su propio beneficio**. Uno de estos ejemplos lo encontramos en el HIV-1 (Fig. 21).

Por un lado, el virus se sirve de la opsonización para entrar en células humanas mediante receptores del complemento, pero, por otro, va a impedir la formación del complejo MAC. Las glicoproteínas de superficie, gp41 y gp120, activan el complemento a través de las vías clásica y de las lectinas, y también ellas son responsables del reclutamiento de los factores reguladores H y CD59 a la superficie del virus, que van a

impedir la formación del complejo MAC. Los factores H e I van a romper C3b, generando iC3b, que es inactivo en la cascada del complemento, pero en cambio es activamente reconocido por el receptor CR3, presente en varios tipos de células fagocíticas.

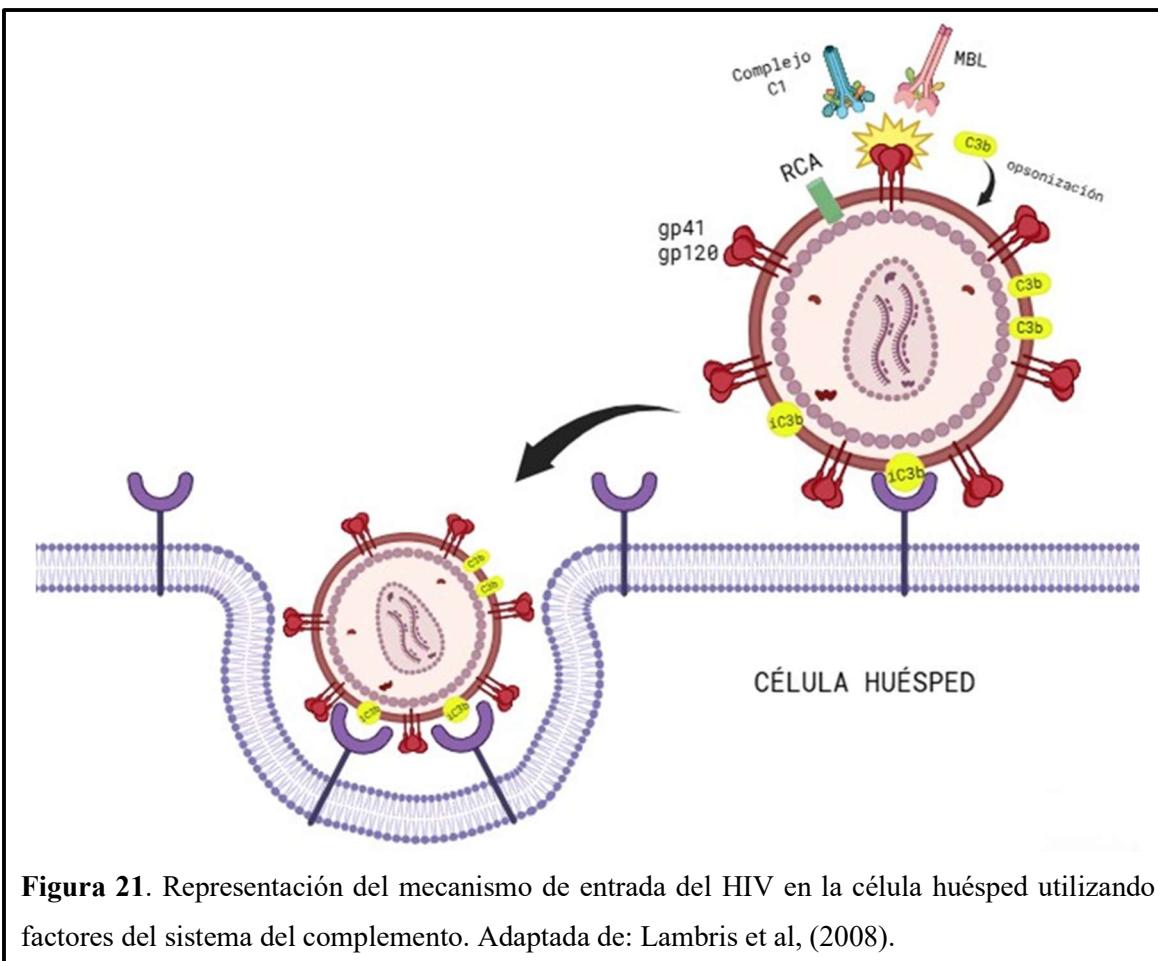


Figura 21. Representación del mecanismo de entrada del HIV en la célula huésped utilizando factores del sistema del complemento. Adaptada de: Lambris et al, (2008).

7. Respuesta inmunitaria innata a nivel intracelular.

El sistema inmunitario está diseñado para detectar y defender al organismo frente a la amenaza que suponen los patógenos. El sistema del complemento, cuyo funcionamiento se ha descrito en el apartado anterior, está diseñado fundamentalmente para reconocer y destruir a los agentes infecciosos cuando se encuentran de forma extracelular. También muchas células fagocíticas y efectoras del sistema inmunitario están preparadas para reconocer y destruir a los patógenos extracelulares o a las células infectadas. Pero existen también componentes del sistema inmunitario que operan a nivel intracelular, y que son capaces de detectar la invasión de células por patógenos. Con esta finalidad, muchas células disponen de receptores, denominados PRRs (*Pattern Recognition Receptors*), que son capaces de reconocer moléculas particulares de los

patógenos, denominadas PAMPs (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*) o las alteraciones moleculares que los patógenos inducen en las células, que se las denomina DAMPs (*Danger-Associated Molecular Patterns*).

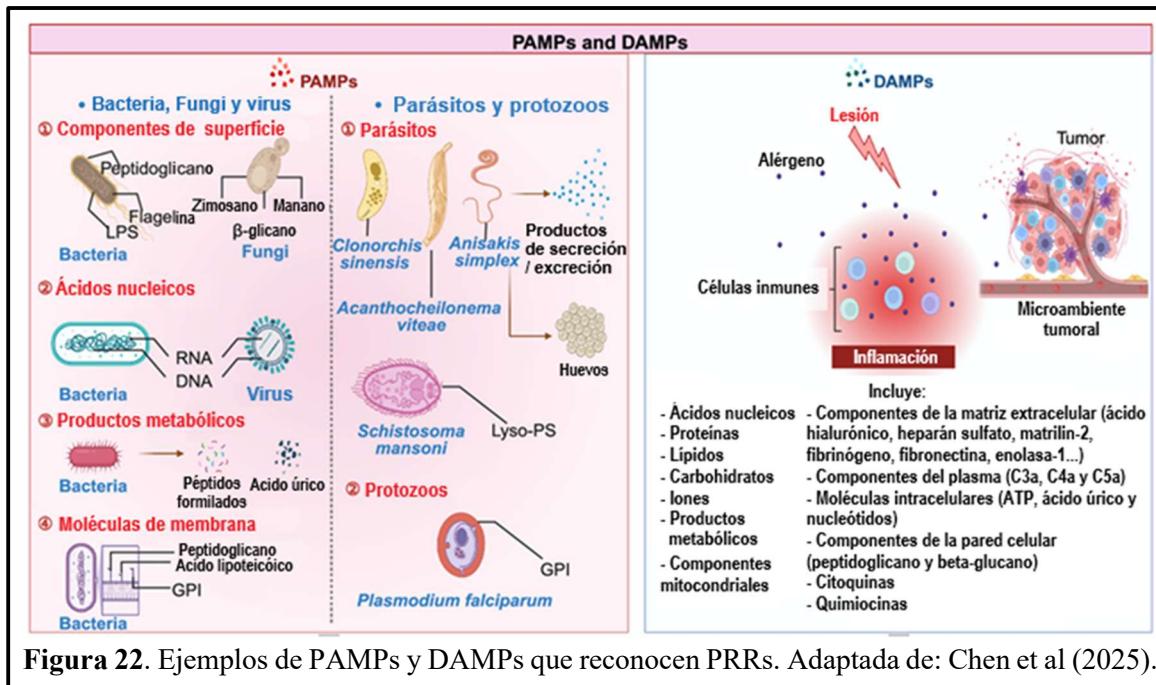


Figura 22. Ejemplos de PAMPs y DAMPs que reconocen PRRs. Adaptada de: Chen et al (2025).

7.1. Tipos de PRRs

Entre los PRRs se encuentran: miembros de la familia de los TLRs (*Toll-like Receptors*), CLRs (*C-type Lectin Receptors*), RLRs (*RIG-I-like Receptors*), NLRs (*NOD-like Receptors*), sensores de ácidos nucleicos y PRMs solubles extracelulares.

TLRs y CLRs se encuentran unidos a membrana y detectan los PAMPs y DAMPs en la superficie celular o en la vía endocítica. ALRs, NLRs, RLRs y los sensores de DNA y RNA reconocen a los PAMPs y DAMPs que han alcanzado el citoplasma de la célula.

Los **TLR** presentan un dominio extracelular con LRRs (*Leucine-rich repeats*) que median el reconocimiento de señales, regiones transmembrana y los dominios citoplasmáticos TIR que activan las vías de señalización aguas abajo. Al reconocer PAMPs o DAMPs, los TLRs interactúan con MYD88 o TRIF y desencadenan cascadas de señalización posteriores, lo que finalmente conduce a la liberación de citocinas inflamatorias, IFN-I, quimiocinas y péptidos antimicrobianos.

La familia de **RLR** incluye tres miembros: LGP2, MDA-5 y RIG-I (Tabla 3). Estructuralmente, las RLR consisten en dos dominios CARD en N-terminal, un dominio central DDX/ATPase y un dominio regulatorio C-terminal. En RIG-I, el C-terminal

comprende la RD y la CTD, mientras que MDA-5 carece de RD, por lo que carece de capacidades autoinhibidoras.

A diferencia de otros miembros de la familia RLR, LGP2 carece del dominio CARD, lo que impide su capacidad para reclutar moléculas implicadas en la transducción de señales.

Dentro de los **CLRs** se incluyen CLEC4E (MINCLE), CLEC7A (Dectin-1), Dectin-2, CLEC8A, CLEC9A (DNGR1) CLEC12A y MRs. Dectin-1 presenta un CTLD extracelular y una cola intracelular vinculada a un dominio ITAM, mientras que Dectin-2 carece de la secuencia ITAM y no tiene la capacidad de transducción de señal. El segmento extracelular de las MRs consta de dos partes: el extremo proximal de la membrana con ocho CTLDs consecutivos, responsable de la endocitosis y el transporte del ligando, y el extremo distal de la membrana, con un dominio lectina rico en cisteína que reconoce conjugados de carbohidratos sulfatados.

