

TEMAS SELECTOS

DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA
E INFECTOLOGÍA



ANA FLISSER
(coordinadora)



Quehacer
científico y
tecnológico

Universidad Veracruzana

Esta obra se encuentra disponible en Acceso Abierto para copiarse, distribuirse y transmitirse con propósitos no comerciales. Todas las formas de reproducción, adaptación y/o traducción por medios mecánicos o electrónicos deberán indicar como fuente de origen a la obra y su(s) autor(es).

Se debe obtener autorización de la Universidad Veracruzana para cualquier uso comercial.

La persona o institución que distorsione, mutile o modifique el contenido de la obra será responsable por las acciones legales que genere e indemnizará a la Universidad Veracruzana por cualquier obligación que surja conforme a la legislación aplicable.

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

Sara Ladrón de Guevara

Rectora

Leticia Rodríguez Audirac

Secretaria Académica

Clementina Guerrero García

Secretaria de Administración y Finanzas

Octavio Ochoa Contreras

Secretario de la Rectoría

Édgar García Valencia

Director Editorial

TEMAS SELECTOS
DE MICROBIOLOGÍA
MÉDICA ◀ E ◀ INFECTOLOGÍA

ANA FLISSER

(coordinadora)

UNIVERSIDAD VERACRUZANA

XALAPA, VER., MÉXICO

2015

Maquetación de forros: Enriqueta del Rosario López Andrade

Clasificación LC: QR46 T457 2015

Clasif. Dewey: 616.01

Título: Temas selectos de microbiología médica e infectología /
Ana Flisser (coordinadora).

Edición: Primera edición.

Pie de imprenta: Xalapa, Veracruz, México : Universidad Veracruzana,
Dirección Editorial, 2015.

Descripción física: 238 páginas : ilustraciones ; 26 cm.

Series: Quehacer científico y tecnológico

Nota bibliografía: Incluye bibliografías.

ISBN: 9786075023830

Materias: Microbiología médica.

Enfermedades transmisibles.

Parasitología médica.

Autor relacionado: Flisser, Ana.

DGBUV 2015/13

Primera edición, 23 de marzo de 2015

D.R. © Universidad Veracruzana

Dirección Editorial

Hidalgo núm. 9, Centro, CP 91000

Xalapa, Veracruz, México

Apartado postal 97

diredit@uv.mx

Tel./ fax (01228) 8 18 59 80; 8 18 13 88

ISBN: 978-607-502-383-0

Impreso en México

Printed in Mexico

CONTENIDO

Prólogo, 9

Ana Flisser

.1.

EL MUNDO MICROBIANO: ORIGEN Y EVOLUCIÓN, 15

Antonio Lazcano-Araujo

.2.

LA GENÉTICA BACTERIANA: AMBIENTE, EVOLUCIÓN Y PATOGÉNESIS, 29

Magdalena Wiesner, Claudia Silva y Edmundo Calva

.3.

MICROBIOTA RESIDENTE Y OPORTUNISTA, 63

Mussaret B. Zaidi

.4.

INMUNOMODULACIÓN POR PARÁSITOS INTESTINALES, 81

Fela Mendlovic y Ana Flisser

.5.
DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO
DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS, 93

Alejandro Escobar-Gutiérrez

.6.
DIAGNÓSTICO POR IMAGEN, 121

José Luis Criales

.7.
NOSOLOGÍA INFECCIOSA, 143

Alberto Lifshitz

.8.
TERAPÉUTICA ANTIINFECCIOSA, 153

Rodolfo Rodríguez-Carranza y Jacinto Santiago-Mejía

.9.
INFECCIONES EMERGENTES, REEMERGENTES
Y BIOTERRORISMO, 173

Lourdes García-García y Renata Báez-Saldaña

.10.
ÉTICA MÉDICA Y BIOÉTICA, 211

Simón Kawa y Samuel Weingerz

.11.
LA RESPONSABILIDAD SOCIAL Y LA CIENCIA, 227

Gina Martínez-Flisser

PRÓLOGO

El propósito de este libro es dar al lector una visión actualizada de las diferentes áreas de interés en el campo de la biomedicina en lo referente a microbiología, parasitología e infectología. Así pues, se invitó a expertos que aceptaron amablemente compartir sus conocimientos. Este texto navega entre los aspectos de la biología básica como el origen y la evolución de las especies, con hincapié en las bacterias –las cuales tienen una inmensa diversidad genética y funcional que ha moldeado a la biosfera, ya que han desarrollado mecanismos eficientes de modificación del genoma que les permiten adaptarse a las condiciones ambientales siempre cambiantes–, y los aspectos modernos de la flora intestinal bacteriana, llamada microbioma, cuya relación con el hospedero puede ser de mutualismo, comensalismo o parasitismo; esta última ha resultado muy importante porque desvía la respuesta inmune hacia la inmunomodulación, mecanismo que permite controlar enfermedades inflamatorias.

Los capítulos relacionados con aplicaciones del conocimiento biomédico en el diagnóstico y en el manejo clínico de enfermedades infecciosas se refieren a técnicas de laboratorio y de imagen, así como a la nosología y a la farmacología terapéuticas.

Finalmente se incluyen temas novedosos del conocimiento general biomédico que tienen gran trascendencia en la actualidad: enfermedades infecciosas emergentes, reemergentes y bioterrorismo, ética médica y bioética, y responsabilidad social en la investigación científica. Todos los temas reunidos en este libro le permitirán al lector conocer y actualizarse en biomedicina.

A continuación se presentan muestras de la sabiduría de los autores de cada capítulo.

Antonio Lazcano asevera que los *microbios* corresponden a una categoría genérica sin valor taxonómico o evolutivo que agrupa de manera promiscua, en un mismo conjunto, no sólo a bacterias y protistas sino también a plantas, animales y hongos microscópicos. A lo largo de su capítulo nos lleva desde el siglo XVII –cuando se hizo la primera descripción de las bacterias– hasta el uso de marcadores moleculares que ha permitido asomarnos a la extraordinaria complejidad del mundo microbiano, la que, a lo largo de más de tres mil millones de años de evolución, se ha diversificado y separado en grupos dotados de una enorme versatilidad metabólica y que, al evolucionar, cambiaron a la Tierra, lo que además modificó nuestra visión del mundo microbiano, nuestra idea de la diversidad y la antigüedad de la vida, y abrió debates evolutivos y taxonómicos cuyo curso futuro no es fácil adivinar. Desafortunadamente el estudio de los virus, cuya naturaleza biológica sigue siendo objeto de discusiones intensas, está teñido de prejuicios muy arraigados, pues en su inmensa mayoría no son patógenos y no existe un grupo biológico del cual estén ausentes. Más aún, los microbios cargan sobre sus espaldas con una reputación negativa que los asocia de forma indiscriminada a las enfermedades cuando, más bien, debemos considerar a la Tierra como un cuerpo donde la interacción entre la biosfera y su ambiente es tan intensa que se ha convertido en una suerte de diálogo en el que no es fácil separar a los interlocutores.

Las bacterias tienen una inmensa diversidad genética y funcional, la cual ha moldeado a la biosfera; ellas han desarrollado mecanismos eficientes de modificación del genoma que les permiten adaptarse a las condiciones ambientales, siempre cambiantes. Sus genomas se modifican por la pérdida y la ganancia de genes; ésta última a través de la duplicación y la adquisición de nuevos debido a la transferencia lateral de genes. Los nuevos genes son introducidos por elementos genéticos móviles, como plásmidos, transposones y virus, o por la incorporación de DNA libre en el ambiente. Como describen Magdalena Wiesner, Claudia Silva y Edmundo Calva, se han desarrollado cuatro generaciones de técnicas moleculares que han permitido caracterizar con gran detalle tanto los genes como los genomas bacterianos completos y señalan que, conforme las metodologías moleculares sigan avanzando y se sigan descubriendo elementos nuevos en las poblaciones bacterianas, la tipificación de patógenos será cada vez más rápida y acertada. La producción en masa de estas nuevas tecnologías ofrecerá métodos estandarizados a los labora-

toristas y a los médicos, que se utilizarán en la identificación de microorganismos patógenos junto con sus perfiles de resistencia, para poder tomar decisiones rápidas en cuanto al tratamiento, sin tener que esperar una semana o dos para un resultado de laboratorio como actualmente sucede, lo que además mejorará las decisiones médicas sobre el manejo que se debe dar a cada paciente según sea el caso.

Las bacterias son compañeras permanentes del ser humano. La piel y las mucosas contienen al menos 10^{14} microorganismos, 10 a 100 veces más que el número de células propias presentes en el cuerpo humano. Estos microorganismos, que se encuentran en todo sujeto sano y normal, constituyen la microbiota residente, también denominada microbioma, flora normal o flora comensal. Un recién nacido se coloniza en las primeras 12 a 24 horas de vida, adquiriendo su flora por contacto directo con su ambiente. El lavado mecánico de cualquier persona con jabón reduce esta población en 90%, pero se restablece a cabo de unas ocho horas. En condiciones normales, la microbiota residente se encuentra en un estado de equilibrio con su hospedero: ocupa un nicho ecológico específico sin causar daño alguno. Sin embargo, cuando existen condiciones específicas que rompen este equilibrio, la microbiota residente puede causar infecciones oportunistas que llegan a ser tan severas que pueden causar la muerte del paciente. El capítulo de Mussaret Zaidi describe con detalle las bacterias y otros microorganismos que se encuentran en los diferentes tejidos del ser humano y el tipo de relación que establecen con sus hospederos. La microbiota ha desarrollado funciones cada vez más complejas que abarcan desde la protección contra microorganismos patógenos y la síntesis de sustancias esenciales para el metabolismo del hospedero hasta un efecto modulador de las células del epitelio intestinal.

Los agentes patógenos que a la fecha han sido considerados como las estrellas de la inmunomodulación son los helmintos intestinales. Fela Mendlovic y Ana Flisser describen los conocimientos generados en años recientes sobre los mecanismos que participan en la desviación de la respuesta inmune en personas con parásitos intestinales y en roedores con parasitosis inducidas de manera experimental, así como su efecto en la modulación de enfermedades inflamatorias. Es la inmunidad innata la que inicia el proceso de inmunomodulación hacia Th2 debido a que las células dendríticas inmaduras son manipuladas por moléculas de los parásitos; como consecuencia se presenta aumento de eosinófilos, basófilos e IgE, además se elimina la respuesta proliferativa de linfocitos T específicos para el parásito y se modifica la producción de citocinas pro- y antiinflamatorias, diversas células inmunes desvían sus funciones

reguladoras hacia el incremento en la síntesis de IL-10, que es un poderoso inhibidor de la respuesta adaptativa, aparecen macrófagos alternativamente activados en los tejidos afectados y, en general, metaplasia celular del epitelio de la mucosa intestinal.

Los capítulos clínicos que se incluyen en este libro describen los métodos de diagnóstico más utilizados, la nosología y la terapéutica médica. Los diagnósticos de laboratorio oportunos y certeros no sólo inciden en que el manejo de los pacientes se realice más temprano y sea más eficiente y limita la selección de cepas resistentes, sino que además impacta económicamente en la disminución del uso de antimicrobianos no adecuados, abate costos de hospitalización, de manejo de complicaciones y disminuye riesgos de infección nosocomial agregada. También en salud pública su trascendencia es enorme al demostrar de manera temprana la presencia en la población de un agente que puede ser emergente o reemergente y aun de uno endémico con características diferentes a las conocidas, lo cual permite analizar, discutir e implementar medidas de contención, prevención y control para impedir o limitar su diseminación entre los individuos susceptibles. Alejandro Escobar-Gutiérrez describe los diversos tipos de métodos de laboratorio para diagnóstico de enfermedades infecciosas y concluye que la rapidez con que está desarrollándose la tecnología aplicada al diagnóstico hace posible vislumbrar un futuro promisorio en cuanto a la disponibilidad de mejores métodos e instrumentos de gran versatilidad para determinar e identificar enfermedades infecciosas y sus agentes etiológicos. De igual manera, los equipos automatizados para el diagnóstico por métodos moleculares se están simplificando y con frecuencia se anuncia la disponibilidad de nuevos instrumentos y adaptaciones metodológicas de alto rendimiento, por lo que es factible suponer que en muy pocos años muchos de estos procedimientos nuevos pasen a ser parte de la rutina diagnóstica y, tal vez, sustituyan los hasta ahora convencionales en beneficio de la salud del individuo y de la población.

Los métodos de diagnóstico por imagen son en la actualidad muy importantes y a menudo imprescindibles, en especial para confirmar un determinado diagnóstico clínico o para conocer la magnitud de la patología. José Luis Criales explica de manera general los diferentes tipos de metodologías de diagnóstico por imagen disponibles y, con gran detalle, recorre el cuerpo humano y describe las patologías más frecuentes o interesantes haciendo una división por aparatos y sistemas con énfasis en la utilidad de los métodos de imagen para el diagnóstico de enfermedades infecciosas. Este capítulo está profusamente ilustrado con más de 30 figuras de resonancia magnética, tomografía computada y rayos X.

Respecto a las diversas sintomatologías, Alberto Lifshitz analiza algunas de las interacciones que se presentan entre los microorganismos y sus hospederos y las principales manifestaciones de infección, con énfasis en los aspectos clínicos. El espectro va desde lo inaparente e inocuo hasta la infección masiva y fatal. Además menciona que hay varias teorías que actualmente relacionan a ciertas enfermedades calificadas de causa desconocida como posibles infecciones.

A continuación Rodolfo Rodríguez Carranza y Jacinto Santiago Mejía explican que los agentes antiinfecciosos son sustancias producidas por microorganismos o sintetizadas químicamente que tienen la capacidad de eliminar, impedir o retardar la multiplicación de virus, bacterias, hongos, protozoarios, helmintos y ectoparásitos. Estos fármacos son productos tóxicos relativamente selectivos contra los agentes patógenos invasores y su utilidad médica depende de las diferencias bioquímicas entre el organismo infectante y el hospedero. Señalan que la terapéutica antiinfecciosa está dirigida a pacientes con síntomas y signos clínicos de infección. Llama la atención que el desarrollo de fármacos capaces de prevenir o erradicar procesos infecciosos ha sido uno de los logros más significativos del siglo XX; ahora se encuentran entre los fármacos más prescritos en el mundo y su manejo apropiado permite salvar la vida de los enfermos; sin embargo, su uso indiscriminado da lugar a efectos adversos, a interacciones farmacológicas y, lo que es más importante, genera la aparición de cepas resistentes a sus efectos.

La diversidad de las enfermedades infecciosas constituye una amenaza que actualmente enfrenta la humanidad y que, sin duda, está cambiando la epidemiología global, hecho sin precedente que favorece su emergencia y reemergencia, la resistencia a fármacos y la amenaza de bioterrorismo. El potencial de diseminación rápida y la ubicuidad que caracteriza a las enfermedades infecciosas favorece la pérdida de la salud. No hay país o población inmune y las barreras políticas y geográficas ofrecen poca protección. Lourdes García García y Renata Báez Saldaña describen con gran detalle los ejemplos más importantes en México: VIH y SIDA, tuberculosis, cólera e influenza, así como las enfermedades infecciosas que se consideran armas potenciales de bioterrorismo: ántrax, peste, botulismo, viruela, tularemia y fiebres hemorrágicas virales. El capítulo resalta al Reglamento Sanitario Internacional, que es un instrumento jurídico que vincula a 194 países, entre ellos todos los estados miembros de la Organización Mundial de la Salud y que tiene por objetivo ayudar a la comunidad internacional a prevenir y afrontar riesgos agudos de salud pública susceptibles de atravesar fronteras y amenazar a poblaciones de todo el mundo.

A lo largo de casi toda la historia y en casi todas partes del mundo, ser un médico ha significado algo especial. La gente acude a los médicos para ayudarse con sus necesidades más apremiantes –alivios del dolor y del sufrimiento–, así como para restaurar su salud y bienestar. La ética médica y posteriormente la bioética surgen del fantasma del mal manejo médico; de manera contundente, Simón Kawa y Samuel Weingerz afirman que todo el personal de salud debe estar actualizado tanto en los conocimientos teóricos como en el desarrollo de sus habilidades técnicas, con el propósito de mantener una competencia clínica adecuada; que el respeto por las decisiones de los pacientes en cuanto al cuidado de su salud es uno de los pilares fundamentales de la ética médica, al igual que la salvaguarda de las distintas necesidades de los pacientes, no solamente las biológicas sino también las sociales, las económicas y otras y que el médico debe conocer de forma integral a su paciente, esforzándose por sentir empatía con él, sin importar qué tan difícil sea su personalidad ni qué tan impactante sea su enfermedad; debe ser un maestro del enfermo, orientándolo y ayudándolo a tomar las decisiones por sí mismo, pero, sobre todo, deberá sentir una profunda compasión por el ser que sufre, agobiado por una enfermedad a veces sin remedio y ante la cual el médico siempre deberá ofrecer algún tipo de apoyo, especialmente cuando no existe esperanza.

Finalmente el capítulo sobre responsabilidad social y ciencia presenta una visión con base en la perspectiva de la organización, no así del individuo, al presentar la ideología empleada en el sector privado como herramienta teórica para evaluar los impactos que las instituciones tienen y favorecer un marco conceptual para la toma de decisiones y la evaluación de las acciones de individuos y organizaciones en la sustentabilidad de la ciencia, la que se explica como algo más que solamente el enfoque ambiental. El primer concepto de sustentabilidad se refiere a que la organización debe asegurar las necesidades de los grupos de interés, definidos como todos los grupos o los individuos que tienen una relación con la organización, de manera directa e indirecta, sin poner en riesgo los requerimientos de los futuros grupos de interés. Sin embargo, este concepto se ha enriquecido al añadir los aspectos de la triple línea base (social, ambiental y económica) al tiempo que se integran los aspectos de corto y mediano alcance. Gina Martínez Flisser señala que la nueva era de corresponsabilidad exige que el científico integre a sus prácticas no sólo la búsqueda del conocimiento sino la visión de los diversos grupos sociales, las prácticas que limiten el daño que sus acciones pueden generar y el manejo ético de la información que utilizan e innovan.

Ana Flisser

.1.

EL MUNDO MICROBIANO: ORIGEN Y EVOLUCIÓN

*Antonio Lazcano-Araujo**

INTRODUCCIÓN

¿Qué son los microbios? La nomenclatura indica, desde luego, que se trata de sistemas biológicos que no son visibles a simple vista. Por desgracia, el nombre mismo, que está profundamente arraigado, lo mismo en círculos científicos que en la cultura popular, corresponde a una categoría genérica sin valor taxonómico o evolutivo que agrupa, de manera promiscua, en un mismo conjunto no sólo a bacterias y protistas sino también a plantas, animales y hongos minúsculos. La situación es confusa, porque también entran en la misma categoría los virus, cuya naturaleza biológica sigue siendo objeto de debates intensos.

Más aún, los microbios cargan sobre sus espaldas, y no sólo en el imaginario popular sino también entre muchos miembros de la comunidad académica, con una reputación negativa que los asocia de forma indiscriminada a las enfermedades. Los trabajos de Pasteur, Lister y Koch demostraron de manera fehaciente no sólo que los microorganismos no se generan espontáneamente sino también que muchos de ellos eran los agentes causales de diversas enfermedades infecciosas. El arraigo de estas tradiciones intelectuales es fácil de entender porque, después de todo, somos los beneficiarios y los herederos de la microbiología médica y de las técnicas de profilaxis y prevención. Sin embargo, durante muchas décadas, los microorganismos quedaron fuera de las

* Miembro de El Colegio Nacional, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, alar@ciencias.unam.mx.

ideas evolucionistas. En 1874, Joseph Lister escribió a Pasteur y se refirió por primera vez a su “teoría de los gérmenes”, pero el término *microbio*, como sinónimo de germen, fue acuñado por Charles Emmanuel Sédillot hasta 1878, es decir, veinte años después de la publicación de *El origen de las especies*. Cuando Charles Darwin ingresó a la Escuela de Medicina de Edimburgo (que abandonó abrumado por el dolor de los pacientes, el asco a la sangre y el horror a las clases matutinas), ni la microbiología ni la infectología formaban parte del programa de estudios y, al principio, ni él ni nadie más veía a los microbios como los ancestros evolutivos de plantas y animales.

Los científicos decimonónicos que continuaron con la tradición milenaria de dividir al mundo vivo en plantas y animales siguieron ubicando en estas dos grandes categorías taxonómicas al número creciente de microorganismos que se iban descubriendo. A finales del siglo XIX se contaba con microscopios cada vez más refinados que permitían observar estructuras exquisitas en organismos eucariontes, como los heliozoarios y las diatomeas, pero las formas relativamente simples de las bacterias hacía creer a muchos que no eran más que simples gotas de protoplasma amorfas, apenas distinguibles, del mundo inorgánico. Los esfuerzos de los pocos científicos que, como Ernst Haeckel, se atrevían a clasificarlas eran vistos con sorna, conmiseración y escepticismo. Aunque las bacterias habían sido descritas por primera vez entre 1623 y 1673 por Antonie van Leewenhoek, cien años más tarde el mismo Carl von Linné no supo bien a bien cómo clasificarlas y sugirió reunir las en 1774 bajo el nombre genérico de *caos*.

Poco a poco hemos ido superando el problema taxonómico que Linné prefirió eludir y, desde hace medio siglo, la utilización de marcadores moleculares nos ha permitido asomarnos a la extraordinaria complejidad del mundo microbiano. Aunque es cierto que no sabemos cómo ubicar a los virus en nuestros esquemas evolutivos y taxonómicos, respecto a los procariontes, el análisis de genes asociados con la traducción nos ha permitido describir sus diversos subgrupos con una precisión nunca antes alcanzada. Pese a que los microorganismos no alcanzaron un sitio en la propuesta original de Darwin, hoy sabemos que son las formas de vida más antiguas y más diversas que hay en el planeta y que, a lo largo de más de tres mil millones de años de evolución, se han diversificado y separado en grupos dotados de una enorme versatilidad metabólica, y que al evolucionar cambiaron a la Tierra misma en forma irreversible transformando, por ejemplo, la atmósfera de nuestro planeta y modificando ciclos geoquímicos de manera casi inconcebible sin su participación.

LA GENEALOGÍA DE LOS MICROBIOS

Aunque Charles Darwin afirmó en 1859 “es probable que todos los seres vivos que hay en la Tierra desciendan de un mismo ancestro”, no dio muchos detalles sobre cuáles podrían ser las características de ese ancestro cuya existencia era necesario reconocer como parte de su esquema evolutivo. Uno de los primeros en emprender esta tarea fue Ernst Haeckel, un naturalista alemán cuya devoción por la obra de Darwin corría paralela a su preocupación por romper con el esquema taxonómico tradicional que dividía a los seres vivos en plantas y animales. Convencido de que los microorganismos formaban un grupo aparte del que habían surgido tanto el reino animal como el vegetal, Haeckel no sólo formalizó en 1866 su propuesta al definir un tercer reino, el de los protista (cuyas fronteras, hay que decirlo, modificó varias veces a lo largo de su carrera, pero siempre dejando dentro a las bacterias) sino que también afirmó que los ancestros de plantas y animales habían sido microorganismos como las euglenas, pequeños protistas que en presencia de la luz llevan a cabo la fotosíntesis y en la oscuridad son heterótrofos, es decir, en términos nutricionales se comportan a veces como plantas, a veces como animales.

No fue sino hasta 1925 cuando Édouard Chatton, un microbiólogo francés que unía a su profundo conocimiento de los protistas una sensibilidad considerable hacia los estudios de la bioquímica, comenzó a hablar de las bacterias y de las cianobacterias como un conjunto de microorganismos con sus propias peculiaridades, al que llamó *protistas procariontes*, y que separó de las algas, los protistas y los hongos, a los que bautizó como *protistas eucariontes*. Detrás de la nomenclatura que propuso Chatton, que muy pronto se simplificó (los procariontes quedaron bautizados como tales, perdiendo el adjetivo de protistas), subyacía una barrera biológica mucho más profunda que la que separa a las plantas de los animales o a los microbios de los organismos visibles a simple vista: los procariontes, que son aquellos organismos que carecen de una membrana nuclear definida, y los eucariontes, que son todos los organismos, microscópicos o no, que presentan al menos una membrana nuclear bien definida.

¿De dónde surgieron los dos tipos de organismos? Al igual que Haeckel, muchos biólogos suponían que los procariontes eran los organismos más antiguos, pero no fue sino hasta 1967 cuando Lynn Margulis propuso que las células eucariontes eran en realidad minúsculas comunidades microbianas que habían resultado de una serie de eventos endosimbióticos, es decir, que las células nucleadas habían sido

precedidas por procariontes que luego se asociaron simbióticamente. Aunque la idea de que mitocondrias y cloroplastos eran descendientes de bacterias de vida libre había circulado en algunos círculos científicos desde finales del siglo XIX, Lynn Margulis no sólo revivió en forma independiente la teoría endosimbiótica, sino que la articuló y apoyó con una serie de evidencias morfológicas, bioquímicas, genéticas e, incluso, geológicas, tan contundentes que sus puntos de vista terminaron por ser aceptados inclusive por sus críticos más severos.