Los **PRMs solubles extracelulares** incluyen diversas familias moleculares, principalmente pensurginas, colectinas y ficolinas. Las pensurginas se clasifican en dos familias: moléculas pequeñas y moléculas grandes. Estas moléculas se sintetizan predominantemente en el hígado en respuesta a señales inflamatorias e interleucinas.

Las colectinas y las ficolinas son ambos oligómeros compuestos por subunidades básicas, cada una compuesta por tres cadenas polipeptídicas con cuatro dominios: un dominio rico en cisteína N-terminal, una secuencia similar a colágeno, una región cuello α -helicoidal y un dominio funcional de reconocimiento de patrones en el C-terminal. El dominio funcional difiere entre colectinas y ficolinas; las colectinas presentan un CRD globular, mientras que las ficolinas poseen un dominio similar al fibrinógeno.

Las **NLR** están compuestas por tres dominios principales: uno es el dominio central de unión a nucleótidos, también conocido como dominio NACHT (sintetizado por las abreviaturas de los siguientes cuatro miembros NLR: NAIP, CIITA, HETE y TEP1), LRRs en el extremo C, que se utilizan para identificar ligandos; y el dominio efector N-terminal, que es el dominio de interacción proteica, como CARD o PYD. Basándose en sus distintos dominios efectores de N-terminales, las NLR pueden categorizarse en cinco subfamilias. NLRA, NLRB, NLRC, NLRP y NLRX1.

Dentro de los sensores de ácidos nucleicos se encuentran los **ALRs**, **cGAS** y **RBPs**.

Estructuralmente, AIM2 consta de un dominio HIN-200 C-terminal y un PYD N-terminal. Actuando como receptor de ADN citosólico, AIM2 interactúa directamente con el ADNdd a través de su dominio HIN-200. El PYD de AIM2 interactúa con el PYD correspondiente de la proteína adaptadora del inflamasoma ASC. Posteriormente, la CARD de ASC se conecta con la CARD de procaspasa-1, lo que conduce a la formación del inflamosoma AIM2.

Los cGAS, al detectar ADN citosólico, sintetizan 2'3'-cGAMP a partir de ATP y GTP. El cGAMP producido actúa como segundo mensajero, uniéndose y activando la proteína residente en el retículo endoplasmático, STING. Esta interacción conduce a la dimerización y autofosforilación de STING, que luego recluta y activa TBK1. Posteriormente, TBK1 fosforila el factor de transcripción IRF3, promoviendo su dimerización, translocación nuclear y activación de ISGs (*Interferon-stimulated gene*). Esta vía es crucial para la inducción de respuestas de interferón tipo I contra patógenos intracelulares.

Dentro de los RBPs (*RNA-binding protein*) se incluyen a la proteína ribosómica SA (RPSA) y la ribonucleoproteína nuclear heterogénea A2/B1 (HNRNPA2B1).

El N-terminal de las proteínas HNRNPA2/B1 contiene dos motivos de reconocimiento de ARN (RRM1 y RRM2), y el C-terminal es una región de baja complejidad (LC) rica en glicina que contiene una caja RGG, una señal de localización nuclear M9 (NLS) y un dominio central similar a príón (PrLD). Al detectar ADN viral en el núcleo, HNRNPA2B1 se transloca al citoplasma, donde media la respuesta inmune nuclear innata al desencadenar la producción de interferón tipo I (IFN-I), activando la quinasa citoplasmática de unión a TANK 1 (TBK1) y facilita la translocación y expresión nucleocitoplasmática de ARN mensajeros clave para la respuesta como CGAS, la proteína inducible de interferón-γ (IFN-γ) 16 (IFI16) y STING, que amplifican la señalización antiviral.

TABLA 3. TIPOS DE PRRs

PRRs	Ejemplos	Localización subcelular	PAMs/DAMPs
TLRs	TLR1-TLR10 (En humanos)	Membrana plasmática o endosomas	Lípidos, lipoproteínas, proteínas y ácidos nucleicos
CLRs	MINCLE, DNGR1 (o CLEC9A), CLEC8A, CLEC12A y CLEC7A (o Dectin-1)		Estructuras de fucosa, manosa y glucanos
NLRs	NLRA, NLRB, NLRC, NLRP y NLRX1	Citoplasma	Pared celular bacteriana
RLR	LGP2, MDA5 y RIG-I		RNA
Sensores de ácidos nucléicos	cGAS, ALRs (AIM2), RBPs		DNA/RNA
PRMs solubles extracelulares	Pentraxina (CRP, APCS y PTX3), colectina y ficolina	Matriz extracelular	Fosfocolina, proteína A, TLR, resíduos azucarados, N-acetilglucosamina, ácido lipoteicoico (LTA), etc.

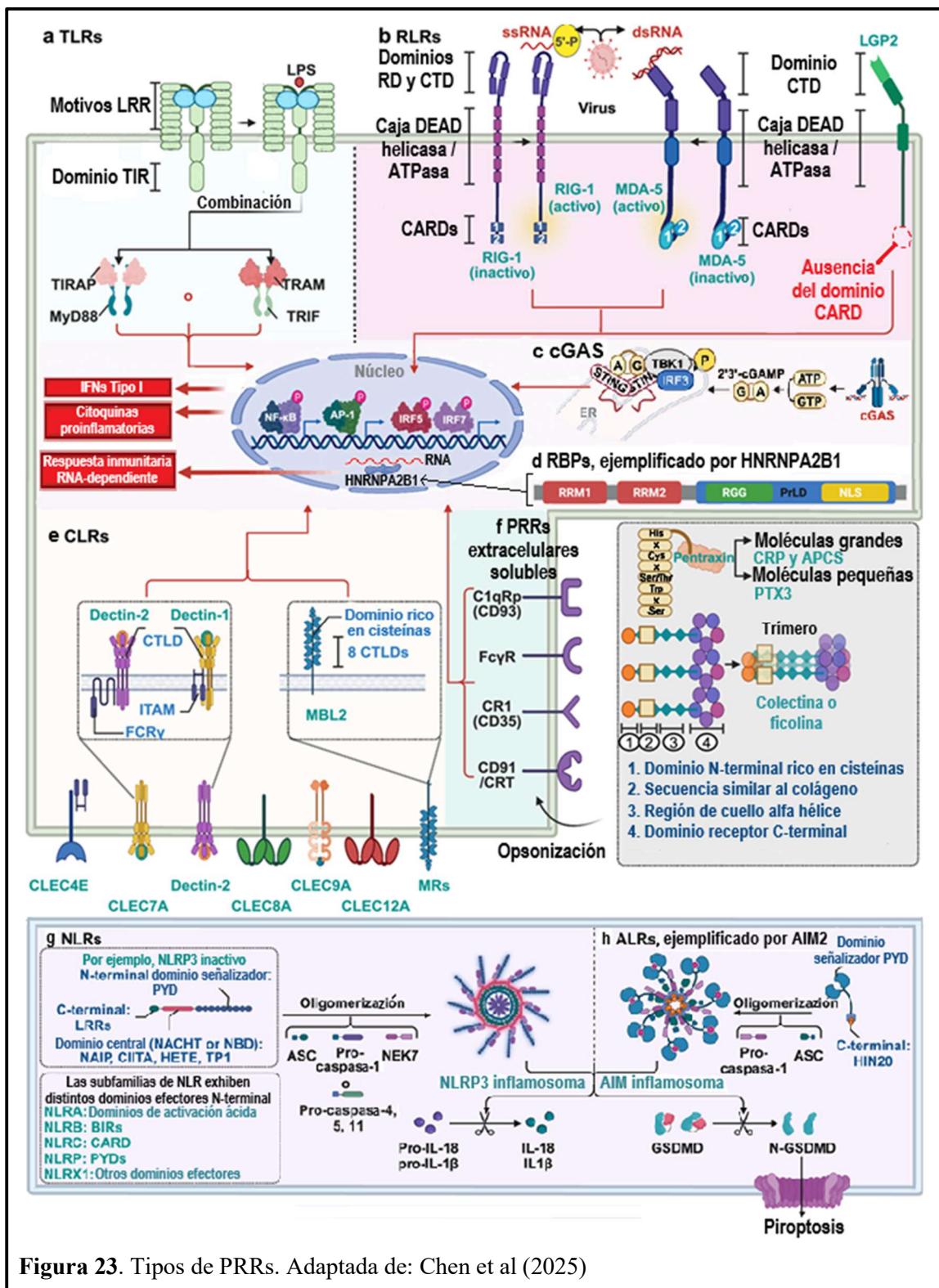


Figura 23. Tipos de PRRs. Adaptada de: Chen et al (2025)

7.2. Señalización de PRRs

Con frecuencia estos diversos tipos de receptores actúan de forma sinesgística. La activación de los PRRs promueve diversas actividades antimicrobianas a través de la activación de numerosas vías de señalización: activación del inflamósoma, NF-κB, de las quinasas activadas por mitógenos (MAPK), dependientes de MYD88, dependientes de

TRIF, cGAS-STING-IFN, dependientes de Ca²⁺. Todas estas generaran un ambiente inhóspito para el parásito.

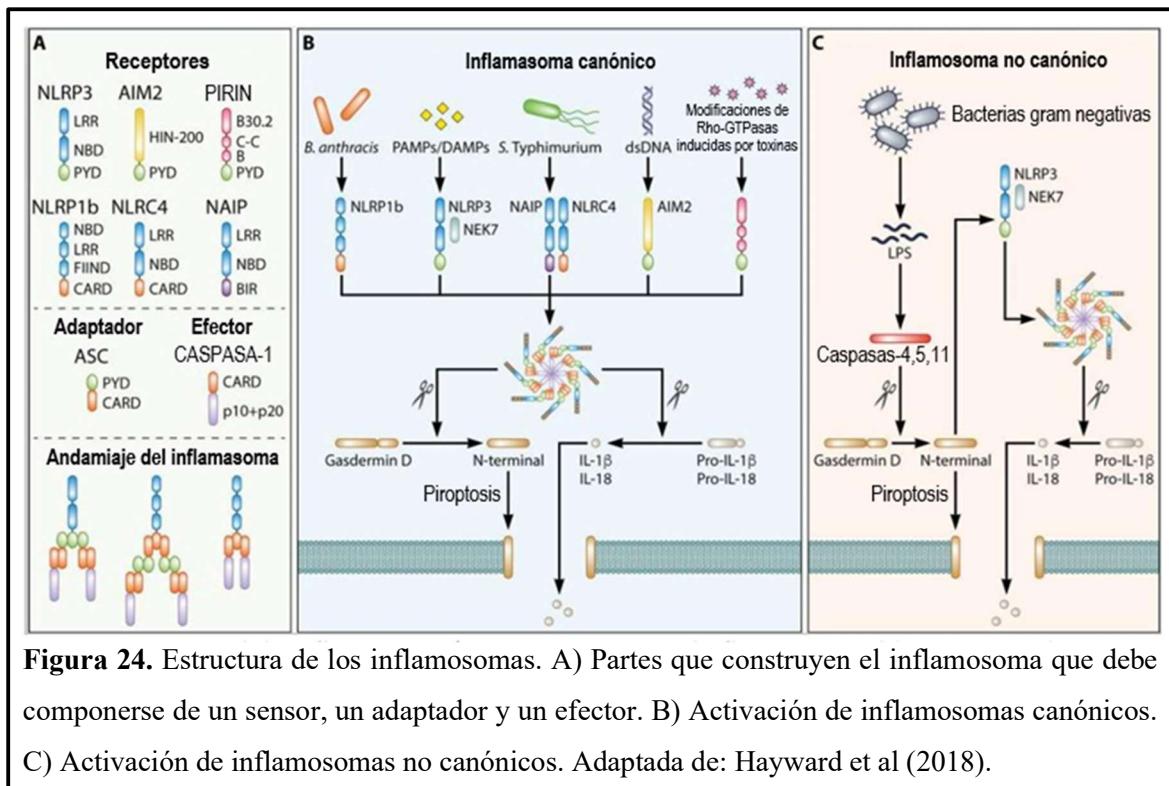
Complejo de inflamatosomas

Algunos tipos de NLRs y ALRs, tras su activación por PAMPs o DAMPs, promueven la formación del inflamasoma, que es un complejo multiproteico que regula la activación de una cisteín-proteasa, denominada caspasa-1, que va a procesar, y favorecer su secreción, de las citoquinas pro-inflamatorias interleuquina-1 β (IL-1 β) e IL-18. Además, el inflamasoma induce un tipo de muerte celular denominada piroptosis. Es también la caspasa-1 la que activa la piroptosis al producir la rotura del factor pro-piroptótico gasdermina D, liberando un fragmento N-terminal que oligomeriza y forma poros en la membrana celular. Las consecuencias son la hinchazón de la célula y su muerte por lisis, y la liberación de los contenidos citoplasmáticos, entre los que se incluyen las citoquinas activas IL-1 β e IL-18.

Además de la vía de formación del inflamasoma, denominada canónica, existe la vía no canónica del inflamasoma que se induce específicamente en respuesta a bacterias Gram-negativas, en la que los lipopolisacáridos (LPS) liberados por la bacteria durante la invasión interaccionan con las caspasas 4 y 5 de humanos o la caspasa-11 de ratón. Estas caspasas activadas van a romper a gasdermina D, como lo hace la caspasa-1, lo que va a inducir la piroptosis. La parte N-terminal de la gasdermina D también induce a NLRP3, con lo que se desencadena la formación del inflamasoma capaz de promover la rotura de pro-IL-1 β y pro-IL-18.

Algunos de los sensores se activan, además de por la presencia de PAMPs, por DAMPs, por perturbaciones celulares asociadas a la infección. Así, NLRP3 responde a perturbaciones tales como la rotura lisosomal, los cambios iónicos asociados a la aparición de poros en la membrana y la producción de especies reactivas de oxígeno.

La secreción de IL-1 β e IL-18, y la inducción de piroptosis, actúan promoviendo una respuesta inflamatoria destinada a la destrucción del patógeno. Ambas citoquinas son un puente entre la respuestas inmunitarias innata y adaptativa. La IL-1 β actúa promoviendo la vasodilatación y la extravasación de las células inmunitarias, mientras que IL-18 activa la inflamación local y la producción de IFN-gamma por parte de células NK, linfocitos T CD4 ayudadores Th1 y linfocitos T citotóxicos.



7.3. Regulación de la señalización de PRRs

Para distinguir entre estímulos inofensivos y potencialmente dañinos, el sistema inmunitario debe interpretar con precisión las señales activadoras. En consecuencia, el umbral de activación del sistema inmunitario debe depender del contexto y ser adaptable. Las iPRRs desempeñan un papel fundamental ya que elevan el umbral de activación para prevenir respuestas inmunitarias excesivas a estímulos benignos, minimizando así el riesgo de inflamación inapropiada. Así, las iPRR actúan como contrapartes regulatorias a la activación de las PRR, asegurando una respuesta inmune equilibrada y adecuada al contexto.

Los iPRRs son receptores de PAMPs y DAMPs que transmiten predominantemente señales inhibitorias a través de uno o más motivos inhibidores basados en tirosina (ITIM) o, en ciertos casos, un motivo de conmutación basado en tirosina (ITSM). Tras la unión del ligando al receptor, estos motivos sufren una fosforilación, lo que desencadena el reclutamiento de efectores inhibitorios que contienen dominios de homología Src 2 (SH2) que son los que van a inhibir la señales de PRRs.

TABLA 4. EJEMPLOS DE iPRRs Y SUS EFECTORES

RECEPTORES iPRRs	EFECTORES DE iPRRs
CD300a/f, Siglec-2, 3 y 5–11, CEACAM1, LILRB1, LILRB3, TIGIT, PVR, LAIR-1 y SIRL-1, PDCP1, CTLA4 y IDO1	PTPN6, PTPN11, INPP5D, SHP-1/2, SHIP y CSK.

8. Conceptos de virulencia y patogenicidad.

La definición de estos conceptos es difícil y viene condicionada por la complejidad de la relación hospedador-patógeno. A continuación, se definen algunos de los térmicos más frecuentemente utilizados:

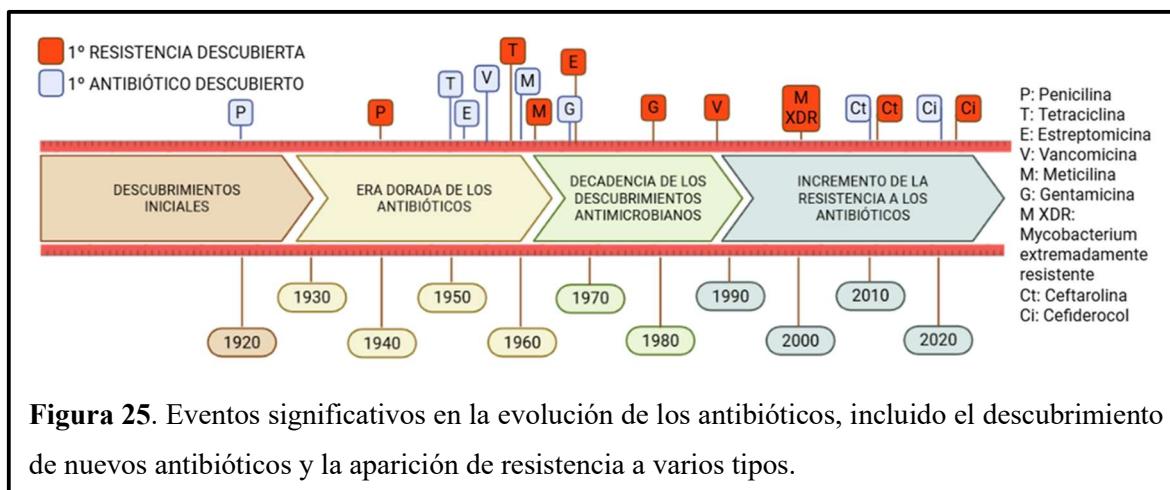
- **Patógeno.** Organismo capaz de causar daño al hospedador, el daño puede ser una consecuencia directa del patógeno o de la respuesta inmunitaria del hospedador.
- **Patogenicidad.** La capacidad de un organismo de producir daño en el hospedador. Es un término cualitativo, se es patógeno o no.
- **Virulencia.** Grado de patogenicidad. La capacidad relativa de un microbio para causar daño en el hospedador. La virulencia es una propiedad del patógeno, pero que es modulada por la susceptibilidad o resistencia del hospedador.
- **Factor o determinante de virulencia.** Un componente del patógeno responsable del daño al hospedador. Si el patógeno carece de este factor, sigue siendo viable pero no es capaz de producir infección.
- **Enfermedad.** Se alcanza este estado cuando el daño es suficientemente grande como para perturbar la homeostasis o funcionamiento normal del hospedador. Hay que diferenciarlo del concepto de infección, que denota la presencia del patógeno en el hospedador, pudiendo o no estar alterando de forma manifiesta al hospedador.

9. Estrategias de lucha contra las enfermedades infecciosas y vacunas

Las enfermedades inducidas por parásitos, tanto en animales como en humanos, suponen una considerable carga médica y económica en muchos países. Por ello se han desarrollado a lo largo del tiempo numerosos fármacos antimicrobianos que combaten varias enfermedades infecciosas.

A pesar de la disponibilidad de un gran número de fármacos poderosos y efectivos existe una necesidad imperiosa para el desarrollo de vacunas. Las razones para ello son múltiples. Una de las más importantes es el problema, que va en aumento, de la resistencia de los vectores y parásitos frente a los fármacos.

Conocemos como “resistencia a los antibióticos” a la capacidad de los patógenos para sobrevivir contra los fármacos que amenazan su existencia y restringen su proliferación.



La penicilinasa, que es capaz de destruir la penicilina, se identificó por primera vez en 1940 en *Staphylococcus* (Fig.25) Fue la primera enzima reportada capaz de destruir la estructura de un antibiótico. En los años siguientes, más investigaciones informaron de la presencia de esta enzima desactivadora en algunos otros microbios, y durante las décadas siguientes, la exposición de las poblaciones bacterianas a una alta concentración de diferentes antibióticos exacerbó la situación de resistencia hasta el punto en el que, actualmente, se conocen alrededor de 15 familias de bacterias farmacorresistentes algunas de las cuales la Organización Mundial de la Salud ha clasificado por prioridad “critica”, “alta” o “media” en función de la repercusión que tienen en la salud pública y su rango de incidencia a nivel global. Podemos ver unos ejemplos representativos en la Tabla 5.