Cuando Margulis propuso por primera vez su teoría, no estaba clara la naturaleza biológica del hospedero que había alojado a las bacterias que luego se convirtieron en mitocondrias y en cloroplastos, es decir, no se tenía una idea precisa sobre el origen del nucleocitoplasma. Los micoplasma, que son parásitos, parecían ser buenos candidatos, debido a que su metabolismo es estrictamente fermentativo (como es el del citoplasma eucarionte) y a que la ausencia de pared celular hubiera facilitado el ingreso de los endosimbiontes. La idea de la endosimbiosis fue ganando cada vez más adeptos y muy pronto se convirtió en una de las bases de la clasificación de los seres vivos en cinco grandes reinos. Así, a pesar de que para entonces era cada vez más evidente la existencia de algunas diferencias en los procesos de replicación y de expresión genética entre los procariontes y los eucariontes, hacia mediados de la década de los setenta, la mayoría de los biólogos pensaban que todos los componentes de las células nucleadas provenían de un mismo linaje bacteriano. El análisis de genes extraordinariamente conservados y el uso explosivo de los análisis bioinformáticos cambiaron de modo radical nuestra visión del mundo microbiano, modificando nuestra idea de la diversidad y la antigüedad de la vida y abriendo debates evolutivos y taxonómicos cuyo final no es fácil adivinar.

FILOGENIAS MOLECULARES: LOS DOS TIPOS DE PROCARIONTES

En 1904, George Nutall, un destacado fisiólogo británico de origen estadounidense, publicó un libro donde resumía años de trabajo, durante los cuales se había dedicado a comparar las reacciones inmunológicas entre los sueros sanguíneos de distintas especies animales, con el propósito de construir árboles evolutivos basados no en información paleontológica o anatómica sino molecular. Sin embargo, no fue sino hasta 1965 cuando Emile Zuckerkandl y Linus Pauling publicaron un artículo en el que describían con todo cuidado cómo la comparación de secuencias de

aminoácidos o de nucleótidos permitía no nada más la construcción de filogenias moleculares sino también datar los procesos de especiación, incluso en ausencia de información paleontológica.

Durante cerca de diez años este enfoque permitió no solamente comparar proteínas como las hemoglobinas, el citocromo C, las ferredoxinas y otras más, sino también construir árboles evolutivos que podían incluir organismos tan distintos entre sí como las bacterias, los hongos y los mamíferos marinos, lo cual hubiera sido imposible con los criterios morfológicos tradicionales. En 1977, Carl Woese y George Fox, este último que trabajaba en el laboratorio del primero en la Universidad de Illinois, publicaron un trabajo que resumía el resultado de las comparaciones de fragmentos del RNA de la subunidad pequeña de los ribosomas de diez especies de metanógenas, pequeños procariontes estrictamente anaerobios y sin citocromos que, como su nombre lo indica, liberan metano como resultado de un proceso quimiosintético que les permite formar compuestos orgánicos a partir del dióxido de carbono. Al fragmentar el RNA ribosomal de las metanógenas con la ayuda de endonucleasas y comparar los trozos resultantes con los de *Bacillus*, algunas enterobacterias, y varias cianobacterias (que son tres tipos de microorganismos bastante distantes entre sí evolutivamente), el grupo de Woese descubrió, para su sorpresa, que la separación evolutiva entre estos tres grupos de bacterias era mínima respecto a la que las separaba del conjunto de las metanógenas. Es decir, la comparación de los fragmentos del RNA ribosomal permitía deducir la existencia de una divergencia biológica extraordinariamente antigua que dividía a los procariontes en dos grupos separados (de manera considerable) en términos evolutivos.

Pocos meses más tarde, Woese y Fox publicaron un trabajo adicional que no sólo confirmaba todos sus resultados previos sino que también demostraba que la comparación de los RNA ribosomales de distintos eucariontes (conocidos como 18S rRNA, por sus dimensiones) con los del 16S rRNA de las metanógenas, por una parte, y bacterias como *Escherichia coli* y *Bacillus firmus* por otra, permitía agrupar a los seres vivos en tres grandes grupos que, aunque tenían un origen común, estaban claramente diferenciados entre sí. Es decir, la comparación de los fragmentos del 16/18S rRNA mostraba que los organismos estudiados, lejos de dividirse en plantas y animales o en procariontes y eucariontes, en realidad se agrupaban en tres grandes linajes o reinos primarios que divergían de un ancestro común. Quedaron así definidos, a partir de la comparación de marcadores moleculares, tres grandes linajes celulares

o, como prefieren llamarlos algunos, tres reinos primarios: las bacterias que incluyen a todos los procariontes, de vida libre o parasitaria, con los que estamos familiarizados como *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, cianobacterias, micoplasmas, etc.; las arquea, que se divide en grandes grupos formados por metanógenas, halófilas, termosulfoproteales, que se encuentran en ambientes ácidos y de temperaturas elevadas, pero también a muchos procariontes que viven en condiciones no extremas; y finalmente, a los eucarya, el grupo formado por todos los eucariontes, desde organismos como los microsporidia, *Giardia*, las amibas, las diatomeas, los ciliados, etc., hasta los hongos, las plantas y los animales, incluyendo, desde luego, a nosotros mismos.

¿Qué ocurrió durante la historia temprana de la vida, que llevó a la separación de los seres vivos en estas tres grandes líneas evolutivas? ¿Cómo conciliar estos árboles evolutivos con los esquemas taxonómicos tradicionales? ¿Cuál era la naturaleza de los ancestros de estos tres grandes grupos de organismos? ¿Cuándo y dónde vivieron estos ancestros?

LA APARICIÓN DE LA VIDA

La publicación en 1859 del libro *El origen de la especies* de Charles Darwin marcó un hito en la historia no sólo de la biología sino del pensamiento occidental mismo. El impacto de la obra de Darwin fue tan poderoso que su influencia muy pronto alcanzó muchas áreas de la cultura, impulsando el desarrollo de ideas e hipótesis que comenzaron a plantearse en el seno de un marco de referencia evolutivo. Aunque no lo dijo en forma explícita, Darwin, al igual que Lamarck, dejó abierta la posibilidad de que los primeros organismos hubieran surgido como resultado de la generación espontánea.

Aunque Darwin fue extraordinariamente reacio a discutir en público la aparición de la biosfera, el 1 de febrero de 1871 le escribió a su buen amigo el botánico Francis Dalton Hooker una carta donde afirmó que

a menudo se dice que las condiciones necesarias para el surgimiento de la vida aún persisten. Pero sí (¡y que sí tan grande!) pudiéramos imaginar la presencia en un pequeño charco de agua tibia en donde toda suerte de sales amoniacales y fosfóricas, en presencia de luz, calor, electricidad, etc., de un compuesto proteínico formado químicamente, listo para sufrir cambios más complejos, en la actualidad dicha sustancia sería instantáneamente devorada o absorbida, lo cual no hubiera ocurrido antes de la aparición de la vida.

¿Existieron los charcos primordiales que Darwin imaginó? ¿Cómo eran los primeros organismos? ¿Cuándo aparecieron los primeros seres vivos en nuestro planeta? Aunque no sabemos a ciencia cierta cuál es la respuesta a estas preguntas, en los últimos veinte años ha crecido la certeza en un número cada vez mayor de investigadores de que hace unos 3.5 mil millones de años el planeta ya se encontraba poblado por una biosfera microbiana extraordinariamente diversa. Ello no plantea paradoja alguna, porque conocemos bien, por ejemplo, la rapidez con la que las bacterias y otros microorganismos evolucionan adaptándose a los antibióticos, y es factible que el surgimiento y la diversificación de los primeros organismos haya requerido de apenas unos cuantos millones de años. Desafortunadamente, uno de los problemas más severos que enfrentaremos es la ausencia de rocas sedimentarias de más de 3.5 mil millones de años. Es decir, el registro geológico no nos permite, al menos por el momento, reconstruir las condiciones ambientales que tenía la Tierra cuando apareció la vida: no conocemos cuál era la composición de la atmósfera terrestre, la temperatura de la superficie de nuestro planeta, o la extensión de los mares primitivos. No es de extrañar, pues, que esta situación haya llevado al desarrollo de explicaciones diferentes (e incluso antagónicas) sobre la naturaleza de los primeros seres vivos y los procesos que llevaron a su origen. A pesar de tales incertidumbres, una serie de evidencias que van desde la observación y el estudio de las nubes de material interestelar en las que se están formando estrellas y planetas, hasta la simulación experimental de las condiciones de la Tierra primitiva sugiere que la vida surgió en nuestro planeta como resultado de la evolución de sistemas de compuestos orgánicos que se acumularon de síntesis abióticas y de choques con cometas y meteoritos. Esta idea, que hoy es conocida como la hipótesis heterótrofa del origen de la vida, fue propuesta en 1924 por un joven bioquímico ruso, Alexander Oparin y, a pesar de la indiferencia y de la resistencia con las que se topó inicialmente, de manera lenta fue ganando impulso hasta transformarse en la mejor explicación de la aparición de la biosfera.

Las ideas de Oparin tardaron en ser conocidas fuera de la antigua URSS. Sin embargo, en 1952, Harold Urey, un distinguido investigador estadounidense que había recibido el premio Nobel por su descubrimiento del deuterio y que se encontraba por ese entonces enseñando en la Universidad de Chicago, publicó un estudio en donde proponía un modelo de atmósfera primitiva similar al sugerido por Oparin. Ese mismo año Stanley Miller, un joven químico que había comenzado sus

estudios de doctorado en dicha institución, escuchó a Urey hablar de sus modelos de la Tierra primitiva y, al cabo de unas cuantas semanas, se le acercó y le pidió que lo asesorara para llevar a cabo una simulación de los procesos que permitieron la síntesis de compuestos orgánicos necesarios, según Oparin, para la aparición de la vida. Aunque al principio Urey rechazó el proyecto, eventualmente aceptó trabajar con Miller, quien puso manos a la obra diseñando un aparato relativamente simple, en el cual se simulaba la Tierra primitiva con todo y descargas eléctricas. El aparato construido por Miller estaba lejos de corresponder a la compleja estructura de los ambientes terrestres primitivos. Sin embargo, al someter a la acción de descargas eléctricas una mezcla de gases formada por metano, amoníaco, hidrógeno y vapor de agua, Miller pudo observar cómo se formaban aminoácidos, hidroxiaácidos, urea y otras moléculas de importancia bioquímica.

El interés que despertaron los resultados reportados por Miller fue extraordinario: bastaban unos cuantos días para obtener, en condiciones que parecían simular las de la Tierra primitiva, algunos de los compuestos esenciales para la vida. El trabajo de Miller, que fue publicado en 1953, apareció pocas semanas después del artículo en el que Watson y Crick proponían el modelo de la doble hélice del DNA y, en rigor, inauguró el estudio experimental del origen de la vida. Muy pronto fue seguido por otros experimentos similares, dando así inicio a lo que conocemos ahora como química prebiótica. Sin duda alguna, el experimento más importante que se hizo después de el de Miller lo llevó a cabo Joan Oró en 1960, un químico catalán vecindado en Houston, que demostró que la condensación de cinco moléculas de ácido cianhídrico (HCN), un compuesto que se formaba con facilidad en el experimento de Miller y que está presente en las nubes de material interestelar y en los núcleos de cometas, formaba la adenina, una de las bases nitrogenadas presentes en el DNA, el RNA y el ATP, un nucleótido relativamente simple que juega un papel esencial en el metabolismo de todos los seres vivos.

A lo largo de los últimos cincuenta años, los trabajos de Miller y Oró no sólo han sido confirmados por muchos otros investigadores, sino que también han servido para demostrar la facilidad con la que podemos sintetizar las pirimidinas (que son las bases complementarias a las purinas, el tipo de moléculas al que pertenece la adenina), azúcares, lípidos y muchas moléculas más de interés biológico. Podemos obtener compuestos catalíticos que ayudan a unir aminoácidos, cadenas de nucleótidos y hasta moléculas lipídicas, las cuales al entrar en contacto con el agua se organizan espontáneamente y forman sistemas conocidos

como micelas y liposomas, que poseen en su interior un medio acuoso y que pueden haber sido precursores de las células actuales. Aunque por desgracia carecemos de pruebas directas de la existencia de la sopa primitiva, la eficiencia con la que se pueden formar un gran número de monómeros bioquímicos y, en algunos casos, de oligómeros como péptidos relativamente simples apoya, sin duda, las ideas de Oparin.

Existe una evidencia adicional a favor de la existencia de la sopa primitiva. En septiembre de 1969 cayó en Australia un meteorito que resultó tener la edad misma del sistema solar: 4.6 mil millones de años. Este pequeño cuerpo, que hoy conocemos como el meteorito de Murchison, fue analizado con todo rigor gracias a los laboratorios que se habían montado para estudiar las muestras lunares. Los resultados de estos estudios han sido espectaculares: el meteorito Murchison posee hidrocarburos tanto lineales como aromáticos, pero también cerca de 80 aminoácidos, ácidos dicarboxílicos, algunas de las bases púricas y pirimídicas, así como moléculas capaces de formar membranas de doble capa y compuestos derivados de azúcares, entre muchos otros. Aunque carecemos de una muestra de la sopa primitiva, el análisis del Murchison muestra que hace 4.6 mil millones de años, cuando se estaban formando la Tierra y otros planetas, en el sistema solar ocurría una serie de procesos químicos que permitían la síntesis y la acumulación de compuestos orgánicos, lo cual ciertamente apoya la idea de que en nuestro planeta ocurrían procesos similares. Más aún, la caída del Murchison sugiere que la sopa primitiva pudo haber sido sazonada con material orgánico extraterrestre que llegó a nuestro planeta a bordo de cometas, meteoritos y asteroides, enriqueciendo el medio ambiente prebiótico con una enorme cantidad y diversidad de moléculas de importancia bioquímica.

EL MUNDO DEL RNA

¿Cómo surgió la vida a partir de un caldo prebiótico? Luego de que el modelo de la doble hélice del DNA de Watson y Crick fue aceptado y de que se comprendió que las secuencias de los aminoácidos de las proteínas se encuentran codificadas en el DNA mismo, el campo del origen de la vida se dividió en dos grandes grupos. Por un lado, se encontraban quienes sostenían que lo primero en surgir había sido el DNA, que se replica y almacena la información genética y, por otra parte, había un grupo igualmente numeroso que sostenía que las proteínas habían aparecido antes, ya que son los catalizadores más conspicuos de los proce-

Los bioquímicos básicos e indispensables para la replicación misma de los ácidos nucleicos. Es cierto que había quienes sugerían que los primeros seres vivos habían resultado de la coevolución de ambos tipos de moléculas, pero esta alternativa tampoco parecía resolver el problema.

No fue sino hasta 1967 cuando el propio Woese sugirió que antes que el DNA y las proteínas había surgido el RNA, una idea que también fue propuesta un año más tarde de manera independiente por Francis Crick y por Leslie Orgel. A pesar del enorme prestigio de estos tres científicos, muchos desdeñaron esta posibilidad por considerarla una especulación sin fundamento. Sin embargo, en 1982, los grupos de Thomas Cech y Sidney Altman descubrieron, de manera casi accidental, que algunas moléculas de RNA, a las que ahora llamamos ribozimas, poseían propiedades catalíticas. Es decir, el RNA es un ácido nucleico que puede almacenar información genética, pero también se comporta como las proteínas y cataliza diversas reacciones bioquímicas.

El descubrimiento de la existencia de moléculas de RNA catalítico ha venido a reforzar la hipótesis de lo que hoy llamamos el mundo del RNA, y ha permitido diseñar experimentos que simulan lo que pudo haber ocurrido en la Tierra primitiva. Se han aislado ribozimas, por ejemplo, que pueden leer cadenas sencillas de RNA y formar una cadena complementaria, lo cual demuestra que en principio se podría haber obtenido la replicación del RNA en ausencia de enzimas. Los modelos de los sistemas precelulares que pudieron haber antecedido a los primeros sistemas vivos se han ido refinando. Por ejemplo, el grupo de Jack Szostak, de la Universidad de Harvard, ha logrado introducir ribozimas al interior de liposomas que empiezan a funcionar como pequeños reactores químicos y polimerizan nucleótidos. El estudio de las propiedades de las ribozimas ha modificado en forma profunda varios conceptos de la biología molecular al demostrar, por ejemplo, que la formación del enlace peptídico que une a los aminoácidos en el interior del ribosoma es catalizada no por las proteínas ribosomales, sino por el RNA mismo. Desde una perspectiva evolutiva, estos resultados tienen implicaciones profundas. Por una parte, simplifican enormemente el estudio del origen de la vida, ya que vuelven plausible la idea de un mundo de RNA, en donde la catálisis de procesos ancestrales dependía de ribozimas y, al mismo tiempo, indican que la síntesis de proteínas (y, en consecuencia, el código genético mismo) es un producto de la evolución del mundo del RNA.

¿Cuándo y cómo surgió el DNA? A diferencia del RNA, que es una molécula de una enorme fragilidad, la doble hélice del DNA se caracteriza por una estabilidad química considerable. Esta propiedad, de hecho,

nos permite entender su origen, ya que el almacenar la información genética en un polímero poco reactivo aumenta de manera cuantiosa la fidelidad de su transmisión hereditaria. Los mecanismos de síntesis del DNA están extraordinariamente conservados entre todos los organismos estudiados, lo que sugiere que la línea biológica ancestral de donde surgieron las especies contemporáneas estaba formada por células que ya poseían DNA, RNA y proteínas. La vida, tal como la conocemos hoy en día a nivel bioquímico, evolucionó en forma tan rápida, que hace unos tres mil quinientos millones de años muchos de los mecanismos moleculares básicos ya se habían desarrollado. La extraordinaria diversidad biológica que vemos no sólo en los seres vivos actuales sino también en el registro fósil nos habla del poder de adaptación y diversificación de estos ancestros de donde todos descendemos.

¿Y LOS VIRUS?

Aunque el uso de diversos marcadores moleculares como el rRNA y otras secuencias altamente conservadas han comprobado la existencia de linajes procariontes definidos de modo perfecto, a decir verdad, las fronteras que los separan son mucho más permeables de lo que solemos imaginar. El mejor ejemplo de la promiscuidad con la que diversos clados de bacterias y arqueas intercambian información genética es la rapidez con la que se ha extendido la resistencia a antibióticos gracias a virus y a plásmidos, pero las consecuencias taxonómicas y evolutivas del transporte horizontal de genes apenas comienzan a ser comprendidas. Es probable que la mejor perspectiva para entender el origen, la diversidad y la evolución de los virus sea la que permita ver a gran escala el papel que han jugado al mantener interconectados a las diversas poblaciones microbianas.

La extraordinaria capacidad de los virus para adquirir genes de un hospedero y llevarlos a otro organismo (que puede ser o no de la misma especie) representa uno de los mecanismos de resistencia a los antibióticos más notable que existe en el mundo microbiano, pero al mismo tiempo demuestra la fragilidad de las fronteras taxonómicas con las que separamos a los distintos organismos. De hecho, el descubrimiento de que la RNA polimerasa de muchas mitocondrias es homóloga a la del fago T7, que infecta a bacterias, muestra la importancia que los virus tuvieron en la integración genética de los consorcios microbianos que eventualmente dieron origen a las células eucariontes. De manera equivalente, los vestigios de retrovirus que infectaron a nuestros ancestros y cuyo DNA aún podemos identificar en el genoma humano y de otros primates muestra

el nivel de intimidad de la convivencia de nuestra especie con virus cuyos parientes actuales subyacen pandemias terribles como la del SIDA.

Los virus no están vivos, pero tampoco están muertos. Como todos saben, se replican utilizando el aparato enzimático de las células que infectan y además de mutar pueden adquirir genes de sus hospederos y transportarlos de un organismo a otro o, en muchos casos, de una especie a otra, contribuyendo así al mantenimiento de una compleja red de tráfico de información genética que ha jugado un papel esencial en la evolución, por ejemplo, de la resistencia a antibióticos. Al igual que los seres vivos, los virus también evolucionan, pero sus poblaciones se modifican y se adaptan como resultado de las presiones de los sistemas inmunológicos y de otros sistemas de defensa de sus hospederos.

Por desgracia, el estudio de los virus y la comprensión de su naturaleza están teñidos por prejuicios extraordinariamente arraigados. Tanto sus dimensiones como su simplicidad estructural son criterios engañosos, y el temor que despiertan es una evidencia del sesgo con el que los vemos. Sin embargo, en su inmensa mayoría, no son patógenos y no existe un grupo biológico de donde estén ausentes. Un número importante de lo que llamamos infecciones virales emergentes en las poblaciones humanas son, en realidad, el resultado de una interacción compleja entre la evolución viral y los factores de tipo socioeconómico, como la producción en masa de alimentos, la globalización y el transporte aéreo, el desarrollo de tecnologías médicas, como las transfusiones, y las invasiones a nichos ecológicos que nos exponen a los patógenos de otras especies animales.

Sabemos que la modificación de la información genética de los virus se da por mutación, recombinación y, en el caso de virus con genomas segmentados como los de la influenza, por intercambio de genes con otros virus que estén infectando al mismo tiempo hospederos animales de poca especificidad, como ocurre con los cerdos. En estos casos, la evolución de los virus se puede explicar como un ejemplo de puntualismo, pero al mismo tiempo indica que las diversas variantes del virus de la influenza y su presencia en una amplia variedad de animales sugiere que los debemos ver, como ocurre con las micobacterias, como ecotipos y no como individuos en el sentido clásico del término.

CONCLUSIONES

Aunque no sabemos qué tan antiguos sean los virus, es probable que algunos de ellos hayan aparecido en las etapas más antiguas de la

evolución celular, pero existen muchos argumentos para rechazar la posibilidad de que provengan de épocas anteriores al surgimiento de los primeros organismos. Desde entonces no han dejado de evolucionar, brincando de especie en especie, modificando sus secuencias y diversificándose al mismo tiempo que los grandes grupos biológicos. Aunque a veces lo olvidamos, salvo unas cuantas excepciones no hemos sido capaces de erradicar a los virus que infectan a los humanos. Sin embargo, sabemos cómo prevenir muchas de sus infecciones. Aunque no podamos detener la evolución viral, podemos evitar sus consecuencias. Ello, probablemente, sea uno de los grandes descubrimientos en el estudio de la relación entre nuestra especie y algunos de los patógenos más minúsculos que debemos enfrentar.

Lo mismo es cierto de los procariontes. Hoy en día los microorganismos ocupan un sitio destacado no sólo como ejemplo de los cambios evolutivos que podemos observar de manera casi cotidiana, sino también son una fuente constante de asombro ante su versatilidad adaptativa. Los éxitos de la vacunación, los insecticidas, el drenaje y la penicilina nos hicieron olvidar lo frágil que es el equilibrio entre las poblaciones humanas y las de nuestros patógenos. En las últimas décadas, la situación ha cambiado, y nuestra confianza ante los éxitos de las políticas de salud pública se ha visto menguada. Nunca lograremos frenar la evolución de virus, protistas y bacterias; como lo demuestran la pandemia del SIDA, el avance del cólera, la persistencia del dengue y la aparición de organismos capaces de resistir combinaciones inéditas de antibióticos o antivirales, estamos lejos de controlar las potencialidades del mundo microbiano. A los ojos de muchos parecería que la naturaleza ha desencadenado oleadas de microbios y patógenos nuevos sobre nosotros. No es así: como escribieron hará unos diez años Richard Lewontin y Bruce Levin, basta hacer a un lado la perspectiva antropocéntrica para observar el sorprendente inventario de poblaciones de virus y microbios mutantes que se expanden con rapidez y que afectan plantas y animales.

Sin embargo, el número de especies patógenas es extraordinariamente reducido si lo comparamos con la diversidad microbiana. Las complejas interacciones que tienen entre sí las poblaciones de procariontes no sólo permitió la aparición de plantas, animales y hongos, cuya existencia depende directa o indirectamente del oxígeno libre que generaron las cianobacterias, sino que también ha llevado al desarrollo de órganos y tejidos especializados en donde se alojan simbioses, como ocurre con las asociaciones entre las leguminosas y las bacterias fijadoras del

nitrógeno o de peces con bacterias luminiscentes. Como lo demuestra la coexistencia de plantas y animales con un sinnúmero de especies procariontes, no es fácil trazar una línea divisoria entre simbiontes, comensales y parásitos. Ninguna especie eucarionte podría sobrevivir sin los procariontes, pero al revisar la historia del planeta se descubre con asombro que durante miles de millones de años fueron las bacterias y las arqueas las únicas formas de vida que hubo en la Tierra. De manera gradual pero inexorable, poco a poco fueron invadiendo los ambientes terrestres y marinos intercambiando metabolitos, gases y minerales, generando ciclos biogeoquímicos que han modificado la naturaleza de los sedimentos, el depósito de minerales, el pH de los mares y la composición de la atmósfera, hasta hacer de la Tierra un cuerpo en donde la interacción entre la biosfera y su ambiente es tan intensa que se ha convertido en una suerte de diálogo en el que no es fácil separar a los interlocutores.

LECTURAS RECOMENDADAS

- DECKER, H. y K. E. van Holde. 2011. *Oxygen and the evolution of life*. Springer, Heidelberg, 172 p.
- HOWLAND, J. L. 2000. *The Surprising Archaea: discovering another domain of life*. Oxford University Press, Oxford, 204 p.
- KNOLL, A. H. 2003. *Life on a young planet*. Princeton University Press, Princeton, 277 p.
- MARGULIS, L. 1993. *Symbiosis in cell evolution: microbial communities in the Archaean and Proterozoic Eons*. Freeman Co., Nueva York, 452 p.
- SAPP, J. 2009. *The New Foundations of Evolution: On the tree of life*. Oxford University Press, Nueva York, 425 p.