La resistencia a los antibióticos puede conseguirse por varios mecanismos como la mutagénesis produciendo un “resistoma” que permite una resistencia primaria sin previa exposición al fármaco. Un ejemplo de esto es la resistencia a fluoroquinolonas mediante mutaciones en los genes codificadores de ADN girasa *gyrA* y *gyrB* o resistencia a macrólidos mediante mutaciones en las secuencias de ARN 23S ribosómico. Otro mecanismo es por transferencia horizontal que generalmente implica plásmidos que

contienen genes de resistencia a antibióticos como, por ejemplo, los genes blaNDM-1 y mcr-1 contra carbapenémicos y colistina respectivamente.

Ambos mecanismos, la respuesta inmunitaria exitosa y la evasión del sistema inmunitario, tienen consecuencias sobre el desarrollo de vacunas.

La presencia de casos de inmunidad natural adquirida frente al parásito es un signo de la factibilidad de desarrollar una inmunización exitosa. No obstante, en el desarrollo de vacunas debe tenerse en cuenta aquellas personas con sistemas inmunológicos comprometidos o con afecciones médicas subyacentes, lo que dificulta una buena respuesta a la vacunación. Pero si el parásito puede evadir la respuesta inmunitaria mediante alguno de los mecanismos mencionados antes, entonces las posibilidades para una vacunación exitosa se encuentran drásticamente reducidas, y en algunos casos parece improbable que la inmunización sea posible nunca.

TABLA 5. CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS FARMACORRESISTENTES MÁS PELIGROSAS PARA LA SALUD HUMANA ACTUALMENTE

Bacteria	Resistencia contra:
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Rifampicina
Enterobacteriales	Cefalosporinas de 3º generación
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Carbapenémicos
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Enterococcus faecium</i>	Vancomicina
<i>Staphylococcus aureus</i>	Meticilina
<i>Salmonella Typhi</i>	
<i>Shigella</i> spp	Fluoroquinolonas
Salmonelas no tifoideas	
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
Estreptococos	Macrólidos
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	
<i>Haemophilus influenzae</i>	Ampicilina

● Prioridad Crítica ● Prioridad Alta ● Prioridad Media

Los diferentes métodos de vacunas tradicionales, como las vacunas inactivadas o vivas atenuadas, las vacunas de vectores virales y las vacunas de subunidades, junto a las tecnologías emergentes de vacunas no virales, incluidas las vacunas de partículas y nanopartículas similares a las virales, las vacunas de ADN/ARN y el diseño racional de

vacunas, ofrecen nuevas estrategias para abordar los desafíos existentes en el desarrollo de vacunas.

Las vacunas vivas atenuadas se han utilizado frecuentemente contra las protozoosis importantes, como babesiosis y coccidiosis, así como para *Theileria annulata*, pero a pesar del alto nivel de inmunidad inducido, existen consideraciones comerciales y sanitarias que limitan su aplicación.

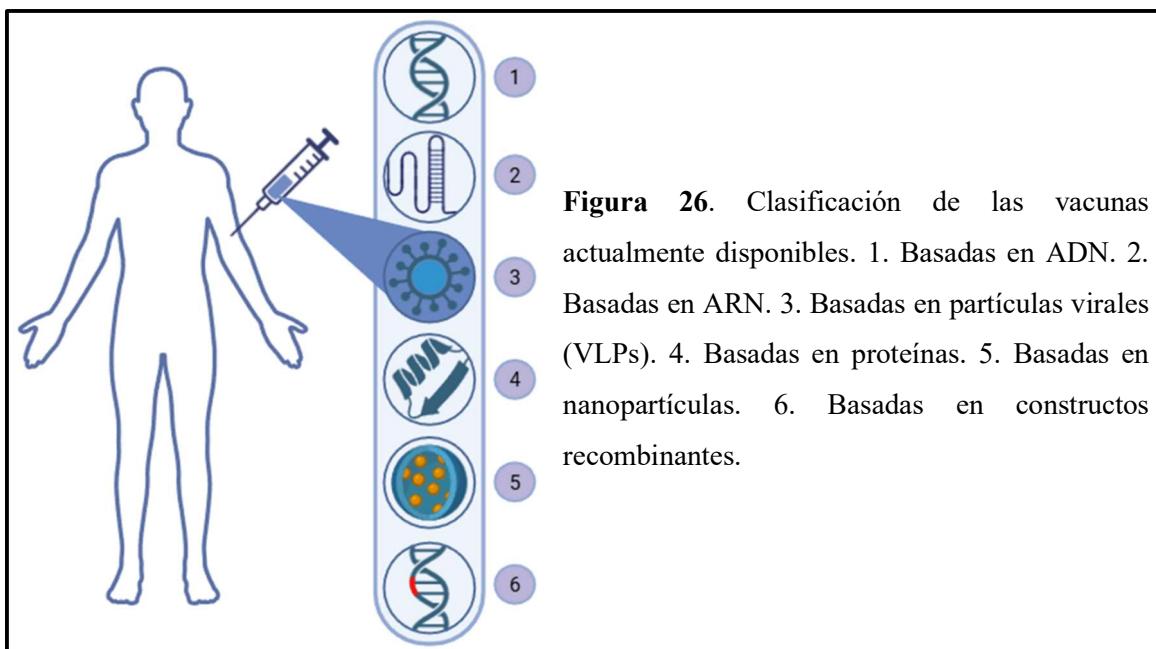


Figura 26. Clasificación de las vacunas actualmente disponibles. 1. Basadas en ADN. 2. Basadas en ARN. 3. Basadas en partículas virales (VLPs). 4. Basadas en proteínas. 5. Basadas en nanopartículas. 6. Basadas en constructos recombinantes.

Las nuevas tecnológicas vacunales, basadas en RNA mensajero han evolucionado la inmunización al permitir una respuesta rápida frente a patógenos emergentes, como se demostró durante la pandemia del COVID-19.

En la producción de vacunas vectorizadas, los poxvirus han sido evaluados exitosamente para la prevención de enfermedades de interés en salud humana; por ejemplo, la malaria y otras enfermedades.

La investigación actual también se orienta hacia el diseño de vacunas terapéuticas dirigidas a infecciones crónicas o enfermedades virales persistentes como el VIH o la hepatitis B. Además, la combinación de vacunas con adyuvantes de nueva generación, nanopartículas y moduladores de la respuesta inmune promete mejorar la eficacia sin incrementar la toxicidad.

Por otra parte, ante la crisis global de resistencia antimicrobiana, resurgen estrategias alternativas como la terapia fágica, los péptidos antimicrobianos y los

probóticos de diseño, que buscan restaurar el equilibrio microbiano y reducir la dependencia de los antibióticos tradicionales.

10. Resistencia a fármacos.

Un campo importante de lucha contra las enfermedades infecciosas es el desarrollo de moléculas químicas (fármacos) capaces de interaccionar con la maquinaria biológica del patógeno sin interferir con los procesos vitales del hospedador. Este es un campo muy importante y de gran actividad investigadora y, donde el conocimiento de la biología molecular de los patógenos ha ayudado decisivamente al desarrollo de fármacos cada vez más potentes y específicos.

Sin embargo, en muchos casos el patógeno ha sabido defenderse, creando el fenómeno conocido como "resistencia a drogas". Este tema será abordado junto con la descripción de aquellos patógenos donde estos mecanismos han sido descritos de forma más extensa.

No solo las bacterias han conseguido desarrollar mecanismos de resistencia, también virus, hongos y parásitos lo han logrado.

- 1) **Resistencia a antibióticos:** es un problema grave, siendo considerado por la Organización Mundial de la Salud como una de las tres amenazas más importantes para la salud pública del siglo XXI. Se calcula que causará alrededor de 300 millones de muertes prematuras para 2050. Esto sin contar la cuantiosa pérdida económica que supone.

Para entender la resistencia a antibióticos, hay que saber que ésta no es una característica nueva, sino que surge del desarrollo de mecanismos de supervivencia por parte del patógeno a compuestos antimicrobianos, la mayoría de ellos, moléculas que se encuentran en el medio natural y la resistencia ha sido adquirida por las bacterias para contrarrestar su acción. Normalmente la mayoría de los organismos se consideran **intrínsecamente resistentes** a uno o más antimicrobianos, esta resistencia no suele causar problemas. En entornos clínicos se habla de **resistencia adquirida** para referirse a una población bacteriana que anteriormente era susceptible al compuesto antimicrobiano. El desarrollo de resistencia adquirida se puede dar por diferentes mecanismos:

- **Mutaciones en genes cromosómicos**, normalmente asociadas con el mecanismo de acción del compuesto. Las mutaciones pueden generar:
 - **Modificaciones en la diana antimicrobiana** (disminuye la afinidad del antibiótico por su sitio de unión)
 - **Disminución en la captación del fármaco**
 - **Activación de mecanismos de eflujo** capaces de expulsar la molécula dañina.
 - **Cambios en vías metabólicas** afectadas por antibacterianos mediante la modulación de redes reguladoras.
- **Adquisición de ADN foráneo** que codifique determinantes de resistencia mediante transferencia horizontal de genes:
 - **Transformación**: incorporación de ADN del ambiente
 - **Transducción**: transmisión mediada por fagos
 - **Conjugación**: transmisión del ADN por el contacto directo entre bacterias

La mayoría de los agentes antimicrobianos utilizados en la práctica clínica derivan de productos presentes de forma natural en el medio ambiente (principalmente suelo). Las bacterias que comparten el entorno con estas moléculas poseen determinantes genéticos intrínsecos de resistencia, hay evidencias sólidas de que este “**resistoma ambiental**” es una **fuente** abundante de adquisición de **genes de resistencia a antibióticos** en bacterias de relevancia clínica. Esté intercambio además se ha visto implicado en la diseminación de resistencias a muchos antibióticos de uso frecuente.

Un ejemplo se da en la bacteria *Staphylococcus aureus* y su mecanismo de resistencia al antibiótico **meticilina**:

Staphylococcus aureus puede causar una amplia gama de infecciones en humanos. Los sitios más comúnmente afectados son la piel y los tejidos blandos, produciendo foliculitis, mastitis, infecciones de heridas y síndrome de piel escaldada estafilocócica entre otros. También puede provocar infecciones más graves que incluyen bacteriemia, neumonía, endocarditis, infecciones de huesos y articulaciones, así como síndrome de choque tóxico e incluso intoxicación alimentaria. La versatilidad de *S. aureus* como patógeno se extiende también a su amplio rango de hospedadores, donde se incluye tanto a muchos animales como al ser humano.