.2.

LA GENÉTICA BACTERIANA: AMBIENTE, EVOLUCIÓN Y PATOGÉNESIS

*Magdalena Wiesner, Claudia Silva y Edmundo Calva**

INTRODUCCIÓN

Las bacterias tienen una inmensa diversidad genética y funcional, la cual ha moldeado a la biosfera durante los más de 3 800 millones de años que tiene la vida en la Tierra. Ellas han desarrollado mecanismos eficientes de modificación del genoma que les permiten adaptarse a las condiciones ambientales siempre cambiantes [1].¹ Sus genomas se modifican por la pérdida y la ganancia de genes; esta última a través de duplicación de genes y adquisición de nuevos genes debido a la transferencia lateral de genes. Los nuevos genes son introducidos por elementos genéticos móviles, como plásmidos y virus, o por la incorporación de DNA libre en el ambiente [2].

EL MUNDO BACTERIANO

Bacterias como patógenos

Mucho antes de que en el mundo aparecieran los seres humanos, éste ya se encontraba habitado por bacterias y por otros microbios (virus,

* Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos, México, mawire@gmail.com; csilvamex1@yahoo.com; ecalva@ibt.unam.mx.

¹ En el ensayo aparecerán números (a veces no consecutivos o repetidos) entre corchetes, los cuales significan referencias bibliográficas ubicadas al final.

protozoos, hongos y algas unicelulares). Nuestra supervivencia indiscutiblemente está ligada a su supervivencia. Por fortuna, la gran mayoría de los microorganismos son benéficos y esenciales en los ciclos de la naturaleza y muchas de las formas vivientes actuales no se encontrarían si los microbios no existieran. Sin embargo, dentro de cada grupo, hay unos cuantos microbios que causan enfermedades, los cuales son conocidos como patógenos.

Los antibióticos, introducidos en la década de 1950, aparecieron como la súper arma que prometía darles a los humanos la victoria total sobre los patógenos bacterianos, causantes de la muerte de millones de personas en siglos anteriores, por peste negra, tuberculosis y cólera, entre otras pandemias. Por lo tanto, en las décadas posteriores, la investigación se enfocó en resolver otros problemas de salud pública como el cáncer, las enfermedades del corazón y las infecciones virales. Las bacterias, mientras tanto, fueron utilizadas en estudios de evolución, biología y, por supuesto, en todo el desarrollo de la ingeniería genética que conocemos hoy en día.

El problema real, ignorado por mucho tiempo, fue que las bacterias empezaron a volverse resistentes a los antibióticos utilizados contra ellas. Para 1995, las enfermedades infecciosas causadas por bacterias se convirtieron en una de las cinco principales causas de muerte en Estados Unidos. Esto enfrentó a la comunidad médica y científica al hecho de que las bacterias podían cambiar su acervo genético muy rápidamente, a través de mutaciones o adquiriendo nuevos genes de virulencia o resistencia, logrando adaptarse con facilidad a nuevos ambientes. Así, hubo que aceptar que la victoria sobre las bacterias patógenas no era real y que estábamos lejos de alcanzarla. Sin embargo, los esfuerzos por ganar esta lucha no decaen y la mejor forma para combatir las es conociendo su biología, incluyendo su evolución, sus factores de virulencia y cómo se convierten en bacterias resistentes a antibióticos. Es importante el desarrollo de métodos para identificarlas con rapidez, y para eso es necesario conocer la genética de la patogénesis bacteriana.

El papel del intercambio genético en la evolución bacteriana

Las bacterias son haploides –tienen un solo cromosoma– y se reproducen por fisión binaria: esto es, las células madre dan lugar a dos células hijas, llamadas clonas, cada una con información genética idéntica a la de su progenitora. En estas poblaciones clonales, la variación ocurre por mutaciones transferidas a los descendientes de las células en que surgieron. Este tipo de transferencia de información genética se conoce

como vertical, mientras que la transferencia lateral u horizontal se refiere al movimiento de información genética entre células que no necesariamente comparten un ancestro reciente [3, 4]. Podemos distinguir dos procesos fundamentales en la transferencia lateral de genes (TLG) entre bacterias. Uno mediado por recombinación homóloga en la que se sustituyen fragmentos de DNA por otros parecidos, y el otro mediado por recombinación no homóloga, o ilegítima, en la que se introducen al genoma nuevos fragmentos de DNA [3, 5]. Se conocen tres mecanismos generales utilizados por las bacterias para la TLG: conjugación, transformación y transducción. La conjugación es el mecanismo que requiere del contacto célula-célula y se lleva a cabo por plásmidos, que son elementos de DNA extracromosomal, que pueden constituir hasta 30% del genoma de una bacteria; la transformación se lleva a cabo por la incorporación de DNA "desnudo o libre" del ambiente; y la transducción es mediada por virus, llamados bacteriófagos o fagos, que de manera accidental empaquetan en su cápsula segmentos de DNA de la célula que infectaron previamente y que lo inyectan en la nueva célula hospedadora [2, 5]. Estos mecanismos de transferencia de información genética tienen las siguientes características: 1) son unidireccionales, de un donador a un receptor; 2) se transfiere sólo una fracción del genoma que puede involucrar desde algunos pares de bases (pb) a cientos de kilobases (kb; o miles de pares de bases), dependiendo sobre todo del mecanismo de transferencia; y 3) están desacoplados de la reproducción, por lo que estos eventos no necesariamente ocurren en cada descendencia [3, 6-9]. El aporte relativo de la recombinación respecto a la mutación en la generación de nuevos genotipos varía de modo considerable entre diferentes especies y poblaciones bacterianas [9].

Otro aspecto importante en la evolución de las bacterias es la promiscuidad del intercambio genético. Hay reportes de recombinación homóloga entre procariontes (bacterias) con un alto nivel de divergencia en secuencias, hasta de 25%, lo cual evidencia que en procariontes puede haber intercambio genético entre linajes separados por distancias evolutivas mucho mayores que entre los eucariontes [6, 10, 11]. La comparación del creciente número de genomas bacterianos secuenciados muestra que los genomas han experimentado cantidades significativas de TLG, lo que ha generado cromosomas mosaico de secuencias ancestrales y de genes adquiridos horizontalmente [12-14].

Se han documentado muchos ejemplos de cómo la adquisición de material genético puede provocar cambios significativos en el nicho y fenotipo de una especie (cuadro 1).

CUADRO 1. Ejemplos de elementos móviles genéticos que codifican factores de virulencia y están involucrados en la patogénesis

<i>Tipo de elemento móvil</i>	<i>Patógeno</i>	<i>Factor de virulencia</i>
	<i>Bacillus anthracis</i>	Toxina del ántrax
	<i>Clostridium tetani</i>	Toxina del tétano
	<i>Escherichia coli</i> enterotoxigénica	Toxina termo-estable
	<i>Mycobacterium ulcerans</i>	Toxina de origen policétido
Plásmidos	<i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	Proteínas SpvR, SpvA, SpvB, SpvC y SpvD
	<i>Shigella spp.</i>	Sistema de secreción tipo III
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Exfoliatina B
	<i>Yersinia spp.</i> patogénica	Sistema de secreción tipo III
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Toxina de difteria
	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica	Toxina Shiga y efectores del sistema de secreción tipo III
Profagos	<i>Salmonella Typhimurium</i>	Profagos Gifsy-1 y Φ SpE Φ
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Enterotoxina A de estafilococo, exfoliatina A y leucocidina de Pantón-Valentín
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Exotoxina pirogénica de estreptococo, DNAsas y fosfolipasa A ₂
	<i>Vibrio cholerae</i>	Toxina del cólera
	<i>Clostridium difficile</i>	Enterotoxina y citotoxina clostridial
	<i>Escherichia coli</i> enterohemorrágica y enteropatógena	Sistema de secreción tipo III, isla LEE
	<i>Escherichia coli</i> uropatógena	Fimbrias, sistemas de captación de hierro, cápsula y alfa-hemolisina
Islas de patogenicidad	<i>Helicobacter pylori</i>	Antígeno Cag
	<i>Salmonella enterica</i>	Sistema de secreción tipo III
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Toxina de shock tóxico, enterotoxina B, C, K y L de estafilococo Casete cromosomal de <i>Staphylococcus</i> SSCs (Ej.: SSCmec)

Adaptada de M. J. Pallen y B. W. Wren (2007) [20].

En algunos casos, la adquisición de plásmidos o de islas de patogenicidad puede provocar el cambio entre ser simbionte comensal a un patógeno [15, 16]. Por ejemplo, la transferencia del plásmido de virulencia de *Shigella flexneri* a *Escherichia coli* le permite ser invasiva; o la introducción de la isla de patogenicidad LEE a una cepa de laboratorio de *E. coli* le confiere el fenotipo de adhesión [15]. La transferencia de genes de adaptación ecológica permite la diversificación y la especiación bacteriana, por lo que estos eventos tienen un gran impacto sobre la evolución de las poblaciones bacterianas [12]. Esta es una de las grandes diferencias y ventajas del intercambio genético en bacterias respecto al de los eucariontes, ya que las bacterias no tienen que “reinventar la rueda”: la transferencia de genes, islas genómicas, plásmidos y fagos crean nuevos linajes con combinaciones únicas que pueden explotar nuevos nichos y generar nuevas especies o ecotipos, a través de uno o pocos eventos evolutivos [3, 12, 17].

Se plantea que la transferencia horizontal de información fue la fuerza primaria en la evolución celular, lo cual nos lleva a valorarla como una característica inherente a la evolución bacteriana. Inclusive, la organización actual de los genes bacterianos en operones (grupos de genes que se transcriben en el mismo mRNA, por lo general involucrados en una misma función) sugiere que el genoma de las bacterias ha sido diseñado de forma evolutiva por y para la TLG [5, 18]. El agrupamiento y la compactación de genes permiten que los fenotipos puedan ser transferidos a través del movimiento de fragmentos de DNA relativamente pequeños [1].

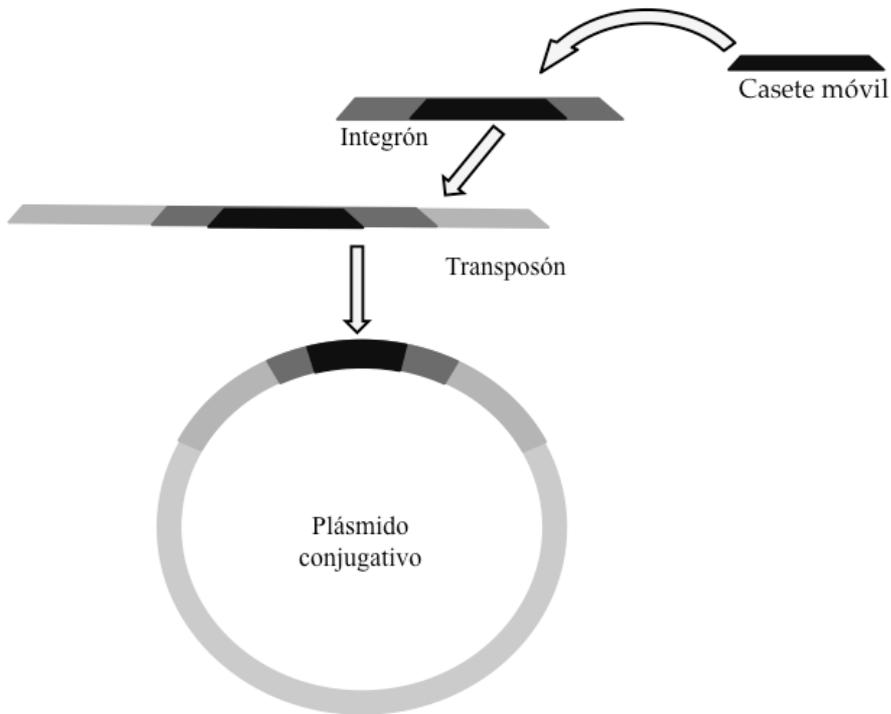
La revolución genómica nos ha permitido apreciar el grado en que la TLG ha moldeado la vida de las bacterias en la Tierra. Los análisis comparativos de genomas completos han mostrado que los genomas procariontes son extremadamente dinámicos y que grandes cantidades de material genético están siendo adicionadas o perdidas con continuidad. La evolución de las bacterias está ligada al ambiente en el que viven y al reservorio de elementos móviles en ese ambiente. Se ha denominado *supergenoma* al acervo total de genes disponibles en un ambiente particular. Otros términos que han ganado popularidad en la comparación de los genomas de cepas de la misma especie son: el genoma *core* o central, definido como los genes presentes en todas los individuos de una especie; el genoma *accesorio* o *flexible* que se encuentra sólo en algunos miembros de la especie y el *pangenoma* como la suma de ambos [2].

Factores de virulencia y de resistencia

Una cantidad sustancial de los llamados factores de virulencia involucrados en la patogénesis se encuentran en las llamadas islas de patogenicidad (insertadas en el cromosoma), o en profagos (bacteriófagos integrados al cromosoma) o en plásmidos. Ejemplos clásicos de toxinas codificadas por un profago son la toxina diftérica de *Corynebacterium diphtheriae* y la toxina de *Vibrio cholera* [19, 20]. Los profagos tienen un papel preponderante en la diversificación de patógenos como *E. coli*, *Streptococcus pyogenes* y *Staphylococcus aureus* que producen las toxinas Shiga, la pirogénica y la enterotoxina A, respectivamente [20]. Otro ejemplo clásico de factores de virulencia codificados en profagos son proteínas efectoras del sistema de secreción tipo III. El conjunto de profagos encontrados en diferentes cepas de *Salmonella enterica* ofrece un amplio catálogo de determinantes de patogenicidad, que pudieron ser importantes en la diversificación de las especies y sus serotipos para la adaptación a nuevos nichos [20, 21]. Por ejemplo, los profagos Gifsy-1 y SopEΦ producen efectores involucrados en la colonización de las células del hospedero [19]. Los análisis genómicos hechos en *Salmonella* y *Streptococcus* han revelado que la variación entre cepas que han causado cuadros clínicos diferentes se debe casi exclusivamente a la presencia y a la ausencia de profagos, lo cual remarca su papel central en la patogénesis [19, 20]. Las islas de patogenicidad son grupos de genes que se presume fueron adquiridos por TLG: están generalmente insertados en sitios de tRNA, tienen contenidos de G + C diferentes al del cromosoma de la bacteria y confieren un fenotipo de virulencia a la bacteria hospedera. Por ejemplo, el tRNA de la selenocisteína ha servido de forma repetida para la integración de islas de patogenicidad en enterobacterias, incluyendo la PAI-1 de *E. coli* enterohemorrágica, la isla LEE en *E. coli* enteropatógena, la SHI-2 de *Shigella flexneri* y la SPI-3 de *S. enterica* [13, 16, 20].

Los plásmidos son elementos de DNA extracromosomal que tienen la capacidad de autorreplicarse independientemente del cromosoma. Contienen genes que les permiten mantenerse y segregarse dentro de las células, pero también pueden portar otros para la transferencia lateral y elementos accesorios que codifican para características benéficas para la célula hospedera. Estos elementos pueden incluir factores de virulencia que permiten la colonización de células eucariontes, protección contra sustancias antimicrobianas o metales pesados, o la capacidad de metabolizar algunas fuentes de carbono [1]. Con frecuencia, los plásmidos se encuentran asociados a elementos móviles como transposones o

integrones. Los transposones son estructura genéticas que “saltan” de un lugar a otro del genoma; si saltan y se insertan en plásmidos o fagos pueden ser transferidos lateralmente junto con ellos. Los integrones son elementos genéticos que capturan y expresan genes; los más conocidos acumulan genes de resistencia a antibióticos [13, 17, 22]. Los integrones pueden ser parte de un transposón que puede ser parte de un plásmido conjugativo, el cual transfiere todos estos elementos a la vez (véase la siguiente figura).



Representación de la modularidad del genoma accesorio de las bacterias. Se ilustra la inserción de un casete conteniendo un gen (p. ej., de resistencia a antibióticos) en un integrón, el cual puede integrarse a un transposón (que contiene resistencias a antibióticos y otras sustancias tóxicas, como desinfectantes o metales pesados), mismo que a su vez se inserta en un plásmido conjugativo (que puede contener otras resistencias y factores de virulencia), el cual se disemina por transferencia lateral entre las poblaciones bacterianas.

De este escenario se deriva la problemática de salud pública, generada por la evolución de grandes plásmidos conjugativos portadores de factores de virulencia y de resistencia a antibióticos [22].

Evolución genómica y adaptación a hospederos de *Salmonella*

La historia evolutiva de *Salmonella* ilustra la importancia de la TLG en la adaptación a nuevos nichos. El pariente más cercano conocido de *Salmonella* es *E. coli*. A diferencia de *E. coli*, *Salmonella* puede infectar reptiles y vertebrados. Se estima que la divergencia de los linajes de *Salmonella* y *E. coli* ocurrió hace aproximadamente 100-140 millones de años. Se calcula que ambos linajes han ganado y perdido más de 3 megabases (millones de pares de bases) de DNA nuevo desde su divergencia [12, 23]. Al utilizar una filogenia de referencia se puede calcular el tiempo relativo de inserción de un evento de TLG. Por ejemplo, la isla de patogenicidad 1 de *Salmonella* (SPI-1) es una región de 40 kb que codifica para un sistema de secreción tipo III que permite la invasión de células epiteliales y que está presente en las dos especies de *Salmonella*, *S. enterica* y *S. bongori*, pero no se encuentra en *E. coli*. SPI-1 representa un evento antiguo de TLG que ocurrió cercanamente a la divergencia de los dos géneros. Por otro lado, la SPI-2 codifica para otro sistema de secreción tipo III y confiere la capacidad de sobrevivir en los macrófagos y de citotoxicidad en estadios tardíos de la infección. SPI-2 se adquirió después de la divergencia entre *S. enterica* y *S. bongori*, ya que muchos de sus genes no están presentes en *S. bongori* [15, 16, 21, 24]. De hecho, además de SPI-1 y SPI-2, hay una gran variedad de islas de patogenicidad, cuyo número varía de acuerdo con el serotipo.

El linaje de *S. enterica* se diversificó en varios grupos filogenéticos, llamados subespecies. La evolución de la subespecie I involucró una dramática expansión del rango de hospederos. *S. bongori* y las demás subespecies (II-VII) se asocian principalmente con vertebrados de sangre fría, mientras que la subespecie I (*S. enterica enterica*) se adaptó a colonizar vertebrados de sangre caliente, con la aparición de los primeros mamíferos hace 150 millones de años [25]. La inmensa mayoría de las infecciones humanas provienen de las diferentes serovariedades de la subespecie I [26]. La distribución de islas de patogenicidad, operones de fimbrias y polímeros de superficie apunta a que surgieron nuevas combinaciones de determinantes de virulencia a través de TLG durante la adaptación a diferentes hospederos [21, 24]. El estudio de varios genomas completos de *Salmonella*, *E. coli* y *Shigella* [23] mostró tres resultados: 1) la mayoría de genes que pudieron haber sido adquiridos por TLG en el linaje de *Salmonella* ocurrieron en etapas tempranas de su divergencia de *E. coli*, favoreciendo la explotación de nuevos nichos, como fue la incorporación de SPI-1 y la consecuente capacidad de invadir células epiteliales; 2) la inserción diferencial de profagos en los genomas de

las diferentes serovariedades de *Salmonella* constituye la fracción más grande de genes adquiridos por TLG; y 3) en las serovariedades con hospedero específico, en este caso el ser humano, como Typhi y Paratyphi A, se encuentra una elevada proporción de pseudogenes, sugiriendo que el genoma se halla en un proceso de degradación [23]. Este conjunto de resultados apoyan nociones antes mencionadas, como el papel de la TLG en la especiación y en la adaptación bacteriana, la importancia de los elementos móviles en la generación de variedades que sobreviven en diversos nichos (hospederos) y que la pérdida de información genética es otro proceso sobresaliente en la evolución bacteriana.

Islas genómicas y fagos de *Staphylococcus*

El género *Staphylococcus* consiste de bacterias Gram-positivas que colonizan la piel y las membranas mucosas de seres humanos y otros animales. Aunque son parte de la flora normal de microorganismos comensales, también son patógenos oportunistas que causan una amplia gama de enfermedades. La infección por *S. aureus* es una de las causas más prominentes de infecciones nosocomiales. Muchas cepas son resistentes a meticilina (conocidas como MRSA, por las siglas en inglés) debido a la adquisición de un casete cromosomal llamado elemento SSC*mec*. Además, la especie ha incrementado su virulencia y transmisibilidad a causa de la incorporación de factores de virulencia, como la toxina (PVL) o los llamados superantígenos, codificados en profagos [27-29]. Se conocen al menos 16 islas de patogenicidad insertadas en el cromosoma. Estas islas pueden ser movilizadas entre cepas por ciertos fagos. En este caso, los fagos y los profagos actúan en conjunto para crear la movilidad de las islas de patogenicidad; algunos fagos también tienen la habilidad de transferir resistencias a antibióticos, por la transducción de plásmidos o elementos previamente incorporados en el cromosoma. Al igual que en *Salmonella*, los bacteriófagos han tenido un papel muy importante en la diversificación, evolución y patogénesis de *Staphylococcus* [27-29].

El desarrollo de métodos de estudios a escala genómica, como los microarreglos, y las herramientas para comparar secuencias de genomas completos (cuadro 2) han abierto una nueva era en el estudio de la evolución de *Salmonella*, *Staphylococcus* y otras bacterias de interés médico. Estudios recientes han destacado la importancia de los bacteriófagos en generar variabilidad genética dentro de las poblaciones bacterianas, codificar genes involucrados en virulencia y como vectores de movilización de otros elementos genéticos.