Inicialmente las infecciones por *S. aureus* eran tratadas con penicilina, pero la bacteria rápidamente adquirió resistencia, alcanzando actualmente tasas de resistencia superiores al 90%. En respuesta a esta situación, se desarrolló un nuevo tratamiento antibiótico, una β -lactámica semisintética llamada meticilina. Sin embargo, rápidamente *S. aureus* volvió a desarrollar resistencia, originando cepas conocidas como ***Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM)**.

Aunque la meticilina ya no se utiliza clínicamente ni se produce comercialmente, el término SARM ha persistido. Además, la denominada resistencia a meticilina se manifiesta como resistencia a prácticamente todos los β -lactámicos, con la excepción de algunas cefalosporinas de última generación. Las cepas de SARM también puede adquirir resistencia frente a múltiples antimicrobianos alternativos, lo que complica aún más el tratamiento de las infecciones producidas por estos.

10.1 Mecanismo de resistencia de *S. aureus* a meticilina

La **meticilina** es un fármaco β -lactámico. Estos fármacos se caracterizan por **atacar la biosíntesis de la pared celular** bacteriana inhibiéndola. La pared celular de las bacterias tiene como componente principal, el **peptidoglicano**, una macromolécula compuesta por cadenas repetidas de disacáridos formados por N-acetilglucosamina (NAG) y N-acetilmurámico (NAM), unidos por **enlaces β -1,4-glicosídico** (mediante la reacción de **transglicosilación**). Estas cadenas se entrelazan mediante enlaces peptídicos a través de las cadenas laterales de aminoácidos que unidas al NAM, en un proceso denominado **transpeptidación**, **forman** una red tridimensional fuerte que aporta **resistencia mecánica** a la bacteria.

La síntesis de la pared depende de dos reacciones principalmente, la **transglicosilación** y la **transpeptidación**, ambas **catalizadas por las proteínas de unión a penicilina (PBP)**. Éstas se comportan como las dianas de acción de los β -lactámicos, que actúan **inhibiendo la transpeptidación**.

A diferencia de la resistencia a penicilina de *S. aureus*, que fue transmitida por plásmidos, la **resistencia a meticilina** se considera **intrínseca**, ya que surge con la aparición de una **nueva proteína PBP**, denominada PBP2a, con **afinidad reducida a los antibióticos β -lactámicos**. Esta nueva proteína es codificada a partir del gen de resistencia a meticilina **mecA**, presente sólo en cepas resistentes.

La transpeptidación comienza con la unión del residuo de serina del sitio activo de una proteína PBP a la estructura terminal **D-Ala-D-Ala** de la cadena lateral del NAM. Esto provoca la liberación de una de las D-alaninas y la **adicción de un grupo acilo** a la D-Ala restante, formando una **estructura intermedia acil-enzima**. La desacilación de este intermedio se produce mediante el **ataque nucleofílico** del grupo amino en la posición 3 de otra cadena lateral de un peptídica adyacente, que genera la expulsión del grupo acilo y produce un nuevo **enlace cruzado** entre las cadenas de peptidoglicano.

En el caso de los antibióticos **β-lactámicos**, éstos actúan como **análogos estructurales** de los extremos D-Ala-D-Ala, siendo **reconocidos por las PBP**, que se unen a ellos. La formación de este complejo genera un enlace covalente prácticamente irreversible, esto es debido al **anillo β-lactámico**, que impide la entrada de agua u otros grupos nucleofílicos que permita su desacilación. Este “secuestro” de las proteínas PBP bloquea la transpeptidación, impidiendo la síntesis adecuada de peptidoglicano, lo que provoca la **pérdida de entrecruzamiento**, debilitamiento de la pared bacteriana y produciendo finalmente la **muerte celular**. La regeneración de la PBP es extremadamente lenta en relación con la velocidad de división celular, por lo que la enzima se inactiva de forma irreversible.

La proteína **PBP2a** de las bacterias *S. aureus* resistentes a meticilina (Fig. 27) cuenta con **tres regiones principales**:

- **Dominio transpeptidasa.**
- **Dominio de no unión a penicilina** con un sitio alostérico.
- **Dominio transmembrana.**

Como características destacables, el residuo de serina del sitio activo de PBP2a es menos accesibles a β -lactámicos que en las PBP susceptibles, ya que se encuentra escondido dentro de una hendidura estrecha. Además, la **acilación necesita de un cambio conformacional** que exponga a la serina catalítica, este proceso es más **costoso** para la bacteria, por lo que estaría menos favorecido que las PBP sensibles. La unión de un ligando al sitio alostérico es el responsable de inducir el cambio conformacional, por lo que se plantea como una posible diana terapéutica para el diseño de nuevos antibióticos.

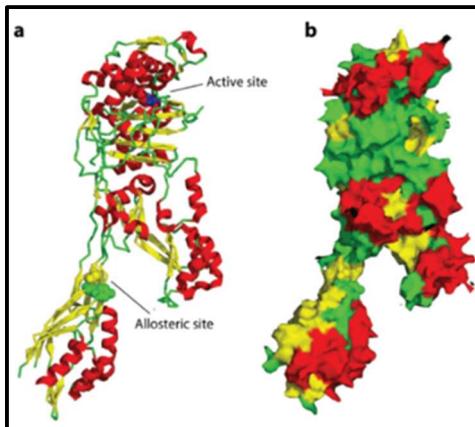


Figura 27. Estructura de la proteína de unión a la penicilina 2a (PBP2a) de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) representada en dos vistas: a) Diagrama de cintas con la estructura secundaria y sus sitios funcionales b) Vista topológica de la superficie de la proteína. Peacock y Paterson, (2015).

La proteína **PBP2a** está codificada por el gen **mecA**, que forma parte del **elemento genético móvil, el SCC mec**. Este elemento puede insertarse, moverse o transferirse entre bacterias en forma de molécula de DNA circular, cuya zona de escisión e inserción está mediada por las **recombinasas** codificadas en los **genes ccr** dentro del SCC mec. La integración de SCC mec se da por fenómenos de recombinación entre las regiones **attSCC** del interior de SCC mec circular y **attB** del cromosoma bacteriano, en el extremo 3' del gen **orfX**. Esta inserción no interrumpe la función de **orfX**. Los elementos SCC mec son muy variables, reconociéndose principalmente 11 tipos (I-XI). Aunque hay gran diversidad dentro de éstos, todos comparten unas características comunes.

La **estructura de SCCmec** incluye tres elementos principales:

- **Complejo génico mec:** contiene los genes
 - **mecA:** codifica para las proteínas de unión a la penicilina, PBP2a, responsables de la resistencia a meticilina.
 - **mecR1:** proteína sensora transmembrana que regula la expresión de **mecA**, detecta la presencia de antibióticos β -lactámicos.
 - **mecI:** elemento regulador represor de **mecA**.
- **Complejo génico ccr** (cassette chromosome recombinase): contiene los genes **ccr** que codifican a **recombinasas**. Permiten el movimiento de SCCmec. Los dos tipos principales son **ccrA** y **ccrB**, que actúan en conjunto.
- **Regiones J:** anteriormente denominadas regiones “basura”, contienen genes truncados o pseudogenes. Ahora se denominan también regiones de unión y se sabe que pueden contener **genes funcionales adicionales**, como genes de resistencia a antibióticos o a metales pesados.

10.2 Regulación de la resistencia a meticilina

La transcripción del gen *mecA* en presencia de β -lactámicas está **regulada por una cascada de transducciones de señal** codificadas a partir del complejo génico *mec*, compuesto por el gen *mecA* y sus dos **reguladores** principales **MecR1** y **MecI**.

Se ha visto, además, que la presencia del **plásmido de β -lactamasa**, más específicamente su mecanismo de regulación ***blaR1-blaI***, homólogo al sistema regulatorio de *mecA* (*mecR1- mecI*), puede **ayudar en la regulación** adecuada de la expresión de *mecA*, evitando una sobreexpresión tóxica para la célula.

Tanto **MecI** como ***blaI*** (prácticamente intercambiables) pueden unirse y reprimir la transcripción de *mecA*. MecI es un dímero formado por **dos dominios de hélice y dos de dimerización** que se mantienen **unidos** por un **núcleo hidrofóbico**. Cada dominio hélice se une a un sitio del operador de *bla* o *mec* por zonas específicas consenso.

En el caso de **MecR1**, este elemento es un zimógeno que cuenta con un **dominio de unión a penicilina extracelular (PBD)** responsable de la detección del antibiótico, una **región transmembrana** y un **dominio enzimático citoplasmático metaloproteasa (MPD)** que puede catalizar proteínas como MecI.

En **ausencia de antibióticos** β -lactámicos, MecI forma un dímero que se une al promotor del operón *mec*, impidiendo la transcripción de *mecA* y de sus reguladores *mecR1-mecI*. No se producirá por tanto PBP2a.

Cuando el regulador MecR1 detecta la presencia de β -lactámicos y se une a ellos por su **región de unión a penicilina (PBD)**, se desencadena un cambio conformacional que activa su **dominio metaloproteinasa(MPD)**, con el que es capaz de degradar MecI y por tanto permite la activación de la transcripción de *mecA* al degradar a su represor. (Fig. 28)

La degradación de MecI se puede darse mediante dos vías:

1. **Vía directa:** el dominio MPD de MecR1 corta directamente al represor separándolo en sus monómeros.
2. **Vía indirecta:** pequeños **fragmentos de pared celular** generados por el daño del antibiótico en la biosíntesis de la pared celular actúan como **coactivadores**, uniéndose a MecI, debilitando su unión al promotor de *mecA* y facilitando su degradación proteolítica (por proteasas citoplasmáticas o por MecR1)

En **presencia de antibióticos** también aparece **MecR2** que funciona como **antirrepressor**, uniéndose a MecI promoviendo su degradación/inactivación. (Fig. 28)

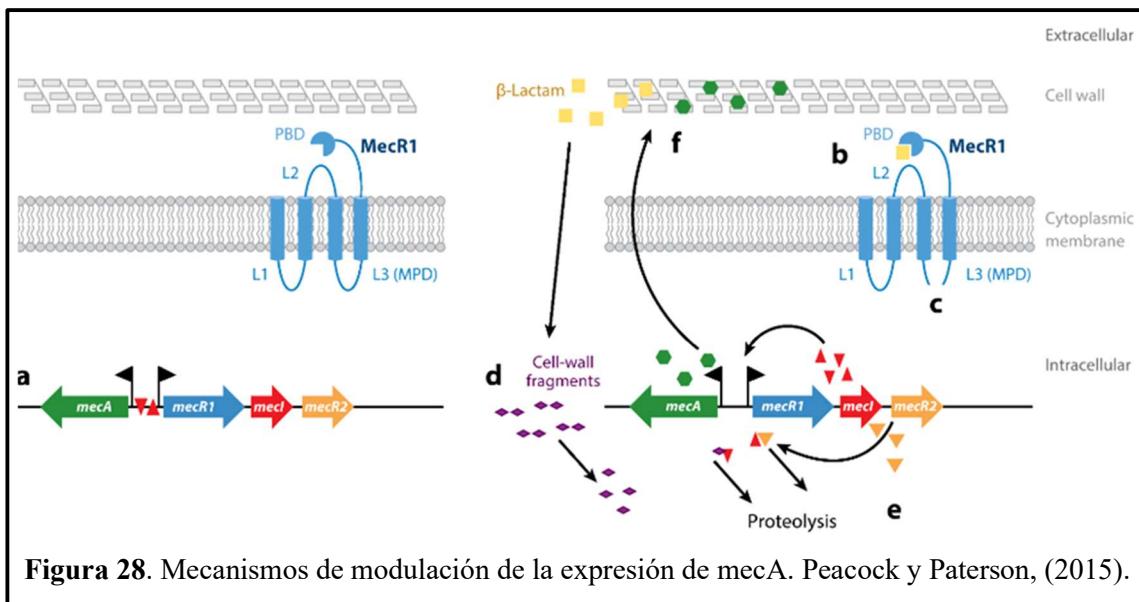


Figura 28. Mecanismos de modulación de la expresión de *mecA*. Peacock y Paterson, (2015).