CUADRO 2. Métodos de tipificación bacteriana más utilizados

Método	Principios	Datos generados	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
<i>Fenotípicos</i>					
Morfología	Observación directa al microscopio	Forma de las células y sus agrupaciones. Bacilos, cocos, filamentos, racimos, cadenas, etcétera	Económico, interpretación sencilla, portable	Poca información, convergencia morfológica	Caracterización inicial, poco utilizado en identificación de rutina
Bioquímicas	Consumo de nutrientes, producción de metabolitos, resistencia a sustancias. Cambio en indicadores (color, pH, etcétera)	Tablas de utilización, producción y resistencia. Ej.: fuentes de carbono, producción de gases, resistencia a antibióticos	Económico, interpretación sencilla, portable	Bajo poder de resolución	Caracterización inicial, muy utilizado en identificación de rutina
Tinción de Gram	Tinción diferencial de la pared celular	La mayor parte de las bacterias se pueden clasificar en Gram positivas (+) o Gram negativas (-)	Económico, interpretación sencilla, portable	Resultados limitados	Caracterización inicial, poco utilizado en tipificaciones de rutina
Antibiograma	Medir niveles de resistencia o susceptibilidad a los antibióticos, por el método de difusión en disco o microdilución en caldo	Antibiograma o perfil de susceptibilidad, que indicará cuál es el tratamiento de elección para esa bacteria	Medianamente económico, interpretación estandarizada, portable	Difícil de implementar en laboratorios pequeños	Caracterización inicial, muy utilizado en identificación de rutina
Serotipificación	Detección inmunológica de antígenos de superficie	Se genera una clave o nombre para el serotipo. Ej.: <i>E. coli</i> O157:H7, <i>Salmonella</i> 4,12:d:-, Dublin, Typhi, etcétera	Reproducible, interpretación sencilla	Costoso, difícil de montar, laborioso, no portable	Caracterización inicial, utilizado en identificación de rutina de algunos grupos
<i>Genotípicos</i>					
MLEE	Movilidad electrorética de enzimas metabólicas que reflejan cambios en los genes que las codifican	Se genera un genotipo multilocus con base en la combinación de alelos, llamado ET. Ej.: 3 4 2 3 4 = ET1 3 4 1 2 4 = ET2	Económico, reproducible, se pueden comparar diferentes especies	Interpretación subjetiva, resultados no comparables entre laboratorios	Utilizado en estudios de biología poblacional, poco usado en diagnóstico

(continúa)

Método	Principios	Datos generados	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
Hibridación DNA:DNA	Se hibrida todo el contenido genómico de dos individuos y se estima el porcentaje de homología	Se obtiene un porcentaje de hibridación de cada par. Ej. 70%		Laborioso, difícil de estandarizar, poco reproducible	Poco útil en el diagnóstico, se aplicó en la descripción de especies, cada vez menos usada
RELPs	Cortes en secuencias específicas de DNA reconocidas por enzimas de restricción (endonucleasas). Se comparan los polimorfismos en la longitud de los fragmentos mediante electroforesis	Se generan patrones de restricción. Se codifican los tamaños de las bandas o como matrices de presencia (1) o ausencia (0). Ej. 3, 5, 8, 10 y 15 kb o 1 0 1 1 0 1	Medianamente económico, sencillo, reproducible, rápido	Proporciona información que no se puede extrapolar a variación nucleotídica	Utilizados para establecer relaciones clonales basadas en los perfiles de digestión
DNA genómico y sondas (RELPs)	Restricción de DNA total con enzimas de corte frecuente. Hibridación con sondas específicas marcadas (radioactiva o químicamente)	Variante de RELPs en que se detecta la presencia de una región de DNA específica. Cuando se utiliza el gen 16S rDNA se denominan ribotipos	Medianamente económico, reproducible, interpretación sencilla	Resultados a mediano plazo, laborioso	Se prueba la presencia de un fragmento de DNA. Utilizado en tipificación de grupos específicos. Ej. ribotipificación
Productos de PCR (RELPs)	Amplificación de una región genética específica. Posteriormente se puede usar para RELPs o para obtener la secuencia	Información de la composición nucleotídica del gen de interés o variante de RELPs en que se corta una región de DNA específica	Medianamente económico, reproducible, interpretación sencilla, resultados comparables entre laboratorios, se puede analizar gran número de muestras simultáneamente	Se detecta variación en regiones de DNA pequeñas, que no reflejan la variación genética en el resto del genoma	Se utiliza para detectar variantes de genes específicos, puede ser con motivos de clasificación
DNA genómico (PFGE)	Restricción de DNA total con enzimas de corte poco frecuente. Resultados por electroforesis de campos pulsados en gel	Variante de RELPs en que se analiza la mayor parte del genoma. Produce huellas digitales (<i>fingerprinting</i>) que se usan para comparar cepas relacionadas	Medianamente reproducible. Estandarizado para ser comparable entre laboratorios	Costoso, laborioso, resultados a mediano plazo. Interpretación y análisis subjetivos	Utilizado en programas de vigilancia epidemiológica. Eficiente en discriminar poblaciones clonales y brotes
PCRs específicos	Amplificaciones de genes de interés, como el gen 16S rDNA o los involucrados en patogénesis	Se obtiene un patrón de la presencia o de la ausencia de genes. Las matrices se pueden usar para agrupar cepas. Los productos se pueden someter a RELPs o secuenciación, y utilizar como sondas en otros experimentos	Medianamente económico, reproducible, interpretación certera, resultados comparables entre laboratorios. Análisis de muestras grandes en corto tiempo. No requiere del aislamiento ni del cultivo de las bacterias	Dependiente de la secuencia de los iniciadores. Solo rinde presencia o ausencia	Tamizaje poblacional de la presencia de genes específicos. Útil en el diagnóstico rápido, incluso sin necesidad de cultivar (Ej. 16S rDNA) o para detectar variantes de genes de virulencia (Ej. casete <i>SSCMec</i> y tipificación <i>spa</i> de <i>S. aureus</i>)

(continúa)

Método	Principios	Datos generados	Ventajas	Desventajas	Aplicaciones
MLST	Secuencias parciales de genes de mantenimiento celular. Hay variantes que incluyen genes involucrados en virulencia	Las variantes de cada gen se designan como alelos. La combinación de alelos multilocus constituye el ST. Para muchos grupos de bacterias hay sitios de internet donde se acumulan y comparan las bases de datos	Medianamente económico, reproducible, interpretación sencilla, resultados comparables entre laboratorios	Resultados a mediano plazo; sólo se analiza una mínima parte del genoma total	Utilizado en estudios de biología poblacional, aplicado en el seguimiento de genotipos
Secuencia genómica	Determinación de la secuencia completa del genoma	Se obtiene la secuencia de nucleótidos para el cromosoma y plásmidos	Máximo grado de resolución de la variación genética	Costoso, resultados a largo plazo, aplicable a un número limitado de individuos	No se utiliza en el diagnóstico de rutina. Plataforma para la generación de estudios de genética evolutiva y para el diseño de otros marcadores genéticos
Microarreglos	Con base en la secuencia completa de un genoma se amplifican todos los genes y se fijan de manera ordenada a una superficie. Se hibrida con el genoma problema para identificar la presencia o la ausencia de genes, así como su expresión diferencial bajo condiciones distintas	Se genera una matriz de niveles de hibridación de genes. Se generan gráficas que representan la intensidad de la hibridación con un gradiente de colores	Evaluación global de la expresión genética bajo diferentes condiciones. Rinde información genómica sin tener que secuenciar	Costoso. Útil sólo para genomas secuenciados y relacionados. No se detectan los genes que no están en el microarreglo. Medianamente reproductibles	No se aplica en el diagnóstico. Plataforma para la generación de estudios de genética evolutiva y para el diseño de otros marcadores genéticos. Utilizado en estudios de regulación genética
SNPs	Detectar sustituciones puntuales en el genoma. Se detectan al comparar genomas completos y se implementa para los genes que muestran variación	La variación en los genes analizados se codifica como los cambios puntuales encontrados; no se registran los sitios irrelevantes	Alto grado de resolución. Muestra la variación genómica en muestras grandes, sin tener que secuenciar	Requiere conocimiento previo de la variación del genoma	Permite aplicar la información genómica a estudios poblacionales de seguimiento epidemiológico y evolutivo

UNA PERSPECTIVA ECOLÓGICA Y EVOLUTIVA

Cada vez es más claro que los plásmidos y los fagos son cruciales en el surgimiento de nuevos patógenos (cuadro 1). La diferencia entre un comensal inofensivo, una bacteria del suelo y un patógeno mortal puede ser simplemente la presencia de un plásmido (p. ej., en el caso del ántrax) o de un fago (el caso del cólera) [2]. Es necesario tener una visión ecológica y evolutiva de las interacciones patógeno-hospedero para identificar la ventaja selectiva de los llamados factores de virulencia, teniendo en cuenta el estilo de vida amplio de los patógenos y que los seres humanos no son el centro del universo bacteriano. El siguiente ejemplo da una idea de lo complejas que pueden ser las interacciones en el ciclo de vida de una bacteria. *E. coli* O157 es un patógeno de la gente pero también es un microorganismo comensal de bovinos; un estudio reciente muestra que la toxina Shiga, codificada por un profago, incrementa la sobrevivencia de la bacteria en presencia del ciliado *Tetrahymena pyriformis*, indicando que la interacción con un adversario no mamífero puede estar involucrada con la evolución de este factor de virulencia [20].

Modelos animales

Que las bacterias son causantes de enfermedad ha sido una de las preguntas que los científicos y los médicos han tratado de responder desde hace siglos. Pero, ¿cómo se demuestra que un patógeno es el causante directo de una enfermedad? Hace alrededor de cuatro siglos la idea de que las enfermedades eran producidas por criaturas tan pequeñas que no podían ser vistas era nueva y poco aceptada por la comunidad médica. En el siglo XIX, el microbiólogo alemán Robert Koch estableció cuatro criterios con el fin de dar rigor científico a la nueva disciplina de enfermedades infecciosas. Desde entonces, estos criterios se conocen como Postulados de Koch y todavía están vigentes. Éstos han jugado un papel primordial en la demostración de que los microbios causan muchas de las enfermedades infecciosas. Los Postulados de Koch son:

1. Los patógenos deben estar asociados con la lesión de la enfermedad; esto significa que deben recuperarse del tejido enfermo más no del sano.
2. El patógeno debe poder cultivarse directamente del tejido dañado.

3. El patógeno debe causar los mismos síntomas de la enfermedad al inocularse en animales o humanos sanos.
4. El patógeno debe recuperarse de los animales o humanos reinfec-tados.

Estos postulados abrieron una nueva ventana de investigación en la que era necesario utilizar modelos biológicos que reprodujeran la enfermedad causada en el ser humano para así conocer mejor su desarrollo, su ciclo infeccioso, la respuesta que genera en el hospedero y cuál es la manera más eficaz de erradicarla (tratamientos, vacunas, entre otros). Curiosamente, debido al conocimiento de la época, Koch no incluyó el concepto de portador sano, esto es, un individuo que porta el patógeno pero sin desarrollar síntomas; ni tampoco el concepto de infecciones mixtas. En la actualidad, no se concibe el estudio de las enfermedades infecciosas sin el uso de modelos y los avances en todos los campos de la ciencia han conllevado a la aplicación de muchas herramientas, no sólo biológicas sino matemáticas y computacionales para entender tanto la biología del patógeno, su ciclo de vida, capacidad de diseminación y evolución, como la interacción con el hospedero. Estas herramientas tienen como objetivo final desarrollar estrategias de contención del patógeno en todos los niveles, desde la infección hasta su dispersión. Los modelos se pueden dividir en modelos *secos* que comprenden los modelos matemáticos y computacionales, y los modelos *húmedos* que comprenden metodologías *in vitro* o *in vivo* que van desde cultivo de células hasta organismos más complejos como plantas, peces, gusanos, insectos y vertebrados [30].

A lo largo de los años se han desarrollado numerosos modelos de infección *in vitro* o *in vivo* para identificar los factores de virulencia de un amplio rango de patógenos de plantas y de animales, y también para descifrar su regulación. La observación de que algunas de las interacciones se conservan evolutivamente, no sólo desde el punto de vista del patógeno sino también del hospedero, ha sido útil para identificar organismos que pueden servir como modelos. Es importante que estos organismos se puedan manipular de forma genética, no sólo una sino varias veces y que esas modificaciones sean reflejadas en un fenotipo. Con estos procedimientos se han investigado a nivel molecular varias de las interacciones patógeno-hospedero. Los patógenos también se consideran como modelos y es indispensable que se puedan modificar genéticamente y que puedan crecer en los medios sintéticos de laboratorio [31]. La manipulación genética tanto del organismo modelo como del patógeno a evaluar

generó, a finales de la década de 1990, los postulados moleculares de Koch, en un esfuerzo por definir el término factor de virulencia. Estos postulados se basan en tres criterios:

1. El factor de virulencia a evaluar debe ser encontrado en todas las cepas patógenas, pero debe estar ausente de las cepas no patógenas de la misma especie.
2. La inactivación específica del gen o genes debe atenuar la virulencia en el modelo que se esté evaluando.
3. La reintroducción del gen debe restaurar el fenotipo virulento en el modelo [32].

Los agentes patógenos bacterianos que afectan a los seres humanos pueden ser de dos tipos: los que causan infección intracelular y los que producen infección extracelular. Esta división convierte al proceso de evaluación de las enfermedades infecciosas en algo más complejo, por lo que se debe asegurar que los organismos modelo sean los adecuados, ya que de esto depende que se puedan entender los eventos que se disparan en la interacción patógeno-hospedero y así desarrollar nuevas terapias y vacunas contra estas enfermedades [33]. Cada organismo modelo tiene sus ventajas y desventajas. De las metodologías *in vitro*, el cultivo de células y sus variantes es una de las ampliamente utilizadas, pues tiene como ventaja que, además de evitar toda la carga ética y administrativa que implica trabajar con animales, los experimentos pueden ser diseñados con un nivel más específico de interacción como, por ejemplo, evaluar el papel de un gen particular en virulencia. Las metodologías *in vivo* implican trabajar con modelos animales. Sus ventajas incluyen que son organismos de un gran nivel de complejidad, lo cual produce un modelo con mayor aproximación a los cuadros clínicos en enfermos [30]. En el cuadro 3 se presentan las características de los modelos *in vivo* e *in vitro* más utilizados y algunos ejemplos de los patógenos evaluados.

El objetivo principal del uso de modelos en el estudio de las enfermedades infecciosas es conocer los mecanismos de patogenicidad para desarrollar herramientas de contención del patógeno que primero deben ser evaluadas en estos mismos modelos. Sea cual sea el patógeno que se esté investigando, la complejidad de la interacción patógeno-hospedero merece la aplicación de la mayor variedad de modelos posibles y de métodos analíticos para obtener un cuadro completo e informativo que se reflejará en las herramientas utilizadas por los médicos para

CUADRO 3. Ejemplos de organismos modelo in vitro, ex vivo e in vivo

Organismo	Modelo	Ventajas	Desventajas	Aplicación en algunos patógenos
<i>In vitro</i>				
Cultivo de células	Utilizadas para evaluar modelo de invasión intracelular y respuesta celular	Periodo de vida indefinido	Mantenimiento medianamente costoso con condiciones estrictas de crecimiento. Puede mostrar mutaciones no controladas debido a la inmortalidad de las células	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus aureus</i> • <i>Salmonella Typhimurium</i> • <i>Escherichia coli</i>
<i>Ex vivo</i>				
Cultivo de órganos	Utilizadas para evaluar modelo de invasión intracelular y respuesta celular	Mantiene en parte la organización característica del órgano; se mantiene diferenciado	Se obtienen de biopsias humanas, no es posible su propagación; costos elevados	
<i>In vitro</i>				
Protozoo. Amiba. <i>Dictyostelium discoide</i>	Para el estudio del mecanismo de la fagocitosis, similar al de los macrófagos	Económico, genoma pequeño, mutantes fácilmente detectables, generaciones en corto tiempo, genoma secuenciado 35Mb	Crecimiento en temperaturas restringidas; sistema inmune primitivo; poca diferenciación de tejidos	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Legionella pneumophila</i> • <i>Mycobacterium</i> spp. • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> • <i>Cryptococcus neoformans</i>
Nematodo. Gusano. <i>Caenorhabditis elegans</i>	Interacción de patógenos Gram negativos y positivos con organismos multicelulares, análisis de la respuesta inmune innata, estudio de infecciones gastrointestinales	Económico, tamaño pequeño, mutantes fácilmente detectables, generaciones en corto tiempo, genoma secuenciado 100 Mb	Crecimiento en temperaturas restringidas, sistema inmune primitivo	<ul style="list-style-type: none"> • Gram-negativos • <i>Burkholderia</i>, <i>Pseudomonas</i>, <i>Salmonella</i>, <i>Serratia</i>, <i>Yersinia</i> • Gram-positivos • <i>Enterococcus</i>, <i>Staphylococcus</i>, <i>Streptococcus</i> • Hongos • <i>Cryptococcus neoformans</i>
Planta. <i>Arabidopsis thaliana</i>	Interacción en plantas, análisis de la respuesta inmune, se ha propuesto para identificar mecanismos de virulencia conservados en patógenos de amplio rango de hospedero	Éticamente aceptable, de genoma pequeño y secuenciado 120 Mb, económico, produce gran número de semillas	Crecimiento en temperaturas restringidas, sistema inmune primitivo	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> • <i>Erwinia</i> spp. • <i>Burkholderia cepacia</i>

(continúa)

Organismo	Modelo	Ventajas	Desventajas	Aplicación en algunos patógenos
Insectos. Mosca. <i>Drosophila melanogaster</i>	Modelo por excelencia para evaluar mecanismos de defensa (respuesta inmune innata), vías de señalización del intestino compartidas con las del humano	Económico, generaciones en corto tiempo, potencial para el descubrimiento de nuevos insecticidas; genoma secuenciado 136 Mb	Crecimiento en temperaturas restringidas, sistema inmune primitivo	<i>Listeria monocytogenes</i> <i>Mycobacterium marinum</i> <i>Candida albicans</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterococcus faecalis</i>
Zebrafish. Pez cebra. <i>Danio rerio</i>	Usado en el estudio del desarrollo y de la maduración del sistema inmune, interacción con microbios patógenos y comensales	Económico, pequeño, se puede trabajar con un gran número de individuos, su color translúcido permite una alta resolución en la observación de ensayos <i>in vivo</i>	Crecimiento en temperaturas restringidas, sistema inmune primitivo	<i>Aeromonas</i> spp. <i>Bacillus subtilis</i> <i>Burkholderia cenocepacia</i> <i>Edwardsiella</i> spp. <i>E. coli</i> <i>Mycobacterium</i> spp. <i>Listeria</i> spp. <i>Pseudomonas</i> <i>Salmonella</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Streptococcus</i>
Ratón. <i>Mus musculus</i>	Son utilizados en el ensayo de potenciales vacunas, debido a que su sistema inmune es muy similar al del humano con respuesta innata y respuesta adaptativa	Manipulables genéticamente, genoma secuenciado 3000 kb	Mantenimiento costoso, tiempo de generación lento	<i>E. coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Helicobacter pylori</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Campylobacter jejuni</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Salmonella Typhimurium</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>

Adaptado de Wiles et al. (2006) [30].

contender con la enfermedad, sin afectar en mayor medida al paciente ni al medio ambiente.

Regulación de las islas de patogenicidad y otros factores de virulencia

Las bacterias han desarrollado sistemas muy sofisticados para percibir y reaccionar ante las señales ambientales. Esto es, deben poder responder con rapidez a cualquier cambio en su entorno. Típicamente, podemos imaginarlas pasando de un estado de confort a un estado de estrés, y viceversa. De hecho, al infectar un hospedero, las bacterias requieren adaptarse a un nuevo nicho que puede involucrar alta osmolaridad y temperatura, bajo pH, competencia con otras bacterias, compuestos tóxicos y señales particulares dentro de la célula hospedera, entre otros muchos. En este campo, los sistemas de dos componentes (TCS, siglas en inglés) son los más estudiados y de los más prevalentes. Estos sistemas consisten, en su estructura básica, de dos proteínas reguladoras: una que percibe las señales ambientales y otra que recibe una señal de éstas para activar o reprimir genes [34]. Uno de los paradigmas de los TCS es el sistema EnvZ/OmpR, en el que EnvZ es la proteína detectora del estímulo ambiental que se autofosforila en presencia de alta osmolaridad para después transferir ese fosfato a OmpR. OmpR-P, u OmpR-fosforilada, es la forma activa que prende y apaga genes; los primeros genes descritos en la literatura que eran regulados por este sistema fueron los de las porinas OmpC y OmpF, de ahí su nombre. Sin embargo, a la fecha sabemos que este sistema regula una gran variedad de genes implicados en la virulencia, en especial en el género *Salmonella*. Otro TCS muy estudiado es el de PhoQ/PhoP; PhoQ responde a bajas concentraciones del ión magnesio y está involucrado en la sobrevivencia de la bacteria dentro del macrófago. De hecho, ambos TCS regulan tanto SPI-1 como SPI-2 de *Salmonella* [35, 36]. Se han descrito circuitos reguladores globales que van desde la percepción de las señales ambientales hasta el control de reguladores específicos, como HilD codificado en SPI-1 y SsrB en SPI-2, que regulan dichas islas, respectivamente. En efecto, elucidar los nexos entre el ambiente y la virulencia no sólo ayuda a comprender mejor la patogénesis, sino que entrelaza la microbiología clínica con la ecología microbiana. Tales visiones incluyentes son fascinantes y pueden llevar al mejor control de infecciones bacterianas, posiblemente con el diseño de fármacos que interfieran con la percepción y la transmisión de señales del ambiente.

HACIA UNA NUEVA VISIÓN DE LA TIPIFICACIÓN BACTERIANA

La capacidad de asociar una bacteria a un cuadro clínico depende de la habilidad para identificar la especie bacteriana. Es por eso que la caracterización de los microorganismos es un campo primordial dentro de la medicina. Una vez que la causa de la enfermedad se establece, es importante tener la capacidad de hacer el seguimiento de la especie bacteriana que la está causando. Para esto, desde sus inicios, la bacteriología ha desarrollado esquemas de identificación basados en la morfología de los aislamientos y la capacidad de degradar sustratos específicos (cuadro 2). Con los años, se ha mostrado que las poblaciones no son homogéneas y que pequeñas diferencias son sustanciales en el momento de tomar las decisiones correctas para el tratamiento de las infecciones. La tipificación bacteriana consiste en distinguir la variación genética entre diferentes aislamientos. Su implementación en el diagnóstico juega un papel primordial en la epidemiología de enfermedades infecciosas, generando la información necesaria para identificar, rastrear e intervenir a las bacterias causantes de brotes (cuadro 2) [37].

Caracterización fenotípica

En sus inicios, el uso de las herramientas novedosas como el microscopio impulsó el desarrollo de metodologías descriptivas y la clasificación de las bacterias basadas en sus características morfológicas. Después, la exitosa recuperación de aislamientos en medios de cultivo, que reprodujeran las condiciones de crecimiento óptimas, propició la descripción y la clasificación de las bacterias por sus características fenotípicas y bioquímicas [38]. Actualmente, estas pruebas se aplican con continuidad para la identificación de patógenos en casos clínicos y se conocen como técnicas de caracterización fenotípica (cuadro 2). Una de las más antiguas pero que todavía es piedra angular en la clasificación de las bacterias es la tinción de Gram, que se basa en una tinción diferencial que refleja la composición de la envoltura celular. Las bacterias Gram-negativas son aquellas que tienen dos capas lipídicas y en medio una de peptidoglicano. Esta conformación deja salir el colorante utilizado y entonces adquieren un color rosa. Las bacterias Gram-positivas tienen una sola capa lipídica y peptidoglicano más grueso que no permite la salida del colorante, adquiriendo un color violeta. Otra de las técnicas más utilizadas en los laboratorios clínicos es el antibiograma, el cual

indica el patrón de resistencia o susceptibilidad in vitro de las bacterias a un panel de antibióticos (cuadro 2). Sin embargo, aunque estos métodos son importantes en la clasificación de los microorganismos y se utilizan de rutina, no son lo suficientemente discriminatorios en la tipificación bacteriana.

Caracterización genotípica

Al conjunto de técnicas moleculares utilizadas para el análisis y la comparación de la composición genética de las bacterias se le conoce como genotipificación [39]. A partir del descubrimiento de la estructura del DNA en 1953 y del conocimiento generado sobre las propiedades del mismo, junto con el desarrollo de técnicas de biología molecular, surgió la genética microbiana como la conocemos hoy en día. Estos avances mostraron que la fenotipificación es sólo un reflejo de la expresión del genoma y sugirió que las bacterias podrían clasificarse al comparar sus genomas. El descubrimiento de los procesos de replicación del DNA, transcripción a RNA y traducción a proteínas, permitió la identificación de los genes involucrados en cada uno de estos procesos. El análisis de estos genes en diferentes especies mostró variaciones a nivel de nucleótidos y dio paso a una de las primeras herramientas de genotipificación: la amplificación, la restricción y la secuenciación del gen 16S rRNA, el cual se ha utilizado con éxito en la clasificación de especies [40]. Posteriormente, los descubrimientos realizados sobre las propiedades del genoma bacteriano dieron paso a la aplicación en análisis epidemiológicos de las técnicas moleculares de segunda generación (enzimas de restricción e hibridaciones), tercera (electroforesis en gel de campos pulsados y reacción en cadena de la polimerasa) y cuarta (secuencias genómicas completas y parciales) [39].

Técnicas de segunda generación

Estas metodologías se desarrollaron a partir del descubrimiento de las enzimas de restricción y de la observación de que sus sitios de corte en bacterias son muy conservados. Se denominaron RFLP o polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción por sus siglas en inglés (cuadro 2) ya que se visualizan al separar los fragmentos de DNA en electroforesis, generados por el corte de la enzima, usando un gel de agarosa para generar patrones de bandas. Éstos se utilizan para establecer relaciones clonales en aislamientos bacterianos. Bajo este principio,

si dos aislamientos presentan el mismo patrón de bandeo entonces son 100% idénticos y pertenecen a una clona. Las diferencias en pocas bandas significan que derivan de un ancestro común, mientras que las diferencias en muchas bandas denota que provienen de ancestros diferentes. Los RFLP se han complementado con hibridaciones con sondas marcadas que consisten principalmente de rRNA por lo que el método se denominó ribotipificación (cuadro 2) [38].

Técnicas de tercera generación

Estos métodos resultaron del esfuerzo por mejorar los de segunda generación e incluyen, entre otros, la PFGE o electroforesis en gel de campos pulsados, la cual es una variante de los RFLP. Esta metodología fue la primera que se aplicó con éxito en los programas de vigilancia epidemiológica; permitió comparar aislamientos a nivel local y así establecer redes de vigilancia para los patógenos bacterianos encontrados con mayor frecuencia en infecciones hospitalarias. Por otro lado, una de las técnicas más importantes desarrolladas y que es la base para la mayoría de las técnicas de cuarta generación es la PCR o reacción en cadena de la polimerasa. Esta técnica facilitó la identificación de genes especie-específicos de forma masiva en diferentes patógenos y se aplica con continuidad en los programas de vigilancia y en los laboratorios de diagnóstico (cuadro 2).

Técnicas de cuarta generación

Estos métodos se desarrollaron cuando la secuenciación de genomas completos puso rápidamente a disposición del público gran cantidad de información. De inmediato, se pensó en la oportunidad para conocer todos los genes involucrados en la virulencia y para hacer filogenias a gran escala. El MLEE o electroforesis de enzimas multi-locus es una técnica genotípica muy utilizada en la ecología de poblaciones desde antes de la era de la secuenciación, en la que se comparan las propiedades de movilidad de las enzimas metabólicas. El salto más importante fue cuando, haciendo uso de los avances en secuenciación de genomas, se decidió analizar estas proteínas pero a nivel de nucleótidos. Se diseñó el MLST o tipificación por secuencia multi-locus, cuyo esquema está basado en generar secuencias parciales de varios genes, en general de los que codifican para enzimas metabólicas o bien para funciones básicas. Para cada gen las diferentes variantes son denominadas alelos y

la combinación de los alelos de todos los genes define el perfil alélico o tipo de secuencia (ST) para cada cepa. La relación entre aislamientos se obtiene al comparar los perfiles alélicos: aislamientos cercanamente relacionados tienen el mismo ST y los que varían en pocos genes están más relacionados que aquellos en donde los genes son diferentes [41]. Más aún, se han definido subtipos de ST al utilizar secuencias parciales de genes que muestran gran variación, lo cual ha sido de utilidad para rastrear brotes. Simultáneamente, se han desarrollado metodologías que utilizan el conocimiento del genoma completo de alguna bacteria. Los microarreglos analizan el total de los genes conocidos de una bacteria de referencia, en el que un solo experimento de hibridación permite comparar con la composición genética de la bacteria problema. Una variante extendida del MSLT son los llamados SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) en los que se amplifica y secuencia un número mayor de genes para muchas cepas buscando variaciones puntuales.

En la actualidad, las caracterizaciones fenotípica y genotípica aplicadas al diagnóstico de enfermedades causadas por bacterias se han convertido en uno de los procedimientos de rutina de mayor importancia en los hospitales y en los laboratorios de vigilancia epidemiológica, lo que ha dado lugar al desarrollo de la epidemiología molecular. Estos procedimientos son útiles en la identificación correcta del patógeno, de lo que depende la oportuna intervención y el tratamiento para curar al paciente, así como el seguimiento epidemiológico de las cepas. Las herramientas de tipificación se deben complementar entre ellas para dar la información más completa y precisa a los médicos acerca de la historia y de la evolución de los patógenos. En términos prácticos para el médico, estas herramientas facilitan la identificación clínica rápida y oportuna de la bacteria –o bacterias– que están causando un cuadro infeccioso y, por lo tanto, su apropiada intervención.

El caso de *Staphylococcus aureus*

Uno de los ejemplos más sólidos en la literatura referente a la tipificación de patógenos es el análisis de *S. aureus*, patógeno descubierto en la década de 1880 y que desde entonces ha sido considerado como potencial, por adquirir una rápida resistencia al antibiótico de elección que se utilice para contrarrestar su infección. En 1942, después de dos años de la introducción de la penicilina para uso médico, se reportó el primer aislamiento resistente a este antibiótico en un hospital, el cual posteriormente se dispersó a la comunidad. Ya para 1960, 80% de los ais-

lamientos de *S. aureus* eran resistentes a la penicilina. En 1961, dos años después de la introducción de la meticilina, se reportó *S. aureus* (MRSA) resistente a estos dos antibióticos en los hospitales y se diseminaron clonas de esta cepa por todo el mundo, los cuales se identificaron como HA-MRSA (Hospital-Acquired Methicillin-Resistant Strain) por sus siglas en inglés. El gen que confiere la resistencia a meticilina es transmitido de manera horizontal en la población y se denomina *SSCmec*. Inicialmente y mediante el uso de la PFGE se lograron identificar las líneas clonales de MRSA que estaban causando infecciones en Estados Unidos, en el este de Europa y en Sudamérica [42].

Luego, el MLST se convirtió en el método por excelencia para estudiar la historia evolutiva de este patógeno, al analizar varios aislamientos de diferentes países a través de varios años. La aplicación del algoritmo eBURST a los datos del MLST organizó los aislamientos en diferentes complejos clonales, cada uno con un ancestro diferente [43]. La tipificación se complementó con la amplificación por PCR y con la secuenciación del casete *SSCmec*. Se determinó que el mismo tipo de casete estaba presente en varios complejos clonales. Esto permitió establecer la hipótesis multiclonal para la evolución de *S. aureus* que define una clona como un grupo de aislamientos de diferentes países con idéntico ST y tipo de casete *SSCmec*. Después, en la década de 1990, aparecieron en la comunidad las CA-MRSA (Community-Acquired), las cuales son cepas más virulentas que se dispersaron con rapidez en la comunidad y en el ambiente hospitalario. La tipificación demostró que estas nuevas cepas eran descendientes directos de los MRSA, pero que adquirieron elementos nuevos de virulencia como la toxina Pantón-Valentine Leukocidina (PVL). El esquema para *S. aureus* se complementa con otra PCR específica llamada tipificación *spa* (cuadro 2). De la misma forma que el *SSCmec*, dentro de un mismo ST se pueden encontrar diferentes genes *spa*, lo cual refuerza la teoría multiclonal. Actualmente la nomenclatura estandarizada para la identificación de los aislamientos está basada en el ST convencional más la secuencia del casete *SSCmec* y del *spa*. Es importante recalcar que es necesario conocer la cantidad de clonas de *S. aureus* MRSA que circulan en el mundo, para implementar estrategias de control de su transmisión y evolución a cepas más virulentas.

El caso de *Salmonella* Typhi

El género *Salmonella* fue descubierto en 1885 por el patólogo y epidemiólogo Theobald Smith, quien le otorgó el nombre en referencia a

su jefe David Salmon y corresponde a bacterias que infectan a reptiles y a vertebrados [26]. El género se divide en dos especies: *S. enterica* y *S. bongori*. Con base en los primeros datos de hibridaciones DNA:DNA y de MLEE (cuadro 2), la especie *S. enterica* se ha subdividido en siete subespecies [44-46]. La subespecie I (*S. enterica enterica*) es la causante de 99% de las infecciones en humanos e incluye a la mayoría de los serotipos descritos [26]. Históricamente, el primer esquema para la clasificación de *Salmonella* fue la serotipificación desarrollado por Kauffmann-White [47]; se basa en la detección de los diferentes antígenos presentes en la superficie de la membrana externa (cuadro 2). Se han identificado más de 2 500 serotipos de *Salmonella* [46]. La serotipificación continúa aplicándose en los laboratorios de vigilancia epidemiológica y se utiliza para la clasificación inicial de *Salmonella*.

Para los programas de vigilancia epidemiológica es necesario genotipificar los aislados. El análisis de los fragmentos de restricción resueltos por PFGE (cuadro 2) se ha convertido en la técnica estándar para establecer relaciones epidemiológicas entre los aislamientos y el seguimiento de los brotes. La genotipificación de *Salmonella* por PFGE es actualmente una de las mejor estandarizadas dentro del programa de genotipificación de enteropatógenos desarrollado por el CDC (Centers for Disease Control and Prevention, por sus siglas en inglés) de Atlanta, EUA, y su objetivo principal es identificar con rapidez los aislamientos involucrados en un brote [48]. Esto es posible gracias a su alta clonalidad, ya que en un brote todos los aislamientos tienen el mismo arreglo genético y no se observan diferencias en los patrones de bandeo generados por PFGE [49]. Sin embargo, esta técnica no permite establecer relaciones filogenéticas entre serotipos y para algunos serotipos no tiene suficiente resolución. La aparición de los primeros genomas secuenciados de *Salmonella* Typhimurium y Typhi [50, 51] y la secuenciación posterior de los genomas completos de algunos otros serotipos ha permitido diseñar e implementar esquemas de MLST (cuadro 2). El análisis de los resultados generados por este esquema permitió la agrupación de 4 257 aislados de 554 serovariedades en 1 092 ST. Estos ST fueron agrupados por el eBurst en 138 clusters genéticamente relacionados, llamados eBurstGroups (eBGs) que correlacionan muy bien con los serotipos de *Salmonella*. Por ejemplo, los aislados clasificados como Typhimurium fueron agrupados en el eBG1, mientras que los de Enteritidis se agruparon en el eBG4, por lo que se propuso el reemplazo de la técnica de serotipificación por el MLST, ya que permite en una correcta, rápida, económica y universal, clasificar los aislamientos de *Salmonella* [53].

El caso de *Salmonella* Typhi ejemplifica el conocimiento progresivo que se ha obtenido con el desarrollo de las diferentes técnicas moleculares de genotipificación. Typhi se caracteriza por ser un serotipo restringido a seres humanos, pues no se ha aislado de ningún otro hospedero y por causar infecciones sistémicas y crónicas. Desde los primeros estudios basados en MLEE (cuadro 2) se reconoció que Typhi es un serotipo poco variable y, por lo tanto, monomórfico y muy diferenciado de los demás serotipos con amplios rangos de hospederos [54]. Se acepta que su linaje filogenético es antiguo pero su adaptación a humanos es reciente, por lo que no ha trascendido suficiente tiempo para generar gran variación genética [54]. La secuenciación del genoma completo de la cepa Typhi CT18 [50] mostró que varios procesos evolutivos están implicados en la adaptación al nicho especializado de los humanos, incluyendo la adquisición de varias islas de patogenicidad y la extensa pérdida de funciones genéticas (pseudogenes). En el 2002 se generó el primer esquema de MLST para estudiar una colección de Typhi. Kidgell y colaboradores encontraron muy poca variación, por lo que confirmaron que Typhi es una clona reciente y calculan que su ancestro común existió aproximadamente hace 50 000 años [55], lo cual coincide con la época de cazadores-recolectores de las sociedades humanas y antes del desarrollo de la agricultura y la domesticación de los animales. El análisis de los aislamientos ingresados como Typhi a la base de datos del MLST mostró que este serovar se agrupa de manera sólida y exclusiva con el eBG13, con lo que se confirma su clonalidad y muestra que los resultados obtenidos son congruentes [53]. Con la disminución en los costos de secuenciación y el advenimiento de las nuevas tecnologías de secuenciación masiva se ha podido generar una visión más amplia de la historia evolutiva de Typhi. Roumagnac y colaboradores estudiaron la variabilidad genética de 199 SNPs (cuadro 2) para una colección mundial de 105 aislados [56]; aunque sólo detectaron 82 sitios con variación (polimórficos), pudieron generar un árbol filogenético para investigar la distribución de caracteres de interés, como la resistencia a fluoroquinolonas [56]. Recientemente, Holt y colaboradores presentaron la comparación de las secuencias del genoma completo para 19 cepas de Typhi [57], escogidas con base en el árbol filogenético generado en el estudio mencionado con anterioridad. Este análisis muestra que la evolución de las poblaciones de Typhi se caracteriza por la pérdida de funciones genéticas (deleciones y pseudogenes) y por la importancia de los portadores asintomáticos como reservorios principales, resaltando la necesidad de identificar

y de tratar a los portadores [57]. Aunque la generación de secuencias todavía es difícil de aplicar en la práctica clínica, se espera que en esta década el análisis de los genomas completos de una gran cantidad de cepas de *Salmonella* provea información relevante para los estudios epidemiológicos y evolutivos. Por ahora (febrero de 2015, para *Salmonella* hay disponibles en las bases de datos públicas 115 genomas ensamblados por completo y 944 genomas en proceso [58].

Conforme las metodologías moleculares continúen avanzando y se sigan descubriendo elementos nuevos en las poblaciones bacterianas, la tipificación de patógenos será cada vez más rápida y acertada. La producción en masa de estas nuevas tecnologías pondrá métodos estandarizados a disposición de los laboratoristas y médicos, que se utilizarán en la identificación de microorganismos patógenos junto con sus perfiles de resistencia para poder tomar decisiones rápidas en cuanto al tratamiento, sin tener que esperar una semana o dos para un resultado de laboratorio como actualmente sucede. Esto mejorará las relaciones paciente/costo/tratamiento.

CONCLUSIONES GENERALES

El mosaicismo y la modularidad de los genomas bacterianos han permitido que estos organismos evolucionen y se adapten a las condiciones ambientales cambiantes (bióticas y abióticas). La TLG ha sido uno de los procesos más importantes en la generación de variabilidad genética, lo cual ha permitido a las bacterias colonizar nuevos nichos y contender con los retos de un ambiente cambiante a lo largo de sus historias de vida. Es evidente que la mejor comprensión de estos eventos moleculares permitirá visualizar la constante aparición de nuevas cepas bacterianas de interés clínico, con nuevas propiedades patogénicas o de resistencia a antimicrobianos. Las bases conceptuales modernas para tipificar bacterias se fundamentan en las estructuras moleculares, especialmente el DNA. La evolución hacia técnicas más sofisticadas de tipificación, cada vez más rápidas y precisas, es una constante en la microbiología clínica actual. De esta manera, la medicina moderna requiere de médicos versados en una visión molecular, no sólo para comprender sino para diseñar nuevos sistemas de diagnóstico. Más aún, al imaginarse cómo las bacterias y otros microorganismos perciben y se adaptan a su entorno da más elementos para entender la enfermedad. Finalmente, las referencias 2, 5, 20, 53, 59 y 60 le darán al lector mayor información relevante sobre genética bacteriana.

GLOSARIO

- Brote:** es el incremento en la incidencia de una enfermedad infecciosa, en un lugar específico durante un periodo corto.
- Características fenotípicas:** son las propiedades observables de un organismo, como puede ser el color, la forma y la consistencia de una colonia bacteriana en un medio de cultivo.
- Cromosoma:** el cromosoma bacteriano es una hebra de doble cadena en forma generalmente circular que contiene la información genética necesaria para el funcionamiento celular. Las distintas características biológicas de una especie se deben a las diferencias en sus nucleótidos. Los nucleótidos están constituidos por una de cuatro bases nitrogenadas diferentes: adenina, citocina, guanina y timina (A, C, G y T). Por ello, el tamaño de un cromosoma se mide en nucleótidos o en pares de bases, refiriéndose a bases que se aparean de una cadena a otra.
- Electroforesis:** es una técnica para la separación de moléculas con base en su tamaño y su carga eléctrica. Generalmente se utiliza un compuesto gelatinoso (agarosa o poliacrilamida) el cual está conformado por una matriz porosa, por donde atraviesan las moléculas arrastradas por un campo eléctrico.
- Enzimas de restricción:** proteínas que se utilizan para cortar la molécula de DNA en secuencias específicas.
- Eucariote:** células con núcleo, es decir que tienen su material genético (DNA) rodeado por una membrana.
- Factor de virulencia:** es producido por un patógeno y requerido para causar enfermedad.
- Fago:** un virus que infecta bacterias. Puede lisarla o integrarse al genoma. Pueden funcionar como vehículos para la transferencia de información genética; o pueden modificar a su hospedero al insertarse en su genoma (profagos) y portar genes que codifican para nuevas funciones o que cambian funciones existentes.
- Filogenia:** determinación de la historia evolutiva de los organismos y sus relaciones.
- Fosforilación:** adición de un grupo fosfato inorgánico a una molécula, que puede ser DNA, RNA o proteína. Este proceso es sitio específico.
- Gen:** segmento mínimo de DNA que lleva la información sobre una propiedad bioquímica o fisiológica específica.
- Gen de virulencia:** gen que codifica para una proteína o un factor que es necesario para causar enfermedad en el hospedero.

Genética microbiana: estudio de un gen o grupo de genes bacterianos.

Genoma: el conjunto completo de información genética de un organismo. En bacterias incluye cromosomas y plásmidos.

Hibridación: proceso de unir dos cadenas complementarias de DNA.

Integrón: sistemas de captura y expresión de casetes de genes por un mecanismo de recombinación sitio-específica. Los casetes de genes se localizan corriente abajo de un gen para una recombinasa y un promotor fuerte. Están frecuentemente asociados a transposones y plásmidos conjugativos que los diseminan.

Islas de patogenicidad: grandes segmentos del cromosoma adquirido por TLG que codifican para productos que contribuyen a la virulencia. Están presentes en cepas patógenas pero son menos frecuentes en bacterias no-patógenas relacionadas. Codifican para productos (proteínas o RNA) que contribuyen a la virulencia. Tienen un contenido de G + C diferente del resto del cromosoma; están frecuentemente asociadas a genes de tRNA y suelen estar flanqueadas por secuencias repetidas.

Microarreglos: una colección de fragmentos de DNA fijados en hileras sobre una superficie sólida. Se usan para identificar la presencia o la ausencia de genes entre una cepa de referencia y otra cepa problema. También se pueden utilizar para analizar la expresión diferencial de genes, monitoreando los niveles de transcripción de miles de ellos de forma simultánea.

Mutación: cambio en la secuencia de nucleótidos de un gen, que puede o no representar cambios en la proteína que codifica.

Osmolaridad: la concentración total de sustancia en disolución. En microbiología se refiere a la concentración de iones dentro o fuera de la célula.

Patogénesis: descripción del origen y de la evolución de una enfermedad con todos los factores involucrados en ella.

Patógeno: un organismo que causa enfermedad en otro.

Plásmidos: DNA de forma circular que generalmente se replica de manera independiente al cromosoma. Algunos pueden autotransferirse por conjugación, otros pueden ser movilizables por otro plásmido autotransferible o pueden ser no conjugativos.

Porinas: son proteínas de la membrana externa que permiten la difusión pasiva de moléculas, tanto al interior como al exterior de la célula. Estas moléculas pueden ser iones, antibióticos, sustancias tóxicas, entre otras.

- Procarionte:** células sin núcleo, es decir que su DNA no se encuentra rodeado por membranas.
- Recombinación:** proceso por el cual una hebra de material genético es rota y luego unida a una molécula de material genético diferente.
- Recombinación no homóloga:** proceso por el cual se introduce un fragmento de DNA en sitios que no son homólogos entre sí.
- RNA:** ácido ribonucleico que consta de una hebra de cadena sencilla. Se dividen en tres tipos principales: RNA ribosomal (rRNA), RNA de transferencia (tRNA) y RNA mensajero (mRNA).
- Replicación del DNA:** generación de una nueva copia exacta del DNA.
- Ribotipificación:** muchas bacterias tienen más de una copia de rRNA por lo que en la hibridación se observa más de una banda, dando diferencias entre especies.
- Simbiosis:** este término significa literalmente “vivir juntos”. Las relaciones simbióticas en la naturaleza pueden clasificarse entre las de mutualismo, comensalismo y parasitismo. En el mutualismo ambas especies se benefician, en el comensalismo la relación es beneficiosa para una de ellas e indiferente para la otra, y en el parasitismo la relación es positiva para una aunque perjudicial para la otra.
- Sistema de secreción tipo III:** sistema para exportar proteínas al ambiente externo. Se requiere para la biosíntesis de flagelo. También participa en la traslocación de proteínas efectoras, de las bacterias al citoplasma de la célula eucarionte, en donde se redirigen las funciones celulares a favor de las bacterias.
- Sonda:** fragmento de DNA o RNA usado para detectar la presencia de fragmentos complementarios u homólogos.
- Transferencia lateral de genes (TLG):** también conocida como transferencia horizontal. Cualquier proceso por el que un organismo transfiere material genético a otra célula que no sea su descendiente. Es diferente de la transferencia vertical, que se refiere al paso de material genético de ancestro a descendiente.
- Transposones:** son fragmentos de DNA que “saltan” de un lugar a otro. Generalmente codifican para una transposasa, que cataliza la transposición, y pueden contener determinantes de resistencia a antibióticos u otras propiedades. Están flanqueados por secuencias de DNA invertidas repetidas y pueden moverse dentro o entre replicones.
- Virus:** entidad infecciosa microscópica que sólo puede replicarse utilizando la maquinaria de las células vivas.

BIBLIOGRAFÍA

1. NORMAN, A. *et al.* 2009. "Conjugative Plasmids: Vessels of the Communal Gene Pool", *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 364: 2275-2289.
2. FROST, L. S. *et al.* 2005. "Mobile Genetic Elements: the Agents of Open Source Evolution", *Nat. Rev. Microbiol.* 3: 722-732.
3. GOGARTEN, J. P. *et al.* 2002. "Prokaryotic Evolution in Light of Gene Transfer", *Mol. Biol. Evol.* 19: 2226-2238.
4. SPRATT, B. G. y M. C. Maiden. 1999. "Bacterial Population Genetics, Evolution and Epidemiology", *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 354: 701-710.
5. SNYDER, L. y W. Champness. 1997. *Molecular Genetics of Bacteria*. ASM Press, Washington, D. C., 504 p.
6. COHAN, F. M. 1994. "Genetic Exchange and Evolutionary Divergence in Prokaryotes", *Trends. Ecol. Evol.* 9: 175-180.
7. COHAN, F. M. 1996. "The Role of Genetic Exchange in Bacterial Evolution", *ASM News.* 62: 631-636.
8. MAYNARD-SMITH, J. 1995. "Do Bacteria Have Population Genetics?", S. Baumberg *et al.* (eds.), *Population Genetics of Bacteria*. Cambridge University Press, pp. 1-12.
9. MAYNARD-SMITH, J. *et al.* 1993. "How Clonal are Bacteria?", *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 90: 4384-4388.
10. FEIL, E. J. 2004. "Small Change: Keeping Pace with Microevolution", *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 483-495.
11. FEIL, E. J. y B. G. Spratt. 2001. "Recombination and the Population Structures of Bacterial Pathogens", *Annu. Rev. Microbiol.* 55: 561-590.
12. LAWRENCE, J. G. 1999. "Gene Transfer, Speciation, and the Evolution of Bacterial Genomes", *Curr. Opin. Microbiol.* 2: 519-523.
13. OCHMAN, H. *et al.* 2000. "Lateral Gene Transfer and the Nature of Bacterial Innovation", *Nature.* 405: 299-304.
14. WELCH, R. A. *et al.* 2002. "Extensive Mosaic Structure Revealed by the Complete Genome Sequence of Uropathogenic *Escherichia coli*", *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 99: 17020-17024.
15. GROISMAN, E. A. y H. Ochman. 1997. "How *Salmonella* Became a Pathogen", *Trends Microbiol.* 5: 343-349.
16. GROISMAN, E. A. y H. Ochman. 1996. "Pathogenicity Islands: Bacterial Evolution in Quantum Leaps", *Cell.* 87: 791-794.
17. LEVIN, B. R. y C. T. Bergstrom. 2000. "Bacteria are Different: Observations, Interpretations, Speculations, and Opinions about the Mechanisms of Adaptive Evolution in Prokaryotes", *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 97: 6981-6985.

18. LAWRENCE, J. G. y J. R. Roth. 1996. "Selfish Operons: Horizontal Transfer May Drive the Evolution of Gene Clusters", *Genetics*. 143: 1843-1860.
19. BOYD, E. F. y H. Brussow. 2002. "Common Themes among Bacteriophage-encoded Virulence Factors and Diversity among the Bacteriophages Involved", *Trends Microbiol.* 10: 521-529.
20. PALLEN, M. J. y B. W. Wren. 2007. "Bacterial Pathogenomics", *Nature*. 449: 835-842.
21. PORWOLLIK, S. y M. McClelland. 2003. "Lateral Gene Transfer in *Salmonella*", *Microbes Infect.* 5: 977-989.
22. FLUIT, A. C. 2005. "Towards more Virulent and Antibiotic-Resistant *Salmonella*?", *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 43: 1-11.
23. VERNIKOS, G. S. *et al.* 2007. "Genetic Flux over Time in the *Salmonella* Lineage". *Genome. Biol.* 8: R100.
24. BAUMLER, A. J. *et al.* 1998. "Evolution of Host Adaptation in *Salmonella enterica*", *Infect. Immun.* 66: 4579-4587.
25. OCHMAN, H. y A. C. Wilson. 1987. "Evolution in Bacteria: Evidence for a Universal Substitution Rate in Cellular Genomes", *J. Mol. Evol.* 26: 74-86.
26. SELANDER, R. K. *et al.* 1996. "Evolutionary Genetics of *Salmonella enterica*", F. C. Neidhardt *et al.* (eds.). *Escherichia coli and Salmonella: Cellular and Molecular Biology*. American Society of Microbiology, Washington, D. C., pp. 2691-2707.
27. LINDSAY, J. A. 2010. "Genomic Variation and Evolution of *Staphylococcus aureus*", *Int. J. Med. Microbiol.* 300: 98-103.
28. MALACHOWA, N. y F. R. DeLeo. 2010. "Mobile Genetic Elements of *Staphylococcus aureus*", *Cell. Mol. Life. Sci.* 67: 3057-3071.
29. NOVICK, R. P. *et al.* 2010. "The Phage-Related Chromosomal Islands of Gram-Positive Bacteria", *Nat. Rev. Microbiol.* 8: 541-551.
30. WILES, S. *et al.* 2006. "Modelling Infectious Disease-Time to Think outside the Box?", *Nat. Rev. Microbiol.* 4: 307-312.
31. PRADEL, E. y J. J. Ewbank. 2004. "Genetic Models in Pathogenesis", *Annu. Rev. Genet.* 38: 347-363.
32. FALKOW, S. 2004. "Molecular Koch's Postulates Applied to Bacterial Pathogenicity –a Personal Recollection 15 Years Later", *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 67-72.
33. SHEVACH, E. M. 2003. "Animal Models for Infectious Diseases". *Curr. Protoc. Immunol.* 55: 19.0.1-19.0.4.
34. CALVA, E. y R. Oropeza. 2006. "Two-Component Signal Transduction Systems, Environmental Signals, and Virulence", *Microb. Ecol.* 51: 166-176.
35. ELLERMEIER, J. R. y J. M. Slauch. 2007. "Adaptation to the Host Environment: Regulation of the SPI1 Type III Secretion System in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium", *Curr. Opin. Microbiol.* 10: 24-29.