PBP2a es una proteína que aporta resistencia a meticilina en *S. aureus*, sin embargo, su síntesis supone un coste metabólico elevado para la bacteria. Es por esto por lo que su expresión se regula estrictamente y sólo se activa en presencia de antibióticos β -lactámicos. Este mecanismo permite a la bacteria equilibrar la resistencia con la eficiencia metabólica, expresando preferentemente la PBP sensible a antibióticos en ambientes libres de estos, y asegurando su supervivencia frente al antibiótico sin comprometer innecesariamente su crecimiento en condiciones libres de fármaco.

2) **Resistencia a antivirales:** la resistencia a los antivirales representa un desafío clínico creciente, que afecta principalmente a **pacientes inmunodeprimidos**. En estos casos la replicación viral prolongada y exposición continua a fármacos favorece la aparición de cepas virales resistentes. El diagnóstico de resistencia se basa en la **detección de mutaciones virales** específicas y **ensayos fenotípicos** que determinan la sensibilidad de los antivirales. En la clínica estas resistencias se manifiestan en forma de viremia persistente o progresiva y fracaso terapéutico. El manejo de estas infecciones requiere fortalecer la respuesta inmune del paciente, ajustar las terapias antivirales y recurrir a fármacos de segunda línea, aunque estos pueden asociarse a mayor toxicidad y eficacia limitada. Comprender los mecanismos de resistencia es esencial para diseñar nuevas estrategias terapéuticas y mejorar el pronóstico en infecciones víricas.

Ejemplo virus de la gripe tipo A

Es uno de los patógenos humanos más exitosos, manteniéndose persistente e impredecible en su evolución. Causa epidemias estacionales regulares, pandemias y brotes zoonóticos frecuentes y mortales en todo el mundo. El virus se **trasmite por aerosoles** y provoca **enfermedad respiratoria y fiebre** en humanos. Comúnmente se la conoce como “gripe”, y sus grupos de riesgo principales son niños pequeños, ancianos e individuos inmunodeprimidos. Según una estimación de la OMS, el virus de la gripe causa anualmente 1000 millones de casos de gripe, entre 3 y 5 millones de casos de enfermedad grave y entre 300 000 y 500 000 muertes en todo el mundo. El programa anual de **vacunación** contra la gripe es la principal herramienta para prevenir o controlar las epidemias de gripe. Además, se han aprobado dos clases de medicamentos antivirales para tratar las infecciones por este virus:

1. **Inhibidores del canal iónico M2:** como la amantadina y rimantadina.
2. **Inhibidores de la neuraminidasa (NAIs):** como oseltamivir, zanamivir, peramivir y laninamivir.

Sin embargo, al igual que la resistencia a los antibióticos, la aparición de resistencia a los medicamentos antivirales en el virus de la gripe es un problema importante. En consecuencia, los inhibidores de neuraminidasa son la única clase de medicamentos antigripales que se utilizan actualmente, ya que la mayoría de los virus de la influenza circulantes han adquirido **resistencia a los inhibidores del canal iónico M2**. Sin embargo, también ya se han detectado casos de resistencia hacia los NAI.

10.3 Mecanismos de resistencia del virus de la gripe a adamantanos

El grupo de los **adamantanos**, como amantadina y rimantadina, fue la primera clase de medicamentos antivirales aprobados contra el virus de la gripe A. Estos medicamentos actúan sobre la **proteína M2** del virus de la gripe (Fig. 29).

La M2 es una proteína de membrana integral tetramérica cuyo dominio transmembrana forma una estructura de **4 hélices** que actúan como un **canal iónico**.

El virus de la gripe se introduce dentro de la célula huésped a través de **endocitosis mediada por hemaglutinina (HA)**, una proteína de la superficie del virus que reconoce a los **receptores celulares** que contienen **ácido siálico**.

La unión de HA con el ácido siálico activa la endocitosis, la célula “envuelve” al virus con su membrana, formando un **endosoma** y liberándolo dentro de su citoplasma. Dentro del endosoma el ambiente se vuelve ácido (baja su pH), lo que induce la fusión de la envoltura del virus con la del endosoma mediado por un cambio conformacional de la HA.

Antes de la fusión de las envolturas, el pH bajo del endosoma activa el canal iónico M2, permitiendo la entrada de protones al interior del virus, lo que acidifica su interior. Este evento de acidificación provoca la **desociación de la proteína M1**, que normalmente mantiene unido el **complejo ribonucleoproteico viral (vRNP)**. La liberación de M1 permite que el vRNP del virus se libere hacia el citoplasma de la célula huésped, desde donde viajará al núcleo de la célula huésped y usará su maquinaria para iniciar la replicación del virus.

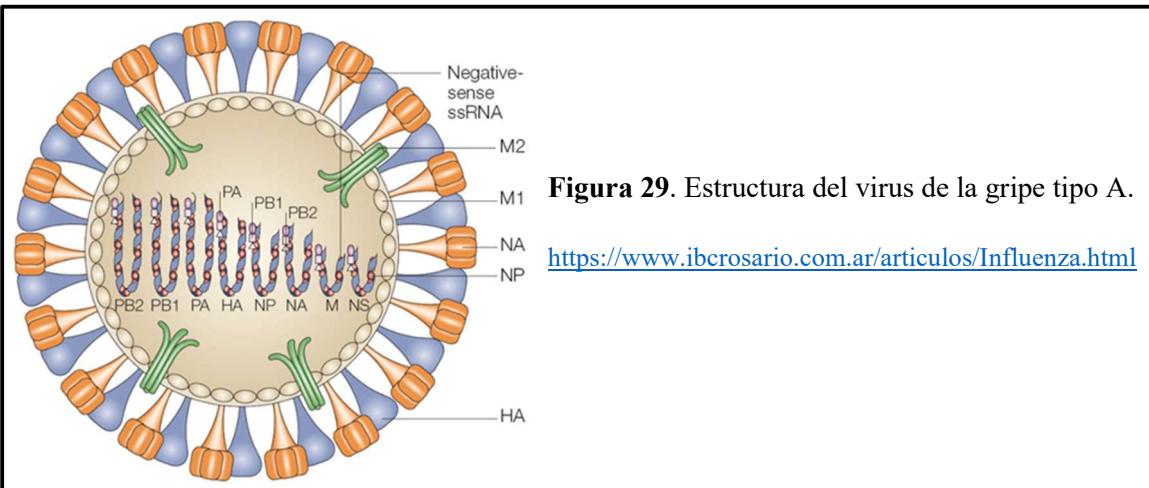


Figura 29. Estructura del virus de la gripe tipo A.

<https://www.iberosario.com.ar/articulos/Influenza.html>

La aplicación de los antivirales del grupo adamantanos actúan **uniéndose al poro del canal M2, bloqueando el paso de protones** al interior del virus. Esto impide la acidificación interna, la liberación de vRNP y por tanto la replicación del IAV.

Sin embargo, el virus ha desarrollado mecanismos de resistencia mediante **mutaciones en varios aminoácidos** del dominio transmembrana de M2, ya sea aquellos que recubren el poro del canal o los que están involucrados en el empaquetamiento hélice-hélice del tetrámero. Estas mutaciones **alterarán el tamaño del poro** ya sea aumentando su tamaño e hidrofilia o produciendo un estrechamiento del tamaño del poro por una desestabilización del ensamblaje hélice-hélice que impida la unión de los adamantanos, manteniendo el canal iónico funcional.

Debido a que estos mecanismos de resistencia se extendieron ampliamente, los adamantanos dejaron de utilizarse en la práctica clínica, ya que su eficacia frente a las cepas circulantes de influenza A se volvió prácticamente nula.

3) **Resistencia a antiparasitarios:** Las enfermedades parasitarias como la malaria, leishmaniasis o la enfermedad de Chagas afectan a más de mil millones de personas, principalmente en países subdesarrollados causando más de un millón de muertes cada año. El problema principal de los antiparasitarios actuales recae en:

- **Alta toxicidad de ciertos fármacos.** Ej. Tripanocidas pueden producir citopenias, neuropatías y síndrome de Stevens-Johnson.
- **Aumento de la resistencia de los parásitos a fármacos,** ligado con las dificultades en la finalización de ciertos tratamientos debido a efectos secundarios.
- **Costosos o difíciles de conseguir.**

La resistencia a fármacos constituye una de las mayores amenazas sanitarias a nivel global. Tanto bacterias como virus y parásitos han desarrollado mecanismos de adaptación que les permiten evadir la acción de muchos de los tratamientos terapéuticos actuales, favoreciendo la persistencia y expansión de infecciones. Además, el uso inadecuado de fármacos, unido a la alta capacidad evolutiva de los patógeno dificulta y limita el desarrollo de nuevas terapias eficaces. Es por esto por lo que es de vital importancia fomentar el continuo avance del conocimiento, la concienciación sobre el uso adecuado de los fármacos y la innovación en el desarrollo de posibles nuevas terapias.