36. FASS, E. y E. A. Groisman. 2009. "Control of Salmonella Pathogenicity Island-2 Gene Expression", *Curr. Opin. Microbiol.* 12: 199-204.
37. VAN BELKUM, A. *et al.* 2001. "Role of Genomic Typing in Taxonomy, Evolutionary Genetics, and Microbial Epidemiology", *Clin. Microbiol. Rev.* 14: 547-560.
38. URWIN, R. y M. C. Maiden. 2003. "Multi-locus Sequence Typing: a Tool for Global Epidemiology", *Trends. Microbiol.* 11: 479-487.
39. GOERING, R. V. 2010. "Pulsed Field Gel Electrophoresis: a Review of Application and Interpretation in the Molecular Epidemiology of Infectious Disease", *Infect. Genet. Evol.* 10: 866-875.
40. PONTES, D. S. *et al.* 2007. "Molecular Approaches: Advantages and Artifacts in Assessing Bacterial Diversity", *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 34: 463-473.
41. MAIDEN, M. C. *et al.* 1998. "Multilocus Sequence Typing: a Portable Approach to the Identification of Clones within Populations of Pathogenic Microorganisms", *Proc. Natl. Acad. Sci. EUA*, 95: 3140-3145.
42. OLIVEIRA, D. C. *et al.* 2002. "Secrets of Success of a Human Pathogen: Molecular Evolution of Pandemic Clones of Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*", *Lancet. Infect. Dis.* 2: 180-189.
43. FEIL, E. J. *et al.* 2004. "eBURST: Inferring Patterns of Evolutionary Descent Among Clusters of Related Bacterial Genotypes from Multilocus Sequence Typing Data" *J. Bacteriol.* 186: 1518-1530.
44. BOYD, E. F. *et al.* 1996. "Molecular Genetic Relationships of the Salmonellae", *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 804-808.
45. CROSA, J. H. *et al.* 1973. "Molecular Relationships Among the Salmonellae", *J. Bacteriol.* 115: 307-315.
46. SILVA, C. y M. Wiesner. 2009. "An Introduction to Systematics, Natural History and Population Genetics of *Salmonella*", J. J. Calva (ed.), *Molecular Biology and Molecular Epidemiology of Salmonella Infections*. Research Signpost, India, pp. 1-17.
47. KAUFFMANN, F. 1966. *The Bacteriology of Enterobacteriaceae*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
48. CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 1996, updated 2000. Standardized Molecular Subtyping of Foodborne Bacterial Pathogens by Pulsed-field Gel Electrophoresis: a Manual. National Center for Infectious Diseases, Atlanta, G. A.
49. TENOVER, F. C. *et al.* 1995. "Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-field Gel Electrophoresis: Criteria for Bacterial Strain Typing", *J. Clin. Microbiol.* 33: 2233-2239.
50. PARKHILL, J. *et al.* 2001. "Complete Genome Sequence of a Multiple Drug Resistant *Salmonella enterica* serovar Typhi CT18", *Nature*. 413: 848-852.

51. MCCLELLAND, M. *et al.* 2001. "Complete Genome Sequence of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium LT2", *Nature*. 413: 852-856.
52. *Salmonella* MLST database.
53. ACHTMAN, M. *et al.* 2012. Multilocus Sequence Typing as a Replacement for Serotyping in *Salmonella enterica*. *PLoS Pathogens* 8(6): e1002776.
54. SELANDER, R. K. *et al.* 1990. "Evolutionary Genetic Relationships of Clones of *Salmonella* serovars that Cause Human Typhoid and Other Enteric Fevers", *Infect. Immun.* 58: 2262-2275.
55. KIDGELL, C. *et al.* 2002. "*Salmonella* Typhi, the Causative Agent of Typhoid Fever, is Approximately 50,000 years old", *Infect. Genet. Evol.* 2: 39-45.
56. ROUMAGNAC, P. *et al.* 2006. "Evolutionary History of *Salmonella* Typhi" *Science*. 314: 1301-1304.
57. HOLT, K. E. *et al.* 2008. "High-Throughput Sequencing Provides Insights into Genome Variation and Evolution in *Salmonella* Typhi", *Nat. Genet.* 40: 987-993.
58. NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (NCBI).
59. DEURENBERG, R. H. y E. E. Stobberingh. 2008. "The Evolution of *Staphylococcus aureus*", *Infect. Genet. Evol.* 8: 747-763.
60. PORWOLLIK, S. y M. McClelland. 2003. "Lateral Gene Transfer in *Salmonella*", *Microbes Infect.* 5: 977-989.

MICROBIOTA RESIDENTE Y OPORTUNISTA

*Mussaret B. Zaidi**

INTRODUCCIÓN

La piel y las mucosas contienen al menos 10^{14} microorganismos, una cantidad 10 a 100 veces mayor que el número de células presentes en el cuerpo humano. Estos microorganismos que se encuentran en todo sujeto sano y normal constituyen la microbiota residente, también denominada flora normal o flora comensal. La microbiota residente está compuesta, en su mayoría, por bacterias, aunque igualmente pueden encontrarse algunos tipos de virus, hongos y protozoarios. Se hallan siempre en los sitios del cuerpo que comunican con el ambiente exterior como piel, nariz, boca, ojo y oído, así como las membranas mucosas del tracto intestinal y el tracto urogenital. Los órganos y los tejidos internos sin comunicación al exterior son normalmente estériles. Los principales microorganismos que se encuentran en los diferentes lugares del cuerpo se muestran en la figura 1.

El tipo y el número de microorganismos varían según los diferentes sitios anatómicos, las condiciones locales y las ambientales. Algunas de las características determinantes incluyen la edad del hospedero, la disponibilidad de nutrientes necesarios para el crecimiento, las condiciones de humedad, el pH, los potenciales de óxido-reducción y la resistencia a sustancias antibacterianas locales como la bilis, la lisozima y los ácidos grasos de cadena corta. Uno de los factores principales que determina la presencia de los microorganismos es su capacidad de adherirse a las células epiteliales. Los factores de adherencia le permiten a las bacterias

* Laboratorio de Investigación en Microbiología, Hospital General O'Horán y Unidad de Investigación en Enfermedades Infecciosas, Hospital Regional de Alta Especialidad de la Península de Yucatán, Mérida. mbzaidi@prodigy.net.mx.

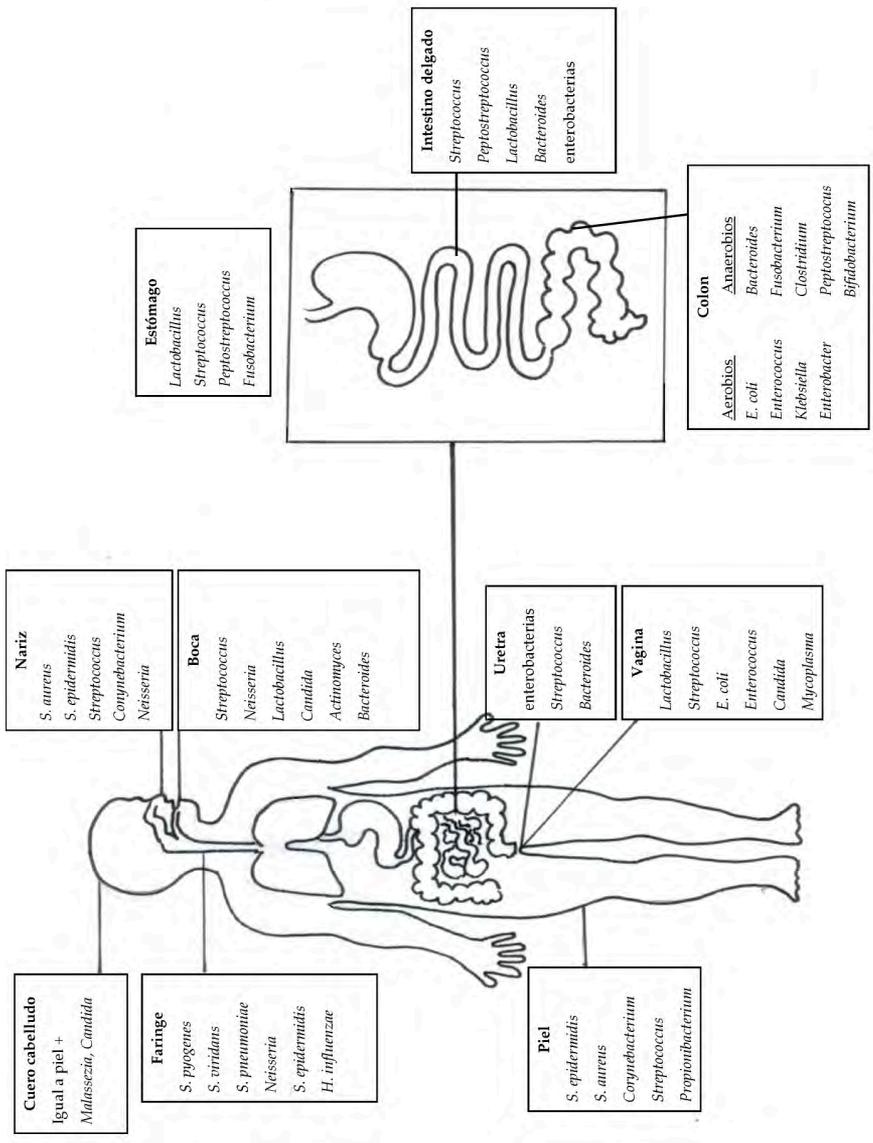


FIGURA 1. Ejemplos de microorganismos que forman parte de la flora residente humana de acuerdo con su localización.

unirse a receptores específicos en la superficie de las células mediante pili o fimbrias y multiplicarse sin ser afectados por la peristalsis o la presencia de secreciones.

Las comunidades microbianas de los humanos han evolucionado junto con sus hospederos por miles o millones de años. La relación entre la microbiota residente y el hospedero puede ser de mutualismo, comensalismo o parasitismo. En el mutualismo, dos especies diferentes coexisten en un mismo nicho ecológico; ambas se benefician una de la otra y son imprescindibles para su supervivencia. El comensalismo es el nexo entre dos especies en el cual una obtiene un beneficio sin causar beneficio o perjuicio alguno al otro. El parasitismo es la interacción biológica en la cual un organismo vive a expensas de otro. Un ejemplo de mutualismo son los organismos del colon que sintetizan vitamina K, la cual es absorbida y utilizada por el hospedero. A su vez, el hospedero le brinda nutrientes, un

CUADRO 1. Contribuciones de la microbiota residente a la salud humana

<i>Función</i>	<i>Sitio</i>	<i>Organismos (ejemplos)</i>
Síntesis de vitamina K	Colon	<i>Escherichia coli</i> , <i>Bacillus subtilis</i>
Síntesis de vitaminas del complejo B	Colon	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Clostridium spp.</i> , <i>Lactobacillus spp.</i>
Absorción de nutrientes, maduración de células epiteliales	Colon	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>
Metabolismo de esteroides y sales biliares	Asa entero-hepática	<i>Bacteroides</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Lactobacillus</i>
Inducción de inmunidad innata, maduración de IgA secretora	Intestino	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Bacteroides fragilis</i>
Almacenamiento de grasa, obesidad	Intestino	<i>Familia Firmicutes?</i>
Estimulación de angiogénesis intestinal	Intestino	<i>Bacteroides</i>
Regulación de inflamación de células epiteliales	Intestino	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacterium</i>
Resistencia a colonización por bacterias patógenas	Todos los sitios	<i>Bifidobacterium</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Producción de ácidos grasos	Piel	<i>Propionibacterium acnes</i>
Producción de ambiente ácido	Vagina	<i>Lactobacillus</i>

ambiente protegido con temperatura y pH estable para su crecimiento. En el comensalismo, el microorganismo vive en alguna superficie del cuerpo humano sin producir daño o beneficio, aprovechando un sitio protegido con condiciones ambientales favorables y una fuente rica de nutrientes. El parasitismo se presenta con los organismos que son capaces de producir enfermedad, los cuales se describen con mayor detalle más adelante.

Las investigaciones recientes demuestran que la relación entre la microbiota residente y el hospedero es mucho más compleja de lo que se consideraba anteriormente y que la primera contribuye de forma significativa a la salud de su hospedero de manera muy diversa. En el cuadro 1 se enlistan algunas de las funciones más importantes. A lo largo de este ensayo se profundizará en los descubrimientos más sobresalientes sobre las funciones de la microbiota residente.

MICROBIOTA RESIDENTE POR SITIO

Piel

El ser humano se coloniza en las primeras 12 a 24 horas de vida, adquiriendo su flora mediante el contacto directo con su ambiente. Las áreas expuestas y más secas de la piel (dorso de antebrazos, cara) tienen menos organismos residentes que las zonas húmedas como axilas, periné y zonas intertriginosas. De éstas, la axila es la zona de mayor densidad bacteriana. En promedio, la densidad bacteriana de la piel es de 10^3 a 10^4 organismos/cm²; en las zonas más húmedas de la piel, la densidad bacteriana puede alcanzar hasta 10^6 /cm². El lavado mecánico con jabón reduce esta población en un 90%, pero se restablecen los números normales al cabo de unas ocho horas.

Los géneros bacterianos más comunes son *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y *Propionibacterium*, los cuales varían según el sitio anatómico. Entre los factores que influyen en su presencia y número están el pH, la temperatura, la humedad y el contenido de sebo. El pH de la piel es de 5.6, el cual es demasiado ácido para muchos microorganismos. *Staphylococcus epidermidis* constituye un miembro importante de la microbiota residente de la piel. Otras especies de estafilococo, como *S. capitis* y *S. auricularis*, son más abundantes en el cuero cabelludo y en el conducto auditivo externo, respectivamente, mientras que *S. hominis* y *S. haemolyticus* son más frecuentes en sitios con glándulas apócrinas como las axilas y el área púbica. *S. aureus* coloniza las narinas en 30% de los sujetos sanos y, con menor

frecuencia, el periné, las axilas y las zonas intertriginosas. Otras especies comunes son *Micrococcus* y especies no patógenas de *Corynebacterium*. Los estreptococos hemolíticos, micobacterias atípicas, bacilos gram-negativos y especies de *Bacillus* se encuentran en números más bajos. Debajo de la piel, en los folículos pilosos y las glándulas sebáceas y sudoríparas se encuentran especies anaerobias como *Propionibacterium acnes*, el cual causa acné durante la pubertad. En el cuero cabelludo y en las uñas se pueden encontrar algunas especies de hongos como *Malassezia* y *Candida*. La *Malassezia* constituye de 50% a 80% de los hongos de la piel ubicándose el mayor número detrás del pabellón auricular.

Ojo

El número de microorganismos que colonizan el ojo se limita en gran medida por la acción mecánica de las lágrimas y la presencia de lisozima, una enzima con efecto bactericida que está normalmente presente en lágrimas y saliva. Las especies bacterianas predominantes en el ojo son muy parecidas a las de la piel; entre ellas se encuentran estafilococos coagulasa-negativos, especies de *Corynebacterium*, estreptococos del grupo viridans y especies comensales de *Neisseria*.

Oído

La flora comensal del conducto auditivo externo es similar a la de la piel. Predominan los estafilococos coagulasa-negativos y las especies de *Corynebacterium*. En menor proporción se pueden encontrar *Bacillus*, *Micrococcus*, y especies comensales de *Neisseria* y *Mycobacterium*. Las especies de hongos como *Aspergillus* y *Candida* también pueden formar parte de la flora normal.

Tracto respiratorio

Nariz

En condiciones normales, los vellos dentro de la nariz actúan como un filtro contra los microorganismos inspirados en el aire; el moco coadyuva a esta función mediante el atrapamiento y la expulsión de los microorganismos. Las narinas tienen membranas mucosas húmedas que pueden ser colonizadas con estreptococos, estafilococos, *Corynebacterium* y cocos gram-negativos. Hasta 30% de los adultos normales pueden estar colonizados en forma asintomática con *Staphylococcus aureus*. En ocasio-

nes, estos microorganismos colonizantes se transmiten a personas más vulnerables causando infecciones severas. En el medio hospitalario, por ejemplo, el personal de salud, portador de *S. aureus*, puede ser reservorio de importantes brotes intrahospitalarios.

Nasofaringe

La nasofaringe se coloniza en las primeras horas de vida con los microorganismos de aquellos individuos que tienen contacto estrecho con el recién nacido. Posteriormente en la infancia se puede colonizar con bacterias potencialmente patógenas como *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*, un fenómeno frecuente en guarderías. En condiciones normales, existen pocos microorganismos debajo de la laringe por los movimientos protectores de la epiglotis y los cilios. Los senos paranasales y las trompas de Eustaquio, que comunican con la cavidad nasal, se mantienen estériles.

Tracto gastrointestinal

Boca

Más de 700 especies bacterianas se han detectado en la cavidad oral. Aunque la microflora residente de la boca se establece desde las primeras horas de nacido, ésta cambia a lo largo de la vida según varios factores entre los cuales destacan la dieta, la erupción dentaria, los cambios hormonales y los hábitos higiénicos. En los primeros meses de vida, la microbiota de la mucosa oral incluye los estreptococos y, en menor número, especies de *Neisseria*, *Lactobacillus*, *Veillonella*, y *Candida*. Las especies de estreptococo más frecuentemente encontradas son del grupo viridans como *S. salivarius*, *S. mutans*, *S. sanguis* y *S. mitis*. Conforme avanza la edad, se incrementa la densidad bacteriana, alcanzando hasta 10^{13} organismos/g de tejido. A partir de la edad preescolar crece la proporción de especies anaeróbicas como *Actinomyces*, *Bacteroides*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Gemella* y *Granulicatella*. La proporción de *S. mutans*, principal agente responsable de la caries dental, también aumenta con la edad. Este microorganismo produce ácido a partir de la fermentación de carbohidratos, lo cual daña el esmalte dental. Estudios recientes indican que la flora bacteriana de una cavidad oral sana es distinta a la que existe en presencia de una infección oral. Por ejemplo, las especies presentes en la caries dental como *S. mutans*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* y *Atopobium spp.*

no se encuentran en una cavidad oral sana. Tampoco se hallan especies como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* o *Treponema denticola*, que, por lo general, se asocian con la enfermedad periodontal. En el adulto normal, pueden llegar a coexistir más de 200 especies bacterianas en la boca, con una proporción de anaerobios a aerobios de 100:1.

Estómago

El esófago y el estómago están en constante contacto con los microorganismos, ya sean aquellos que están presentes en el bolo alimenticio o por la deglución de los microorganismos que constituyen la flora normal de boca y de nariz. El esófago funciona básicamente como un conducto para transportar el alimento de la boca al estómago, en donde casi todos los microorganismos se destruyen por el ácido gástrico que tiene un pH entre 1.8 y 2.5. Los únicos organismos que pueden sobrevivir a estas condiciones extremas son resistentes al ácido, como *Lactobacillus*, *Helicobacter*, estreptococos y estafilococos, así como algunos hongos y especies anaerobias como peptoestreptococos, y *Fusobacterium*. A diferencia de las partes más bajas del intestino, en el estómago predominan bacterias gram-positivas y no hay enterobacterias o bacterias anaerobias como *Bacteroides* y *Clostridium*.

Intestino

Conforme se desciende en el tracto gastrointestinal, no sólo incrementa el número de enterobacterias y anaerobios, sino que aumenta en forma significativa la densidad bacteriana. En el colon, el número de organismos llega a 10^{12} /g. Al igual que en la boca, la flora intestinal varía con la edad y depende en gran medida de la dieta del hospedero. Varios estudios han demostrado que los lactantes alimentados con fórmula láctea (preparado a partir de la leche de vaca) tienen concentraciones mucho mayores de flora anaeróbica como *Bacteroides*, comparado con aquellos alimentados al seno materno que tienen un predominio de *Bifidobacterium*. Al suspenderse la leche materna incrementa el número de bacterias como *Escherichia coli*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Peptoestreptococcus* y *Bacteroides*. También pueden estar presentes protozoarios no patógenos como *Entamoeba coli*. Más de 95% de los organismos del colon son anaerobios estrictos, y crece la proporción de anaerobios a aerobios de 1 000:1 a 10 000:1. Los principales mecanismos

de defensa del intestino incluyen la acidez gástrica, el moco, las enzimas digestivas, la peristalsis y el propio epitelio intestinal. Por muchos años se consideró que la principal función del epitelio intestinal era fungir como barrera física. Los descubrimientos recientes demuestran funciones mucho más complejas, entre ellas, que el epitelio juega un papel activo en la respuesta inmune de la mucosa al establecer una comunicación directa con los microorganismos y las células inmunes en los elementos linfoides de la lámina propia. Además, los diferentes mecanismos de defensa responden en forma sinérgica e integrada a los estímulos nocivos en el ambiente intestinal.

Tracto genitourinario

Uretra

Los 2 cm distales de la uretra del hombre y la mujer están colonizados con enterobacterias (con predominio de *E. coli*) estreptococos, estafilococos, *Corynebacterium* no-patógena y *Bacteroides*. En ocasiones, se pueden aislar especies potencialmente patógenas como *Mycoplasma*, *Ureaplasma* y *Candida* de sujetos sanos y asintomáticos. La orina tiene un efecto mecánico de arrastre que ayuda a disminuir el número de microorganismos.

Vagina

La flora de la vagina depende de cambios hormonales relacionados con la edad, y principalmente, de las concentraciones de estrógeno circulante. Antes de la pubertad, los organismos predominantes son estafilococos, estreptococos, *E. coli* y *Corynebacterium* no-patógena. Al iniciar la pubertad predominan las bacterias anaeróbicas alcanzando hasta 10^9 /ml de secreción vaginal, mientras disminuyen las bacterias presentes en la etapa prepuberal. Los lactobacilos, que son los principales microorganismos de la microbiota normal de la vagina, juegan un papel fundamental en las defensas locales al mantener un pH bajo que inhibe la proliferación de microorganismos patógenos. En ocasiones, están presentes patógenos potenciales como *Enterococcus faecalis*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma* y *Candida*. Durante el embarazo aumentan las concentraciones de lactobacilos y disminuyen las bacterias anaeróbicas. Por lo contrario, en la menopausia el descenso en los niveles hormonales coincide con la disminución en la concentración de lactobacilos, lo que conduce a un cambio en el pH que favorece el desarrollo de infecciones.

MICROBIOTA OPORTUNISTA

En condiciones normales, la microbiota residente se encuentra en un estado de equilibrio con su hospedero: ocupa un nicho ecológico específico sin causar daño alguno. Sin embargo, cuando surgen condiciones específicas que rompen este equilibrio, la microbiota residente puede causar infecciones oportunistas. Algunas de éstas pueden ser tan severas que causan la muerte del paciente. Entre los factores que pueden perturbar el equilibrio entre microbiota y hospedero se encuentran los del microorganismo, los del hospedero y los del ambiente. En lo que se refiere al microorganismo, dos propiedades importantes son la patogenicidad y la virulencia. La patogenicidad se refiere a la capacidad de un microorganismo para producir enfermedad mientras que la virulencia se refiere al grado de patogenicidad. Los microorganismos patógenos producen factores de virulencia, que son moléculas que permiten inhabilitar o eludir las defensas del hospedero y lograr los efectos necesarios para garantizar su crecimiento, reproducción y diseminación. Entre las funciones más importantes están la adherencia y la colonización, la evasión del sistema inmune, la invasión celular y la producción de toxinas. Entre las características del hospedero que favorecen el desarrollo de infecciones oportunistas se encuentran la inmunosupresión, las lesiones de piel o mucosas, el uso de antibióticos y procedimientos invasivos, y el embarazo. Algunos ejemplos de factores ambientales son la exposición a sustancias tóxicas, la contaminación ambiental y las condiciones extremas de temperatura que producen daño en las barreras naturales como piel y mucosas, o cambios que se manifiestan en las funciones de las células.

Frecuentemente, las infecciones oportunistas se desarrollan cuando se alteran las defensas mecánicas no específicas del hospedero. Las quemaduras y el traumatismo directo, por ejemplo, destruyen la continuidad de la piel permitiendo que los microorganismos residentes tengan acceso a áreas normalmente estériles. De igual modo, los procedimientos médicos invasivos como la endoscopia, la colocación de catéteres y de cánulas endotraqueales, al igual que la presencia de cuerpos extraños, dañan las mucosas epiteliales y alteran las defensas locales del hospedero, haciéndolo más vulnerable a las infecciones. Los pacientes inmunocomprometidos, ya sea por enfermedades congénitas o adquiridas, también son más vulnerables a las infecciones. A continuación se describen algunas de las enfermedades más comunes que se asocian con infecciones oportunistas y los microorganismos que se asocian con cada una de éstas.

Quemaduras

Las quemaduras dañan las barreras mecánicas de la piel y alteran la respuesta inmune. El sitio de la quemadura se coloniza rápidamente por la microbiota residente de la piel del paciente y, en ocasiones, por la flora predominante del hospital. *Pseudomonas aeruginosa* y, en menor proporción, otras bacterias gram-negativas, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes* son los patógenos oportunistas más comúnmente encontrados en las quemaduras. Otros agentes menos usuales son *Candida*, *Aspergillus* y *Enterococcus*. *P. aeruginosa*, un bacilo gram-negativo que habita en áreas ambientales húmedas, puede causar infecciones devastadoras en pacientes quemados, debido a su capacidad para producir enzimas como elastasa, proteasa y exotoxina. Estos factores de virulencia le confieren una gran capacidad de diseminación y destrucción tisular. En vista de que *Staphylococcus aureus* es una de las principales especies residentes de piel, no debe sorprender que también sea una causa frecuente de infección en pacientes quemados. *S. aureus* produce una serie de sustancias que permite destruir el tejido de granulación e invadir los tejidos, causando infecciones localizadas e infecciones sistémicas que pueden llevar al paciente a la muerte. Otros factores de virulencia producidos por *S. aureus* incluyen toxinas exfoliativas que ocasionan el síndrome de piel escaldada, y la leucocidina Pantón-Valentine que causan destrucción tisular extensa como se observa en la neumonía necrotizante y fascitis necrotizante de tejidos blandos. También puede producir factores que permiten la evasión del sistema inmune. Un ejemplo es la proteína A que tiene la capacidad de unirse a la fracción Fc de los anticuerpos, impidiendo así su fagocitosis.