11. Diagnóstico.

El diagnóstico es un campo fundamental, sobre todo, en el campo de la clínica de enfermedades infecciosas. Existen múltiples métodos de diagnóstico, directos e indirectos, cuyo objetivo es demostrar con valores altos de sensibilidad y especificidad la presencia del patógeno. Sensibilidad se define como el porcentaje de todos los individuos infectados que

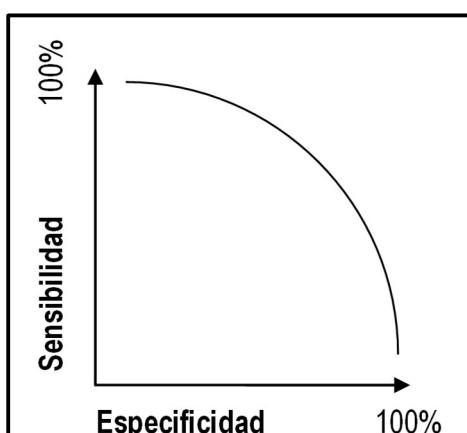


Figura 30. Relación inversamente proporcional entre la sensibilidad y la especificidad.

se han identificado como positivos. La especificidad es el porcentaje de todos los animales no infectados que se encuentra que son seronegativos. La relación entre ambos parámetros es inversa como se muestra en la figura 30.

Relacionado con el diagnóstico, hay un tema muy importante como es la aparición de casos falso-positivos y falso-negativos, y el impacto que esto puede tener en el paciente diagnosticado.

Los métodos de diagnóstico, además, deben ser rápidos, pues en muchos casos el control de las infecciones va a depender de la celeridad con la que se detecten.

Un ejemplo ilustrativo de la importancia del diagnóstico lo encontramos en el control de los bancos de sangre. Así, con la incorporación de nuevas tecnologías de diagnóstico, se ha llegado a la eliminación virtual de la posibilidad de transmisión de infecciones serias por transfusión sanguínea. A comienzo de los 80, el riesgo de ser infectado por HIV o HCV a través de transfusión sanguínea era en torno a 1×10^{-2} . La introducción de pruebas para detectar anticuerpos frente a HIV en 1984 y para el HCV en 1990 condujo a un tremendo incremento en la seguridad de la sangre y productos sanguíneos, reduciendo el riesgo a menos de 1×10^{-5} . Finalmente, la introducción de pruebas de detección de ácidos nucleicos en 1999 permitió la detección de aquellos donantes recientemente infectados que no habían llegado a producir anticuerpos, reduciendo el riesgo a 1 en 2 millones.

Un aspecto importante en el diagnóstico de enfermedades infecciosas es en el caso del desarrollo de resistencias a antibióticos por parte de las bacterias, donde la rapidez en la detección de esa resistencia es fundamental para decidir el tratamiento del paciente. Los métodos más frecuentemente utilizados en Microbiología Clínica para la determinación de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos se basan en un estudio fenotípico, observando el crecimiento bacteriano de una cepa incubada en presencia del antibiótico a estudiar (antibiograma), métodos que normalmente requieren un tiempo de unas 24h para la obtención de resultados. Existe un considerable número de técnicas instrumentales que permiten llevar a cabo un antibiograma rápido. Algunos ejemplos de estas técnicas son:

- Técnicas inmunocromatográficas.
- Métodos colorimétricos.

- Métodos de imagen.
- Citometría de flujo.
- Bioluminiscencia.
- Microfluídica.

Técnicas inmunocromatográficas

Estas técnicas requieren unos 20 minutos para la obtención de resultados. Tienen un precio económico y no precisan ni de instrumentación ni de personal experto, por lo que pueden ser realizadas en cualquier laboratorio. En el caso de resistencias a antibióticos permiten detectar enzimas bacterianas que hidrolizan el antibiótico. El procedimiento consiste en:

1. Se suspende la bacteria en un diluyente.
2. Se depositan unas gotas en un extremo de la tira (normalmente de nitrocelulosa).
3. Las bacterias se desplazan por capilaridad hacia el otro extremo de la tira.
4. Si en la posición test de la tira, donde está fijado un anticuerpo que reconoce el antígeno de la bacteria, aparece una banda coloreada significa que la prueba es positiva.

Se han comercializado 2 inmunocromatografías que detectan carbapenemas tipo OXA-48 y KPC (Coris BioConcept). Para la detección de la resistencia de *S. aureus* a meticilina se ha comercializado el test BinaxNOW PBP2a (Alere).

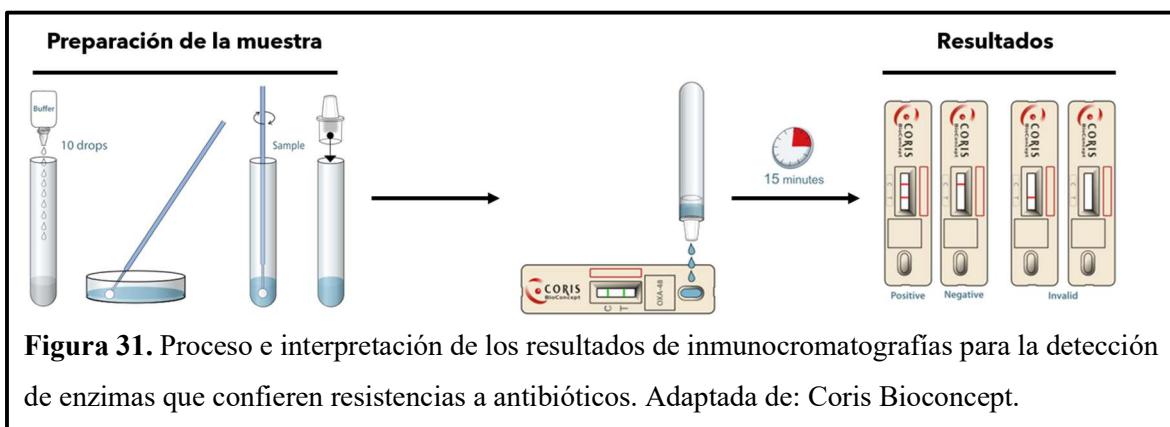


Figura 31. Proceso e interpretación de los resultados de inmunocromatografías para la detección de enzimas que confieren resistencias a antibióticos. Adaptada de: Coris Bioconcept.

Métodos colorimétricos

Para la detección de carbapenemas se emplean kits como RAPIDEC® CARBA NP (bioMérieux) y Rapid CARB Screen® (Rosco Diagnóstica A/S). En estas pruebas, la bacteria se incuba en presencia del antibiótico y si la bacteria posee una carbapenemasa, el antibiótico se hidroliza, lo que produce un cambio en el pH del medio, detectado por

un cambio de color del indicador. Existen otros métodos colorimétricos, pero no estandarizados para el uso clínico.

Métodos de imagen

A partir de frascos de hemocultivo crecidos el equipo ACCELERATE pheno™ SYSTEM (Accelerate Diagnostics) proporciona, en pocas horas, tanto la identificación de la bacteria como el antibiograma. La identificación se basa en la técnica FISH (hibridación in situ fluorescente), en la que sondas de ADN marcadas con fluoróforos se unen a secuencias específicas del ARN ribosomal bacteriano, permitiendo distinguir distintas especies mediante microscopía de fluorescencia. Una vez identificada la bacteria, el sistema realiza el antibiograma directo monitorizando el crecimiento de una cepa bacteriana en presencia de diferentes concentraciones de antibióticos mediante un sistema automatizado de toma de imágenes en tiempo real.

Citometría de flujo

La citometría de flujo es una técnica que consiste en hacer atravesar por un láser un flujo de células ordenadas de una en una, que será dispersado en función de las características específicas de cada célula. De esta manera es posible caracterizar, separar y cuantificar las diferentes subpoblaciones celulares que se engloban en un conjunto. Además, utilizando diversos fluorocromos se pueden estudiar diversos parámetros bacterianos (potencial de membrana, tamaño celular, actividad enzimática, integridad de la membrana celular y concentración microbiana) que aportan información acerca de la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos. Un ejemplo de dispositivo comercial empleado en los centros hospitalarios es Sysmex UF-1000i (Sysmex Corporation).

Bioluminiscencia

La quimioluminiscencia es un proceso de emisión de luz que ocurre en ciertas reacciones químicas cuando las moléculas excitadas vuelven al estado fundamental. La bioluminiscencia es una forma de quimioluminiscencia que tiene lugar en algunos organismos vivos, como por ejemplo las luciérnagas.

El principio de los antibiogramas basados en bioluminiscencia consiste en medir los niveles de ATP bacteriano (intracelular, extracelular o total) y comparar la señal emitida en presencia y en ausencia de antibiótico. Para ello, se toma un cultivo control

sin antibiótico y se contrasta su señal bioluminiscente con la de otro cultivo tratado con el fármaco.

- Con respecto al grupo control, si se mide el ATP intracelular, las cepas sensibles al antibiótico estudiado proporcionarán una disminución de la señal de bioluminiscencia.
- Si se mide el ATP extracelular las cepas sensibles producirán un aumento de la señal. Si se mide el ATP total las cepas sensibles proporcionarán una disminución de la señal de ATP.
- Si el microorganismo es resistente al antibiótico las medidas del grupo control serán prácticamente iguales que las obtenidas a partir de las cepas incubadas con antibiótico.

En cuanto a los dispositivos comerciales, los luminómetros se utilizan ampliamente, especialmente en la industria y en entornos sanitarios, para evaluar la eficacia de los procesos de limpieza y/o esterilización. Sin embargo, aunque también se ha descrito el uso potencial de esta técnica para evaluar la actividad antibiótica mediante el estudio del efecto bactericida, no hay aparatos especializados únicamente en esto. Un ejemplo de dispositivo comercial que lo incorpora es PhenoTM System (Accelerate Diagnostics, USA).

Microfluídica

Los avances en nanotecnología han posibilitado que el antibiograma se realice en plataformas o chips que llevan a cabo, utilizando pequeños volúmenes de trabajo, múltiples ensayos que aportan información acerca de la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos, como por ejemplo rotura celular, cultivo bacteriano e hibridación y amplificación de ácidos nucleicos, entre otros. Algun ejemplo de dispositivo comercial que existe es BACTEROMIC y QuickMIC (Gradientech).