Desnutrición

Por desgracia, la desnutrición proteica-calórica todavía existe en México, y se concentra en las áreas rurales. La desnutrición puede ser primaria, por ingesta insuficiente de alimentos, o secundaria a enfermedades crónicas debilitantes que resultan de un aumento en los requerimientos calóricos, una disminución en la absorción de nutrientes o un aumento en la pérdida de nutrientes. En casi todos los casos, la desnutrición se acompaña de una deficiencia de vitaminas y minerales, que, junto con la deficiencia de proteínas, tiene como consecuencia una modificación de las barreras anatómicas de defensa primaria como la piel y las mucosas, parecido a lo que ocurre en las quemaduras. Además, los sujetos desnutridos presentan alteraciones inmunológicas significativas, sobre todo

de la inmunidad celular. Hay una depleción de las células en médula ósea y atrofia severa del timo; la cuenta absoluta de linfocitos está disminuida y afecta en especial a los linfocitos T. También hay retraso en la quimiotaxis de células fagocíticas, reducción en la producción de algunas citocinas, así como disminución en la fracción C3 del complemento. Los pacientes con desnutrición severa son más susceptibles a las infecciones por una gran gama de microorganismos, siendo frecuentes las diarreas, las neumonías y las enfermedades sistémicas.

Procedimientos médicos invasivos

La colocación de catéteres de plástico, ya sea en la uretra, en la tráquea o en vasos sanguíneos, altera los mecanismos locales de defensa y permite a los microorganismos una vía de acceso a los tejidos estériles. Algunos microorganismos tienen la capacidad de adherirse al plástico y producir biopelículas, sustancias polisacáridas que rodean a los microorganismos y los protegen tanto de los antibióticos como de la respuesta inmune del hospedero. Los catéteres urinarios disminuyen las defensas locales al impedir el vaciamiento normal de la vejiga y producir una distensión de la uretra. Las infecciones comúnmente son causadas por la flora fecal o periuretral del paciente, aunque también las puede ocasionar la flora hospitalaria como los bacilos gram-negativos y *Enterococcus* spp., seguido de estafilococo coagulasa negativo. En el caso de las infecciones por catéteres intravenosos, los microorganismos provienen de la flora de la piel del propio paciente o de la piel (casi siempre de las manos) de los trabajadores de la salud. Las infecciones pueden ser locales (en el sitio de entrada del catéter o en el tejido subcutáneo) o generalizadas como bacteremia o sepsis. El estafilococo coagulasa-negativo produce alrededor de 50% de las infecciones; los bacilos gram-negativos, de 20 a 30% y *Candida*, de 5 a 10% restante. Los catéteres de diálisis peritoneal que se utilizan en pacientes con insuficiencia renal terminal se infectan con facilidad, ya sea en el sitio de entrada del catéter o con afectación a todo el peritoneo. Los agentes etiológicos más comunes son estafilococo coagulasa negativo (30-40%), *S. aureus* (10-20%), estreptococo (10-15%), *E. coli* y otras enterobacterias (10-25%), *Enterococcus* spp. (5%) y *Candida* spp. (2-10%).

Inmunodeficiencias

Se mencionó con anterioridad que uno de los principales factores condicionantes para desarrollar infecciones oportunistas es la inmunodefi-

ciencia, que puede ser primaria (de nacimiento) o secundaria (adquirida). Las inmunodeficiencias primarias incluyen defectos en los linfocitos B y T, en la producción de anticuerpos y de la fagocitosis. Las principales inmunodeficiencias secundarias incluyen la infección por virus de inmunodeficiencia humana (VIH), neoplasias, trasplante de órganos, fibrosis quística, diabetes mellitus, asplenia, terapia con inmunosupresores y radiación. Las quemaduras, la presencia de cuerpos extraños como dispositivos médicos y la desnutrición también se consideran condiciones que se asocian con inmunodeficiencia adquirida.

Neutropenia

La neutropenia es un defecto de la fagocitosis que se define como una cuenta absoluta de neutrófilos debajo de 1 000 células/mm³. Esta condición conlleva un riesgo muy aumentado para desarrollar infecciones, en especial cuando la cuenta absoluta es menor a 500 células/mm³. Las causas más comunes de neutropenia son secundarias a la supresión de la médula ósea por infección viral o la administración de medicamentos, aunque también existen variedades congénitas. Las infecciones más frecuentes en los pacientes neutropénicos son causadas por bacterias y hongos. Destacan las bacterias gram-positivas como *Staphylococcus coagulasa-negativo*, *S. aureus*, *Streptococcus viridans* y *Enterococcus* y microorganismos gram-negativos como *Escherichia coli*, *Klebsiella* y *P. aeruginosa*. En años recientes, se ha observado un incremento significativo en las infecciones causadas por microorganismos gram-negativos no fermentadores como *Stenotrophomonas maltophilia*, *Alcaligenes xylosoxidans* y *Burkholderia cepacia*. Respecto a los hongos, predominan las diferentes especies de *Candida* y *Aspergillus*. Las infecciones virales y parasitarias son menos frecuentes, siendo más características de los pacientes con inmunodeficiencias celulares. En este grupo de pacientes, destacan las infecciones por herpesvirus (cuadro 2).

Defectos de inmunidad celular

La mayoría de los microorganismos que infectan a los enfermos con este tipo de alteraciones son patógenos intracelulares que requieren una respuesta celular efectiva para su eliminación. Son comunes las infecciones diseminadas que no se observan en el individuo inmunocompetente. En la actualidad, la infección por VIH es la causa más frecuente de inmunodeficiencia adquirida y aquellos pacientes con

CUADRO 2. Etiologías más frecuentes de infecciones en el paciente inmunocomprometido

<i>Bacterias aeróbicas</i>
<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Escherichia coli</i>
<i>Klebsiella spp.</i>
<i>Mycobacterium spp.</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus coagulasa-negativo</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Streptococcus viridans</i>
<i>Bacterias anaeróbicas</i>
<i>Bacillus</i>
<i>Clostridium</i>
<i>Fusobacterium</i>
<i>Peptostreptococcus</i>
<i>Hongos</i>
<i>Aspergillus</i>
<i>Candida albicans</i>
Otras especies de <i>Candida</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Virus</i>
Cytomegalovirus
Herpes-simplex virus
Virus respiratorios y entéricos
<i>Protozoarios</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>
<i>Pneumocystis carinii</i>
<i>Strongyloides stercoralis</i>
<i>Toxoplasma gondii</i>

una disminución importante de las células CD4 sufren de infecciones severas. Entre los patógenos oportunistas más comunes se encuentran parásitos como *Pneumocystis carinii* que causa neumonía, *Toxoplasma gondii* que produce infecciones del sistema nervioso central, así como *Cryptosporidium*, *Isospora* y *Microsporidium* que causan diarrea. Otros microorganismos que causan infecciones en estos pacientes incluyen micobacterias atípicas (complejo *Mycobacterium avium-intracellulare*) que causan neumonías e infecciones diseminadas; hongos como *Candida spp.* que produce candidiasis oral y esofágica y *Cryptococcus neoformans* que produce meningitis; así como infecciones virales por herpes simplex virus y citomegalovirus.

CONCLUSIONES

La microbiota humana constituye una población de microorganismos que ha evolucionado junto con su hospedero a lo largo de millones de años. Durante este periodo han desarrollado funciones cada vez más complejas que abarcan desde la protección contra microorganismos patógenos y la síntesis de sustancias esenciales para el metabolismo del hospedero hasta un efecto modulador de las células del epitelio intestinal. Todas estas funciones se realizan en un estado de equilibrio entre los microorganismos y su hospedero. Cuando el hospedero sufre lesiones a su integridad física o desarrolla enfermedades que debilitan la respuesta inmunológica, los microorganismos que colonizan al hospedero pueden causar infecciones agudas e, inclusive, enfermedades crónicas. Las investigaciones recientes han demostrado que la microbiota residente juega un papel muy importante en el desarrollo de alteraciones metabólicas como la obesidad y de padecimientos crónicos como la enfermedad de Crohn. Uno de los retos actuales de la ciencia es desarrollar herramientas para alterar la microbiota residente con fines terapéuticos para restaurar la salud del paciente.

GLOSARIO

Adherencia: proceso mediante el cual las células bacterianas se adhieren a la célula eucariota. Requiere siempre de un receptor en la superficie de la célula eucariota y de una molécula de adhesión (ligando) en la superficie de la bacteria. La adherencia puede ser específica o inespecífica.

Asplenia: ausencia del bazo o de su función normal que se asocia a un mayor riesgo de infecciones severas.

Bacteria: microorganismo unicelular, sin núcleo definido, cuenta con algunos organelos internos. Generalmente, posee una pared celular compuesta de peptidoglicano.

Bacteria aeróbica: bacteria que puede vivir o desarrollarse en presencia de oxígeno; si el oxígeno es esencial para su existencia se denomina aerobio estricto.

Bacteria anaeróbica: bacteria que puede vivir o desarrollarse en ausencia de oxígeno; si es incapaz de vivir en presencia del oxígeno se denomina anaerobio estricto.

Bacteria gram-negativa: bacteria que no retiene el colorante de cristal violeta-iodo en el método de coloración de Gram por la baja con-

centración de peptidoglicano y alta concentración de lípidos en su pared celular.

Bacteria gram-positiva: bacteria que retiene el colorante de cristal violeta-iodo en el método de coloración de Gram por la alta concentración de peptidoglicano y baja concentración de lípidos en su pared celular.

Célula CD4: subtipo de linfocito conocido como linfocito T cooperador, el cual es responsable de coordinar la respuesta inmune mediada por anticuerpos y células.

Células fagocíticas: células que tienen la facultad de englobar y digerir microorganismos y desechos celulares en la sangre y en los tejidos. El término se refiere principalmente a los monocitos en la sangre y a los macrófagos en los tejidos.

Citocinas: proteínas que regulan la función de las células que las producen u otros tipos celulares. Su acción fundamental es regular el proceso de la inflamación.

Colonización: establecimiento de uno o varios microorganismos en un sitio anatómico específico.

Complemento: sistema compuesto de quince o más sustancias del suero cuya activación secuencial lleva a la liberación de péptidos activos de inflamación, a la activación de la fagocitosis y a la lisis de la membrana celular.

Elastasa: enzima encargada de la degradación de las fibras elásticas.

Exotoxina: toxina (proteína o lipopolisacárido) muy potente secretada por algunos microorganismos con capacidad para causar un gran daño al hospedero.

Factor de adherencia: moléculas o ligandos que tienen las bacterias para adherirse a las células eucariotas.

Factor de virulencia: sustancias que producen las bacterias que provocan daño a su hospedero.

Fagocitosis: proceso mediante el cual una célula fagocítica o de otro tipo engloba y elimina bacterias y otras partículas de desecho. Es un mecanismo importante de defensa contra la infección.

Fascitis necrotizante: infección aguda que se extiende por el tejido celular subcutáneo y la fascia, produciendo una rápida necrosis tisular, con grave afectación del estado general. La causa más común es *Streptococcus pyogenes*.

Fimbria: proteína filamentosa de la superficie de las células bacterianas que sirve como ligando para la adherencia específica.

- Flora comensal:** bacterias que se encuentran en un sitio anatómico específico en condiciones normales. También se le conoce como flora normal.
- Hongo:** organismo eucariota que carece de clorofila, tiene una pared celular compuesta de quitina. Aquellos que infectan al humano incluyen las levaduras y los hongos filamentosos.
- Hospedero:** organismo vegetal o animal que alberga a otro en su interior, o lo porta sobre sí, ya sea como parásito, comensal, o para una relación de mutualismo. Se utilizan como sinónimos los términos huésped, hospedador y hospedante.
- Infección oportunista:** infección causada por patógenos (virus, bacteria, hongo o protozooario) que no causan enfermedad en un hospedero sano.
- Inmunidad celular:** respuesta inmune debida a la activación de macrófagos, linfocitos antígeno-específicos, células NK y citocinas; no participan anticuerpos ni complemento.
- Inmunodeficiencia:** estado en el que las defensas del organismo contra agentes infecciosos se encuentran reducidas o ausentes.
- Intertriginosa:** relativo al área de los pliegues cutáneos.
- Leucocidina Pantón-Valentine:** citotoxina que le confiere una mayor virulencia a algunas cepas de *Staphylococcus aureus*, causando lesiones necróticas de la piel o mucosas.
- Linfocito:** leucocitos de tamaño pequeño, agranulares, que forman parte del sistema inmune de los vertebrados. Proporcionan protección específica contra los antígenos.
- Microbiota:** conjunto de microorganismos que vive en las superficies o en las capas más profundas de la piel y de la mucosa oral, así como en los tractos gastrointestinal, respiratorio y genitourinario.
- Neutrófilo:** tipo más abundante de leucocito, también conocido como “granulocito” o neutrófilo polimorfonuclear. Forma una parte esencial de la respuesta inmune innata (no específica de antígeno).
- Nicho ecológico:** referente a la posición de una especie o una población en relación con otra en un ecosistema específico.
- Peristalsis:** movimiento de contracción y de relajación simétrica del músculo liso del tracto digestivo que sirve para impulsar su contenido hacia adelante.
- Pili:** apéndice corto, anclado en la membrana de muchas bacterias, involucrado en la conjugación bacteriana.

- Proteasa:** enzima encargada de desdoblar las proteínas (proteólisis), que es producida por algunas bacterias, y les confiere una mayor capacidad de invasión de tejidos.
- Proteína A:** proteína de superficie producida por algunas bacterias como *Staphylococcus aureus*. Se une a las inmunoglobulinas, en particular a la IgG e impide la opsonización y la fagocitosis con lo que se menguan las defensas del hospedero.
- Protozoario:** organismo unicelular, eucariota con órganos locomotores.
- Quimiotaxis:** fenómeno por el cual ciertas células dirigen sus movimientos hacia otras células o sustancias químicas en su ambiente.
- Tejido de granulación:** tejido conectivo vascularizado que se forma durante el proceso de curación de úlceras y heridas, y que finalmente forma la cicatriz.
- Tejido linfoide:** variedad de tejido conectivo asociado con los elementos del sistema inmune. Se refiere principalmente a los nódulos linfáticos y a los folículos linfoides.
- Toxina:** sustancia tóxica de origen microbiano, vegetal o animal.
- Toxina exfoliativa:** un grupo de toxinas con actividad proteolítica que causa descamación de la piel, responsable de las lesiones exfoliativas que se observan en las infecciones por estreptococo o estafilococo. También se conoce como toxina epidermolítica.

BIBLIOGRAFÍA

- AAS, J. A. *et al.* 2005. "Defining the Normal Flora of the Oral Cavity", *J. Clin. Microbiol.* 43: 5721-5732.
- DANKNER, W. M. *et al.* 2001. Pediatric AIDS Clinical Trials Group, "Correlates of Opportunistic Infections in Children Infected with the Human Immunodeficiency Virus Managed before Highly Active Antiretroviral Therapy", *Pediatr. Infect. Dis. J.* 20: 40-48.
- DE BANDT, J. P. *et al.* 2011. "Intestinal Microbiota in Inflammation and Insulin Resistance: Relevance to Humans", *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* 14: 334-340.
- FAKHIR, S. *et al.* 1989. "Cell-mediated Immune Responses in Malnourished Host", *PubMed: J. Trop. Pediatr.* 35: 175-178.
- GAO, Z. *et al.* 2010. "Quantitation of Major Human Cutaneous Bacterial and Fungal Populations", *J. Clin. Microbiol.* 48: 3575-3581.
- LARSEN, B. y P. Galask. 1980. "Vaginal Microbial Flora: Practical and Theoretic Relevance", *Obstet. Gynecol.* 55: 100S-113S.

- PETERSON, D. A. *et al.* 2007. "IgA Response to Symbiotic Bacteria as a Mediator of Gut Homeostasis", *Cell Host Microbe*. 2: 328-339.
- PICAZO, J. J. 2004. "Management of the Febrile Neutropenic Patient: a Consensus Conference", *Clin. Infect. Dis.* 39 (Suppl1): S1-6.
- RIDLON, J. M. *et al.* 2006. "Bile Salt Biotransformations by Human Intestinal Bacteria", *J. Lipid. Res.* 47: 241-259.
- SAFDAR, N. *et al.* 2001. "Nosocomial Infections in the Intensive Care Unit Associated with Invasive Medical Devices", *Curr. Infect. Dis. Rep.* 3: 487-495.
- STAPPENBECK, T. S. *et al.* 2002. "Developmental Regulation of Intestinal Angiogenesis by Indigenous Microbes Via Paneth Cells", *Proc. Nat. Acad. Sci. EUA.* 99: 15451-15455.
- TURNBAUGH, P. J. *et al.* 2006. "An Obesity-associated Gut Microbiome with Increased Capacity for Energy Harvest", *Nature*. 444: 1027-1031.
- WALKER, W. A. 2002. "Development of the Intestinal Mucosal Barrier", *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 34: S33-S39.
- WILLING, B. P. *et al.* 2010. "The Role of the Immune System in Regulating the Microbiota", *Gut Microbes*. 1: 213-223.

.4.

INMUNOMODULACIÓN POR PARÁSITOS INTESTINALES

*Fela Mendlovic y Ana Flisser**

La inmunología y la parasitología han tenido una larga y exitosa interacción, tanto en el apoyo del inmunodigánóstico de enfermos como en el campo de la seroepidemiología y, más recientemente, en el descubrimiento de la capacidad de inmunomodulación que tienen los parásitos helmintos intestinales; esto último ha generado un gran avance en el conocimiento básico de la inmunología y abre un nuevo capítulo en el desarrollo de nuevas estrategias y fármacos de origen biológico para el tratamiento de enfermedades inmunológicas.

En los últimos años ha aumentado la prevalencia de enfermedades autoinmunes e inflamatorias como esclerosis múltiple (EM), diabetes mellitus e IBD (por sus siglas en inglés, *inflammatory bowel disease*), la que incluye dos entidades principales: enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa, así como enfermedades alérgicas. En los Estados Unidos se estima que 23.5 millones de personas padecen enfermedades autoinmunes. Por otra parte, se ha registrado una baja significativa en la presencia de enfermedades por helmintos. Antes del siglo XX, prácticamente todos los individuos habían padecido al menos una parasitosis por helmintos. Además, los datos epidemiológicos indican que las enfermedades inflamatorias son menos comunes en países tropicales en vías de desarrollo y sugieren que la gente portadora de helmintos tiene menos enfermedades inflamatorias, autoinmunes y alérgicas. Esta información

* Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México, fmendlo@yahoo.com; flisser@unam.mx.

se asocia a la hipótesis de la higiene, que explica por qué la prevalencia de estas enfermedades, debidas a respuestas inmunes exageradas o disfuncionales, ha aumentado en poblaciones que han adoptado prácticas higiénicas modernas y carecen de exposición a helmintos. La hipótesis de la higiene propone que estos parásitos inducen vías de regulación del sistema inmune a través de la estimulación de citocinas como interleucina 10 (IL-10) y TGF- β (por sus siglas en inglés *transforming growth factor*), así como de células que incluyen a las dendríticas (DCs por sus siglas en inglés, *dendritic cells*), macrófagos alternativamente activados, linfocitos T reguladores (Tregs) y linfocitos B. Estas células y citocinas pueden regular las respuestas Th1 y Th17 que, en muchas ocasiones, son responsables de las patologías inflamatorias, así como la misma respuesta Th2, que causa las enfermedades alérgicas como asma.

David Artis ha sido clave en dilucidar la participación de diferentes componentes de la respuesta inmune a nivel intestinal en respuesta contra helmintos. Recientemente demostró que los basófilos llevan a cabo funciones esenciales en modelos de inmunidad y de inflamación dependientes de citocinas de tipo Th2, generadas después de exposición a helmintos. Los basófilos migran a los ganglios linfáticos y presentan antígenos a linfocitos TCD4+, promoviendo su diferenciación hacia Th2; esto sucede en cooperación con DCs. La presentación de antígenos por parte de basófilos es una función de reciente identificación en estas células. Además, los basófilos producen IL-4 e IL-13, citocinas esenciales en la protección contra helmintos.

Históricamente, los eosinófilos se han asociado a helmintiasis. Por ejemplo, durante la uncinariasis se produce eosinofilia muy elevada. Los eosinófilos son células terminales que participan en la protección contra helmintos por su habilidad de mediar citotoxicidad in vitro dependiente de anticuerpos o de complemento y por la observación de que los eosinófilos se acumulan y degranulan en la vecindad de los parásitos dañados. Durante las infecciones por helmintos, tanto en seres humanos como en animales experimentales de laboratorio, estas células presentan cambios morfológicos y funcionales asociados a activación in vitro. Esta diferenciación incluye disminución en su densidad, regulación de moléculas superficiales de activación (CD69, CD25, CD44 y HLA-DR), citotoxicidad celular aumentada, liberación de gránulos, proteínas, citocinas, leucotrienos y otros mediadores de inflamación. A pesar de su gran capacidad de matar helmintos in vitro, la función precisa de los eosinófilos durante estas parasitosis no se conoce. En comparación con las bien descritas funciones de la

respuesta inmune adaptativa, la influencia de la respuesta inmune innata, especialmente en cuanto a DCs y a eosinófilos, aún debe ser dilucidada.

Aunque existen diferencias en el balance de las respuestas de citoquinas y de las células que se activan dependiendo del parásito y del hospedero, los helmintos intestinales generalmente son potentes inductores de la inmunidad tipo 2. La inmunidad protectora contra *Trichuris muris*, que se produce en el modelo murino, varía dependiendo del fondo genético de la cepa utilizada y es similar al rango de respuestas observadas en la población humana expuesta a *T. trichiura*, una de las parasitosis intestinales en seres humanos más frecuentes en el mundo. La mayoría de las cepas de ratón, como BALB/c, son resistentes a *T. muris* y expulsan rápido al parásito, en cambio pocas cepas, como AKR, son susceptibles; éstas permiten el desarrollo de parásitos adultos y producen infecciones crónicas en el ciego y en el colon proximal. Está bien establecido que la respuesta Th2 es la dominante y necesaria para la expulsión de los gusanos en las cepas resistentes. En cambio, las cepas susceptibles, más que no poder montar una respuesta inmune contra *T. muris*, generan una respuesta Th1 que es inapropiada y se asocia a altos niveles de IL-12 y de IFN- γ .

Las diferencias en la inmunidad Th2 que se generan en respuesta a diferentes especies de helmintos se ejemplifican en los trabajos de investigación de Rick Maizels, quien ha sido uno de los pioneros en el estudio de la respuesta inmune en helmintos. Estos parásitos han aprendido a explotar las rutas inmunorreguladoras de sus hospederos mamíferos a lo largo de la coevolución resultando, en muchos casos, en tolerancia a las infecciones. Las parasitosis intestinales por nemátodos son cosmopolitas y de alta prevalencia y, como las de plathelminths, están dominadas por una respuesta inmune Th2. Mientras que los mecanismos mediados por células Th2 por lo general causan la expulsión de los helmintos intestinales, las rutas precisas difieren entre las especies, probablemente porque cada parásito ha desarrollado una estrategia evolutiva singular de evasión que ha permitido que se adapte a un nicho particular dentro del hospedero. Por ejemplo, *Nippostrongylus brasiliensis* es un estimulador potente de inmunidad desviada hacia tipo Th2, los ratones pueden eliminar a los parásitos a través de una ruta dependiente de IL-4/IL-13 y STAT-6 (por sus siglas en inglés, *signal transducer and activator of transcription 6*) que involucra la proliferación de células caliciformes en el intestino y la producción de moco. En contraste, *Heligmosomoides polygyrus* induce una com-

binación de respuestas de linfocitos Th2 y Treg que resultan en una infección crónica y, sólo después de que los parásitos se expulsan debido al tratamiento farmacológico, aparece inmunidad a reinfección, que depende del receptor de IL-4 y es mediada por macrófagos alternativamente activados.

Debido a que los parásitos helmintos son expertos en modificar la actividad inmunológica de sus hospederos, se han usado modelos de roedores que simulan enfermedades inflamatorias del ser humano como IBD, EM, diabetes tipo I y artritis reumatoide para estudiar la capacidad de las helmintiasis de reducir los síntomas y dilucidar los mecanismos que utilizan los helmintos para la regulación. Actualmente se ha generado gran interés en el estudio del sistema inmune de los seres humanos en respuesta a sus parásitos metazoarios. Existen múltiples datos que comprueban que la infección con helmintos puede reducir la gravedad de las enfermedades inflamatorias intestinales; por lo que se están desarrollando tratamientos basados en la administración de nemátodos. Por ejemplo, Joel Weinstock trabaja con *Trichuris suis*, cuyos huevos constituyen ahora un fármaco aceptado por la FDA (Food and Drug Administration, por sus siglas en inglés) para controlar el asma y otras entidades alérgicas como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerativa.