REFERENCIAS

- **Afshar-Kharghan, V.** (2017). The role of the complement system in cancer. *The Journal of Clinical Investigation*, 127(3), 780-790. <https://doi.org/10.1172/JCI90962>.
- **Alexandre-Silva, G. M., Brito-Souza, P. A., Oliveira, A. C., Cerni, F. A., Zottich, U., & Pucca, M. B.** (2018). The hygiene hypothesis at a glance: Early exposures, immune mechanism and novel therapies. *Acta Tropica*, 188, 16-26.
- **Baker, R.E., Mahmud, A.S., Miller, I.F., Rajeev, M., Rasambainarivo, F., Rice, B.L., Takahashi, S., Tatem, A.J., Wagner, C.E., Wang, L.F., et al.** (2022). Infectious disease in an era of global change. *Nat. Rev. Microbiol.* 20, 193–205.
- **Casadevall, A. and Pirofski, L.-A.** (1999) Host-pathogen interactions: redefining the basic concepts of virulence and pathogenicity. *Infect. Immun.* 67: 3703-3713.
- **Chervonsky, A.V.** (2012). Microbial influences on immune function and more. *Immunol Rev* 245: 7-12.
- **Chen, R., Zou, J., Chen, J., Zhong, X., Kang, R., Tang, D.** (2025). Receptores de reconocimiento de patrones: función, regulación y potencial terapéutico. *Sig Transduct Target Ther* 10, 216. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02264-1>
- **Clemente, J.C., Ursell, L.K., Parfrey, L.W., and Knight, R.** (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell* 148: 1258-1270.
- **Decordier I, Kirsch-Volders M.** (2013). Fluorescence in situ hybridization (FISH) technique for the micronucleus test. *Methods Mol Biol.* 1044:237-44.
- **Fouchier, R. A. M., Kuiken, T., Schutten, M., van Amerongen, G., van Doornum, G. J. J., van den Hoogen, B. G., Peiris, M., Lim, W., Stohr, K., and Osterhaus, A. D. M. E.** (2003). Aetiology: Koch's postulates fulfilled for SARS virus. *Nature* 423: 240.
- **Hayward, J.A., Mathur, A., Ngo, C., and Man, S.M.** (2018). Cytosolic Recognition of Microbes and Pathogens: Inflammasomes in Action. *Microbiol Mol Biol Rev* 82: e00015.
- **Holmes, K. V., and Enjuanes, L.** (2003). Virology. The SARS coronavirus: a postgenomic era. *Science* 300: 1377-1378.
- **Hussain, M., Galvin, H. D., Haw, T. Y., Nutsford, A. N., & Husain, M.** (2017). Drug resistance in influenza A virus: the epidemiology and management. *Infection and Drug Resistance*, 10, 121–134. <https://doi.org/10.2147/IDR.S105473>
- **Kivity, S., Agmon-Levin, N., Blank, M. and Shoenfeld, Y.** (2009). Infections and autoimmunity--friends or foes? *Trends Immunol.* 30: 409-414.
- **Lambris JD, Ricklin D, Geisbrecht BV.** (2008) Complement evasion by human pathogens. *Nat. Rev. Microbiol.* 6:132-142.
- **Lederberg, J.** (2000) Infectious history. *Science* 288: 287-293.
- **Loudon I.** (2008) The use of historical controls and concurrent controls to assess the effects of sulphonamides, 1936-1945. *J R Soc Med.* 101(3):148-55. doi: 10.1258/jrsm.2008.081005. PMID: 18344473; PMCID: PMC2270250.
- **Martín González, A., Béjar Luque, V., Gutiérrez Fernández, J.C., Llagostera Casas, M. y Quesada Arroquia, E.** (2019) Microbiología Esencial. Editorial Médica Panamericana.
- **March-Roselló, G. A.** (2017). Métodos rápidos para la detección de la resistencia bacteriana a antibióticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 35(3), 182-188.
- **Muhaj, F. F., George, S. J., Nguyen, C. D., & Tyring, S. K.** (2022). Antimicrobials and resistance part II: Antifungals, antivirals, and antiparasitics. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 86(6), 1207-1226. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2021.11.065>.
- **Munita, J. M., Arias, C. A.** (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.vmbf-0016-2015>
- **Nester, E.W., Anderson, D.G., Roberts, C.E., Jr. and Nester, M.T.** (2007) Microbiology. A human perspective (5th Ed.). McGraw-Hill International.
- **Oldstone, M.B.A.** (2002) Virus, pestes e historia. Ed. Fondo de Cultura Económica. México.

- **Peacock, S. J., & Paterson, G. K.** (2015) Mechanisms of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annual Review of Biochemistry*, 84, 577-601. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-034516>
- **Poria R, Kala D, Nagraik R, Dhir Y, Dhir S, Singh B, Kaushik NK, Noorani MS, Kaushal A, Gupta S.** (2024) Desarrollo de vacunas: Tendencias y tecnologías actuales. *Life Sci.* 336:122331. doi: 10.1016/j.lfs.2023.122331.
- **Puig-Colldejohann B, Domene-Ochoa S, Salvà-Comas M, Montero MM, Duran X, González JR, Grau S, Oliver A, Horcajada JP, Padilla E, Segura C, Prim N.** 2022. ATP Bioluminescence Assay To Evaluate Antibiotic Combinations against Extensively Drug-Resistant (XDR) *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Spectr* 10:e00651-22.
- **Rappuoli, R.** (2004). From Pasteur to genomics: progress and challenges in infectious diseases. *Nat. Med.* 10: 1177-1185.
- **Rivas, R.** (2023) 16. Variolización, año 1715 d.C. En: Historia de los microbios. Madrid: Editorial Guadalmazán; pp. 201-213.
- **Rivas, R.** (2023) 31. Prontosil, de tinte rojo a terapia antibacteriana, año 1932 d.C. En: Historia de los microbios. Madrid: Editorial Guadalmazán; pp. 395-407.
- **Rodríguez Diego, Jesús G, Pedroso Reyes, Miriam, Olivares, Javier L, Sánchez-Castilleja, Yolanda M, & Arece García, Javier.** (2014). La interacción hospedero-parásito. Una visión evolutiva. *Revista de Salud Animal*, 36(1), 1-6. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2014000100001&lng=es&tlang=es
- **Rodríguez Diego, Jesús Gregorio, Olivares Orozco, J. Lorenzo.** (2019). Vacunas parasitarias: un recuento bibliográfico. *Revista de Salud Animal*, 41(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2019000300009&lng=es&tlang=es
- **Rezk N, McClean S.** (2025) Aprovechando el potencial de las vacunas de ARNm contra enfermedades infecciosas. *Microb Biotechnol.* agosto 2025; 18(8):e70212. doi: 10.1111/1751-7915.70212..
- **Schultz, M.G.** (2011). Robert Koch. *Emerg Infect Dis* 17: 547-549.
- **Snowden, F.M.** (2008). Emerging and reemerging diseases: a historical perspective. *Immunol. Rev.* 225: 9-26.
- **Strasfeld, L., & Chou, S.** (2010). Antiviral drug resistance: mechanisms and clinical implications. *Infectious disease clinics of North America*, 24(2), 413–437. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2010.01.001>
- **Tahmasebi H, Arjmand N, Monemi M, Babaeizad A, Alibabaei F, Alibabaei N, Bahar A, Oksenyech V, Eslami M.** (2025) De la cura a la crisis: Comprendiendo la evolución de las bacterias resistentes a los antibióticos en la microbiota humana. *Biomoléculas*. 9 de enero de 2025; 15(1):93. doi: 10.3390/biom15010093.
- **Vojtechova, I., Machacek, T., Kristofikova, Z., Stuchlik, A. and Petrasek, T.** (2022). Infectious origin of Alzheimer's disease: Amyloid beta as a component of brain antimicrobial immunity. *PLoS Pathog.* 18, e1010929.
- **Wagar, E.** (2016). Bioterrorism and the Role of the Clinical Microbiology Laboratory. *Clin Microbiol Rev* 29, 175-189.
- **Wolfe, N.D., Dunavan, C.P. and Diamond, J.** (2007) Origins of major human infectious diseases. *Nature* 447: 279-283.

Para aquellos que les guste saber más sobre grandes plagas de la humanidad y sus efectos a lo largo de la historia, se recomienda el libro: Virus, pestes e historia. Michael B.A. Oldstone. Editorial Fondo de Cultura Económica (año 2002).

En la Red:

Página de la Organización Mundial de la Salud (OMS)
<https://www.who.int/es>

Informe final de la Comisión Mundial de la Salud sobre la Erradicación Mundial de la Viruela (1980)
<https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/4bb2ed61-ba11-4bb3-bad4-fdb4708df1a1/content>

OneZoom tree of life explorer
<https://www.onezoom.org>

Herramienta muy útil para encontrar la localización filogenética y de las relaciones evolutivas de cualquier (micro)organismo.

Página Wikipedia sobre Real Expedición Filantrópica de la Vacuna.
https://es.wikipedia.org/w/index.php?title=Real_Expedici%C3%B3n_Filantr%C3%B3pica_de_la_Vacuna&oldid=117255697

Protein lounge
<http://www.proteinlounge.com/>

Además de ser un sitio donde se encuentra información y esquemas de vías de señalización celular, este sitio contiene una buena colección de videos e imágenes sobre factores de virulencia, mecanismos de infección y otros aspectos muy interesantes para la asignatura.

El Hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid publica mensualmente el **Boletín de Enfermedades Emergentes**, Boletín de Alertas Epidemiológicas Internacionales
http://www.madrid.org/cs/Satellite?cid=1142453682398&language=es&pagename=HospitalRamonCajal%2FPage%2FHYRC_contenidoFinal

Introducción musical sobre la asignatura
https://www.youtube.com/watch?v=OxA-_thNc64&feature=youtu.be

Video preparado por los estudiantes Fátima Sánchez, Adrián Zucco, Alejandro Fernández y Víctor Toribio (4º curso de Grado de Bioquímica, 2014-15).

Declaración de Alma Ata
https://es.wikipedia.org/wiki/Conferencia_Internacional_sobre_Atenci%C3%B3n_Primaria_de_Salud_de_Alma_Ata

Substantial Equivalence Determination Decision Summary: Accelerate PhenoTest™ BC Kit (K192665) (2020).

chrome-extension://efaidnbmnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/reviews/K192665.pdf

Bacteromic. (n.d.). Solution.
<https://bacteromic.com/en/solution/?utm>

Accelerated Diagnostics. (n.d.). Accelerate Pheno System – Features.
<https://acceleratediagnostics.com/products/accelerate-pheno-system/#features>

CorisBio. (n.d.). OXA-48.
<https://www.corisbio.com/products/oxa-48>

Página de referencia de la imagen de la estructura del virus de la gripe:
<https://www.ibcrosario.com.ar/articulos/Influenza.html>