La EM es una enfermedad inflamatoria con efectos desmielinizantes a nivel del sistema nervioso central y que resultan en falta de comunicación neuronal. Los síntomas incluyen alteraciones motoras y cognitivas, problemas visuales y de lenguaje, depresión, entre otras. Actualmente no existe cura para esta enfermedad. Sin embargo, se ha reportado que pacientes con EM que presentan infecciones con helmintos tienen una enfermedad más leve por lo que se decidió llevar a cabo un estudio reciente de fase I en donde se trataron 5 pacientes con EM con huevos de *T. suis* que se utilizan en la terapia contra IBD. Los resultados mostraron una disminución de las lesiones en el sistema nervioso central y un aumento en los niveles de citocinas IL-4 e IL-10 en la sangre de 4 de los 5 pacientes que participaron en el ensayo clínico. Aunque es necesario realizar estudios para investigar más a fondo los efectos, mecanismos involucrados y seguridad de este tipo de terapia, los resultados son promisorios.

Todavía no se han usado helmintos para el tratamiento de la diabetes tipo I en humanos, que es una enfermedad autoinmune caracterizada por la destrucción de las células β del páncreas que producen insulina por células T autoinmunes. La falta de insulina puede ser fatal si no hay terapia de reemplazo. Sin embargo ya hay planes para ensayos clínicos,

pues existen diversos reportes en modelos experimentales murinos en los que se presenta protección contra la insulinitis tras la exposición a parásitos como *Schistosoma mansoni*, *Trichiella spiralis* y *H. polygyrus*. La protección está asociada a la inducción de IL-10, expansión de linfocitos NKT (por sus siglas en inglés *natural killer T cells*) y a un incremento en Tregs en bazo y páncreas en el caso de *S. mansoni*. En *T. spiralis* la protección se asocia a un incremento en IL-4 en bazo sin producción de IL-10, mientras que en el caso de *H. polygyrus*, además de la IL-4, se observa aumento de macrófagos alternativamente activados. Por lo tanto, diversos helmintos pueden generar diferentes vías de regulación.

Asimismo, los estudios en seres humanos y en modelos experimentales indican que, además de inhibir la respuesta tipo Th1, las helmintiasis inhiben respuestas tipo Th2 en contra de antígenos no relacionados, por ejemplo, en enfermedades alérgicas, que se caracterizan por un perfil Th2 en individuos con atopía, se presenta aumento de células cebadas, eosinófilos y células caliciformes, así como secreción de citocinas Th2 y de IgE, similar a lo que sucede en las infecciones por helmintos. Sin embargo, en aquellas personas que viven en países endémicos para helmintiasis intestinales, hay menor incidencia de enfermedades alérgicas que en personas de países donde estas infecciones son poco prevalentes o no existen. Esto sugiere que las helmintiasis pueden proteger del desarrollo de inflamación alérgica, como se propone en la hipótesis de la higiene. La ascariosis afecta a más de 1.4 mil millones de personas en el mundo y se ha visto que la infección con este parásito altera la respuesta alérgica al disminuirla o incrementarla, lo que se ha denominado IgE "buena" o "mala". Para su estudio se han desarrollado varios modelos en ratones. Por ejemplo, cuando se induce conjuntivitis alérgica, la presencia de una infección aguda por *Ascaris* exacerba la alergia, pero cuando es crónica protege contra exposiciones subsecuentes de conjuntivitis. La protección se debe a un aumento global de IL-10, asociado a linfocitos Tregs CD4+/CD25+. Al aislar estos linfocitos reguladores provenientes de ratones con ascariosis crónica y transferirlos a ratones que posteriormente fueron sensibilizados con polen, se registró una respuesta baja ante un nuevo contacto con el alérgeno. Estos datos sugieren que los linfocitos Tregs CD4+/CD25+ inducidos por *A. suum* pueden reducir directamente la alergia causada por alérgenos de origen no parasitario.

Los mecanismos moleculares que intervienen en la generación de las redes de regulación inducidas por los helmintos apenas comienzan a dilucidarse. Las células presentadoras de antígenos (APC por sus siglas

en inglés, *antigen presenting cells*) son necesarias para activar a las células T y se inicie un proceso de inmunidad adaptativa; por lo tanto, los helmintos utilizan un mecanismo probable para controlar al sistema inmune, la modulación de DCs, que son un eslabón central de unión entre la inmunidad innata y la adaptativa. Las DCs son un tipo único de APC, pues perciben a los patógenos invasores e inician una respuesta inmune, ya sea Th1, Th2 o Th17 dependiendo de la naturaleza del antígeno involucrado. Esto hace más sorprendente aun que los parásitos hayan desarrollado estrategias para modificar la función de estas células inmunes. Aunque originalmente se había pensado que la inducción de una respuesta Th2 por helmintos era debida a la falta de maduración de las DCs, cada vez surgen más evidencias de que los productos de los parásitos desvían de manera activa la respuesta inmune hacia Th2 al promover la maduración de las DCs a un fenotipo Th2, pues es evidente que dicha inducción ocurre después de la exposición de las DCs a productos de helmintos, entre éstos la glicoproteína ES-62 de la filaria *Acanthocheilonema viteae*, el antígeno soluble del huevo del tremátodo *S. mansoni* o los productos de excreción/secreción del nemátodo *N. brasiliensis*. Además de tener un efecto directo sobre las DCs inhibiendo la producción de IL-12, se ha demostrado que, durante las infecciones por nemátodos, éstos pueden inhibir la migración de DCs a los nódulos linfáticos mesentéricos y modificar las respuestas de los linfocitos T en estos órganos linfoides. Más aún, los productos de nemátodos pueden también inducir la diferenciación de Tregs CD4+CD25+ que secretan IL-10 y a su vez regular las respuestas efectoras Th1, Th2 o Th17.

La terapia que utiliza infecciones con helmintos para modular los procesos inflamatorios presenta muchos beneficios. Sin embargo, también puede haber efectos colaterales no deseados. Se sabe que los helmintos al inducir una respuesta inmune polarizada a Th2 pueden llegar a establecer infecciones crónicas que generalmente son asintomáticas y no generan patología importante. Esto es ventajoso para los parásitos, pues pueden sobrevivir por largo tiempo en su hospedero y, al mismo tiempo, al inhibir la respuesta inmune o volverla ineficiente les permite completar su ciclo de vida. Como consecuencia, las parasitosis por helmintos modulan la respuesta inmune hacia antígenos no relacionados y pueden predisponer al hospedero a infecciones secundarias más severas debidas a varios patógenos, desde virus hasta protozoarios. Por ejemplo, María Yazdanbakhsh y su grupo han analizado moléculas del sistema inmune en niños y en adultos del Continente Africano, en personas con esquistosomosis y en individuos no parasitados, habiendo

una mayor producción de IL-4 en las personas parasitadas, mientras que la respuesta inmune tipo Th1, por lo general, está suprimida. También demostraron que no se induce protección al vacunar contra influenza a los niños de Gabón que tienen infecciones por esquistosomas, aunque sí hay producción de anticuerpos. Los linfocitos CD4+ en estos niños después de la vacunación no producen IFN- γ , TNF- α ni IL-2 en comparación con los niños no infectados. Por otra parte, en un estudio que involucró a 12 pacientes con EM con infección concomitante con diferentes helmintos, 4 de ellos tuvieron que ser tratados con antihelmínticos debido a que presentaron exacerbación de los síntomas propios de la infección. Esto ha llevado a que actualmente se traten de identificar las moléculas producidas por los helmintos capaces de inducir regulación sin necesidad de una infección para que se pueda traducir en mejores tratamientos para enfermedades autoinmunes e inflamatorias.

Durante la fase migratoria de *Ascaris suum* y de la mayor parte de los helmintos, el parásito presenta varios estadios de desarrollo larvario en diferentes órganos del hospedero. El ciclo de vida complejo dificulta el uso terapéutico de *A. suum*, ya que se puede desarrollar fibrosis pulmonar cuando las larvas migran por el pulmón generando el síndrome de Loeffler, en el cual hay una acumulación de eosinófilos en el pulmón en respuesta a una parasitosis. Para caracterizar la base molecular de la modulación de enfermedades alérgicas y para evitar la patología asociada con la migración larvaria, se evaluó la actividad de productos de *A. suum* en un modelo de inflamación alérgica. Se seleccionó fluido pseudocelómico por ser metabólicamente activo, contener varios antígenos y porque se obtiene con facilidad de la cavidad de los gusanos. Este fluido, mezclado con ovalbúmina, aumentó la producción de IL-10 y el desarrollo de linfocitos Tregs, las que suprimieron la hipersensibilidad retardada hacia antígenos no parasitarios, aunque no se evaluaron en respuestas Th1 en mucosas. Por otro lado, se evaluaron extractos tanto del parásito adulto como de sus huevos, los que mostraron un perfil inhibitorio de inflamación alérgica similar, indicando que este proceso no es específico de estadio y que con seguridad involucra diferentes antígenos del parásito. Los extractos antigénicos y los componentes de alto peso molecular que han sido purificados (Asc, PI o PAS-1) a partir de gusanos adultos de *A. suum* inhiben la respuesta Th1 e, incluso, el asma alérgico; el efecto inmunosupresor se acompaña de citocinas de perfil Th2, principalmente IL-4 e IL-10, en cuya ausencia, Asc y PI no pueden inducir regulación negativa de la respuesta Th1 o Th2 contra ovalbúmina.

En cuanto a proteínas específicas que provienen de parásitos, existen estudios que han demostrado que la cistatina, que es un inhibidor de la cisteína proteasa y que es producida por diferentes especies de filarias, protege contra la colitis y el asma en modelos experimentales de ratón. En el caso del modelo de asma, la protección estuvo mediada por macrófagos e IL-10. Otras moléculas que se han estudiado en este contexto incluyen a la ES-62, que es un producto de la filaria *A. vitae* que reside en el sistema linfático. Esta glicoproteína unida a fosforilcolina previene y revierte la artritis inducida por colágeno en un modelo murino. Sin embargo, la fosforilcolina es necesaria para que esta molécula ejerza su efecto, la proteína recombinante no funciona como reguladora. Se demostró que dos proteínas recombinantes que tienen efecto inmunomodulador, una de 53kDa obtenida de *T. spiralis* que mejora los síntomas en un modelo de IBD, además de disminuir las citocinas Th1, aumentan las Th2 y las regulatorias en el suero de los animales tratados. La segunda es una proteína con homología a galectina-9 del nemátodo *Toxocara leonina*; esta proteína se produjo recombinante y se demostró que disminuye la inflamación intestinal y aumenta los niveles de las citocinas reguladoras IL-10 y TGF- β .

Los antígenos solubles de diversos helmintos pueden inducir distintos fenotipos de DCs en cuanto a la expresión de moléculas coestimuladoras y a la producción de citocinas. Por lo tanto, la modulación de la respuesta inmune por helmintos no necesariamente se restringe a desviar la respuesta hacia Th2 sino que también se presentan diferentes vías de activación de circuitos regulatorios, tanto de la inmunidad innata como adaptativa y que incluyen la participación de diferentes moléculas y de células inmunes. Las diferentes especies de helmintos y la gran diversidad de moléculas que producen representan una fuente enorme de posibles agentes con capacidad inmunomoduladora que podrían ser explotados para su uso como agentes terapéuticos novedosos, cuyo común denominador es la regulación del sistema inmune.

La uncinariasis humana se debe a los nemátodos *Ancylostoma duodenale* y *Necator americanus*, que infectan a más de 740 millones de personas, principalmente en áreas rurales tropicales y, debido a que se alimentan de la sangre del hospedero al que le causan anemia, generan un enorme costo económico calculado en años de vida ajustados por incapacidad (DALY, por sus siglas en inglés *disability adjusted life years*), cuyas pérdidas anuales son de más de 22 millones de DALY. Peter Hotez, primer investigador en desarrollar y evaluar una vacuna a partir de *N. americanus* con el antígeno Na-ASP-2, demostró recientemente que los

habitantes de áreas endémicas para este parásito producen niveles altos de IgE total y específica contra el antígeno utilizado para vacunar, que genera urticaria en las personas vacunadas. Estos datos muestran la propensión del antígeno de inducir una respuesta Th2 intensa. El estudio, además, resalta las diferencias entre una respuesta inmune natural a la helmintiasis y a la vacunación con un antígeno recombinante del parásito. La importancia de producir una vacuna eficiente es que, aunque el tratamiento con fármacos es muy efectivo, es difícil implementar un sistema de quimioterapia sostenida, especialmente en países en vía de desarrollo, en los que la reinfección es muy rápida (antes de 12 meses). Más importante aún es que la inducción de una respuesta Th2 por la uncinariasis ha eliminado, por ahora, la posibilidad de generar una vacuna que no exacerbe la respuesta Th2, hasta encontrar un antígeno que no estimule al sistema inmune durante la parasitosis, pero que sí lo haga por la vacunación, en particular porque, a diferencia de las infecciones por *A. lumbricoides* y *T. trichiura* cuya mayor intensidad de infección ocurre en niños, la intensidad de *N. americanus* y de *A. duodenale* es mayor en adolescentes y en adultos, siendo las personas de la tercera edad las que albergan mayor carga parasitaria.

En resumen, en las infecciones por helmintos intestinales, el equilibrio se polariza hacia una respuesta Th2. Esta polarización se ha explicado por la carencia de IL-12. Se sabe poco acerca de los mecanismos moleculares responsables del inicio de las respuestas Th2. Ahora el papel de las células epiteliales intestinales ha cobrado gran importancia debido a los hallazgos de que estas células se activan en respuesta a los parásitos, secretando alarminas como IL-25, IL-33 y TSLP (por sus siglas en inglés, *thymic stromal lymphopoietin*). Subsecuentemente, las células de la respuesta inmune innata tipo 2, como los nuocitos responden a estas señales secretando citocinas tipo 2 y, después, los linfocitos Th2 montan una respuesta más potente, se unen a la síntesis de las diferentes citocinas como IL-5, que es una citocina promotora de eosinofilia, así como a la de IL-4 e IL-13, que cooperan con linfocitos B y provocan el cambio de isotipo de anticuerpos de IgM a IgG4 e IgE y a la activación de macrófagos alternativamente activados. Además, IL-4 estimula la contracción muscular y el recambio de células epiteliales que contribuyen a la expulsión del parásito. IL-13 también induce la activación de células caliciformes y la producción de moco y RELM β (por sus siglas en inglés, *resistin-like molecule β*) que es una proteína con actividad antihelmíntica. Estas dos citocinas, que son esenciales en las respuestas tipo 2, son producidas también por otras células de la inmu-

nidad innata (basófilos y eosinófilos) y contribuyen a la amplificación de la respuesta. La exposición a helmintos también induce citocinas regulatorias como IL-10 y TGF- β , Tregs, así como DCs, linfocitos Tregs y linfocitos B reguladores. De hecho, hay moléculas solubles producidas por los helmintos intestinales que tienen la capacidad intrínseca de inducir la polarización hacia una respuesta Th2, sin embargo, es aún limitado el conocimiento de la naturaleza de estas moléculas y de los receptores en las células del hospedero que las reconocen. Cuando la respuesta inmune a los parásitos falla y estos no son eliminados, se genera una infección crónica que se caracteriza por anergia de linfocitos T. La anergia es un estado en el que los linfocitos no responden debido a una estimulación continua o a una estimulación en ausencia de moléculas coestimuladoras. Esta fase crónica puede estar asociada también a la activación de poblaciones celulares regulatorias. Este tipo de respuestas se ha observado en infecciones crónicas tanto en modelos experimentales como en infecciones humanas.

La capacidad de inducir circuitos regulatorios que poseen los productos derivados de helmintos intestinales representa una novedosa y prometedora opción en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, que abre nuevas líneas de investigación para dilucidar los mecanismos moleculares responsables de la regulación del sistema inmunológico, así como la posibilidad de desarrollar fármacos con propiedades antiinflamatorias.

Los autores desean agradecer al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), proyecto: IN214813.

BIBLIOGRAFÍA

- AL-RIYAMI, L. y W. Harnett. 2012. "Immunomodulatory Properties of ES-62, a Phosphorylcholine-containing Glycoprotein Secreted by *Acanthocheilonema vitae*", *Endocr. Metab. Immune Disord. Drug Targets*. 12: 45-52.
- ALLEN, J. E. y R. M. Maizels. 2011. "Diversity and Dialogue in Immunity to Helminths", *Nat. Rev. Immunol.* 11: 375-388.
- BALIC, A. *et al.* 2009. "Dynamics of CD11c+ Dendritic Cell Subsets in Lymph Nodes Draining the Site of Intestinal Nematode Infection", *Immunol. Lett.* 127: 68-75.
- COOKE, A. 2012. "Parasitic Worms and Inflammatory Disease", *Curr. Opin. Rheumatol.* 24: 394-400.
- CORREALE, J. y M. F. Farez. 2011. "The Impact of Environmental Infections (Parasites) on MS Activity", *Mult. Scler.* 17: 1162-1169.

- ELLIOTT, D. E. y J. V. Weinstock. 2012. "Helminth-host Immunological Interactions: Prevention and Control of Immune-Mediated Diseases", *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1247: 83-96.
- FUJIWARA, R. T. *et al.* 2009. "Necator americanus Infection: A Possible Cause of Altered Dendritic Cell Differentiation and Eosinophil Profile in Chronically Infected Individuals", *PLoS Negl. Trop. Dis.* 3: e399.
- GAZE, S. *et al.* 2012. "Characterising the Mucosal and Systemic Immune Responses to Experimental Human Hookworm Infection", *PLoS Pathog.* 8(2): e1002520.
- LITTLE, M. C. *et al.* 2005. "The Characterization of Intraepithelial Lymphocytes, Lamina Propria Leukocytes, and Isolated Lymphoid Follicles in the Large Intestine of Mice Infected with the Intestinal Nematode Parasite *Trichuris muris*", *J. Immunol.* 175: 6713-6722.
- MAIZELS, R. M. *et al.* 2012. "Susceptibility and Immunity to Helminth Parasites", *Curr. Opin. Immunol.* 24: 459-466.
- MEURS, L. *et al.* 2011. "Enhanced Pro-inflammatory Cytokine Responses Following Toll-like-receptor Ligation in *Schistosoma haematobium*-Infected Schoolchildren from Rural Gabon", *PLoS One.* 6: e24393.
- NEILL, D. R. y A. N. J. McKenzie. 2011. "Nuocytes and Beyond: New Insights into Helminth Expulsion", *Trends Parasitol.* 27: 214-221.
- PULENDRAN, B. y D. Artis. 2012. "New Paradigms in Type 2 Immunity", *Science.* 337: 431-435.
- SCHNEIDER, B. *et al.* 2011. "A History of Hookworm Vaccine Development", *Hum Vaccin.* 7: 1234-1244.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS

*Alejandro Escobar-Gutiérrez**

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas pueden ser causadas por agentes endémicos, emergentes o reemergentes y constituyen un problema de salud en todo el planeta. La identificación de los agentes causales es un dato indispensable que tiene impacto tanto en la medicina individual como en la salud pública; en el primer caso, la instauración oportuna de un tratamiento adecuado en el paciente permite la pronta resolución del estado clínico, limita las complicaciones y las secuelas posibles e impide la transmisión a contactos susceptibles. En salud pública, el hallazgo en la comunidad de agentes infecciosos en casos aislados o asociados a brotes permite establecer medidas inmediatas de control, prevención específica y educación para la salud que evitan la diseminación del problema a los habitantes de la comunidad.

Durante siglos, el diagnóstico de enfermedades estuvo basado exclusivamente en las manifestaciones evidentes de la patología, tanto físicas como de los signos y los síntomas correspondientes. Los avances del conocimiento y del desarrollo tecnológico, enfocados al análisis de las características definitorias de los cuadros clínicos variados, hacen imperante la necesidad de mayor información y de evidencias sólidas en busca

* Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos, SSA, aescobargutierrez@yahoo.com.

de diagnósticos oportunos y certeros. Un resultado oportuno no sólo incide en que el manejo de los pacientes se realice más temprano y sea más eficiente y limita la selección de cepas resistentes, sino que, además, impacta de manera económica en la disminución del uso de antimicrobianos no adecuados, abate costos de hospitalización, de manejo de complicaciones y disminuye riesgos de infección nosocomial agregada. También en salud pública su trascendencia es enorme al demostrar tempranamente la presencia en la población de un agente que puede ser emergente o reemergente y aun de uno endémico con características diferentes a las conocidas, lo cual permite analizar, discutir e implementar medidas de contención, prevención y control para impedir o limitar su diseminación entre los individuos susceptibles.

Es importante señalar que cada método de laboratorio que se proponga o se haya modificado a partir de uno previo debe ser valorado exhaustivamente con análisis estadísticos estandarizados. El objetivo es que el procedimiento debe discriminar con la mayor certidumbre entre la condición del sujeto de estar afectado y que no lo esté, de modo que se tenga un resultado acertado en función de la verdadera situación del paciente, con un mínimo de resultados falsos positivos o negativos o, aun mejor, sin ellos. En principio, los procedimientos diagnósticos con resultados absolutos de “todo o nada” (positivo o negativo) son muy escasos y por ello se debe establecer su valor relativo mediante estudios por el método más adecuado según el estado del conocimiento, llamado “estándar de oro” en voluntarios en los que se haya determinado previamente si están afectados o no. La comparación entre ambos grupos establece un valor de corte del método, referido al resultado mínimo que debe considerarse como positivo. Después, se deben determinar los valores de sensibilidad de la prueba, que es la proporción de casos verdaderos que son identificados de forma correcta, y de especificidad, referida a la proporción de sujetos no enfermos detectados. Por desgracia, no existen pruebas que simultáneamente sean 100% sensibles y 100% específicas y, según el caso, debe sacrificarse un parámetro a favor del otro. El mejor ejemplo de esto es la selección de donadores de sangre que no estén infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana o los B o C de la hepatitis. Para esto se recurre a dos etapas de inspección, una inicial de escrutinio o tamizaje con métodos de alta sensibilidad que no dejen escapar ningún caso, aunque pueda haber resultados positivos falsos, y una segunda confirmatoria de alta especificidad, que sólo resulte positiva en los casos verdaderos de infección. Los valores predictivos, positivo o negativo, son indicadores de la probabilidad de

que una vez obtenido un resultado, si es positivo en efecto indique que se esté padeciendo la enfermedad, o si es negativo, que el sujeto está realmente sano. Estos valores están matizados por la prevalencia de la enfermedad en el sitio donde se está llevando a cabo el estudio, ya que en áreas de alta frecuencia los resultados positivos son de gran certeza diagnóstica, no así los negativos, en tanto que si el padecimiento es raro en el área, un resultado positivo debe ser tomado con mucha cautela.

El trabajo con muestras clínicas de casos probables de alguna infección debe tener en cuenta la peligrosidad del agente que se sospeche. Se han establecido las condiciones de instalaciones y de trabajo correspondientes y así se han definido cuatro niveles de bioseguridad. La mayor parte del trabajo rutinario se encuentra en los niveles 1 y 2; en éstos se deben seguir estrictamente las normas de buenas prácticas de laboratorio para muestras con agentes sin potencial de contagio (nivel 1) o mínimo (nivel 2). En este último debe contarse con precauciones de aislamiento, condiciones de descontaminación del área, eliminación segura de los materiales usados y control de la formación de aerosoles, mediante la disponibilidad y el uso de gabinetes de bioseguridad para el manejo de productos contaminados con virus (hepatitis, respiratorios, exantemáticos), muestras de heces, sangre y suero. En el nivel 3 se debe contar con un confinamiento asegurado, aire direccionado y filtrado, vestimenta especial para trabajar con agentes que causan cuadros serios y peligrosos pero en los que se tengan medidas terapéuticas efectivas (virus de las encefalitis equinas, fiebre amarilla, fiebre del Nilo oeste, SARS, VIH, todas las rickettsias, *Chlamydomphila psittaci*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus anthracis*, *Salmonella typhi* y *Leishmania donovani*). El nivel 4 se restringe para agentes de muy alta peligrosidad, fácil transmisión por aerosoles y para los que no hay tratamientos preventivos ni terapéuticos disponibles (virus que causan fiebres hemorrágicas, tales como los Marburg, Ébola, Lassa, y Crimea-Congo y el virus de la viruela).

Una tendencia actual en el diagnóstico de enfermedades infecciosas es el diseño, la aplicación y la revisión permanente de algoritmos de diagnóstico con el propósito de mejorar la calidad y la precisión del resultado. Un algoritmo de diagnóstico implica el uso de pruebas determinadas según el tipo (fenotípico, inmunológico y molecular), el propósito (identificación de antígeno o de anticuerpos) y la complejidad, con lo que al aplicarse secuencialmente en un flujo de decisiones lleva a un ahorro considerable de tiempo, esfuerzo y recursos que resulta en un menor margen de error. Este enfoque permite garantizar un porcentaje cada vez menor de casos que escapen de un diagnóstico acertado.

MÉTODOS DE LABORATORIO PARA DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES

La primera opción para el diagnóstico infectológico de laboratorio es el hallazgo mismo del agente causal y la segunda es la identificación de la huella inmunológica que deja la presencia de dicho agente. El enfoque a utilizar se decide de acuerdo con el tiempo de evolución del caso y las características clínicas del paciente o las epidemiológicas del brote. En las infecciones agudas, el tiempo en que puede encontrarse el agente se limita a etapas tempranas y es de corta duración. Sin embargo, al disponerse del agente, en él se puede hacer la identificación precisa (género, especie, cepa, variedad), su sensibilidad a fármacos, si procede, y análisis más finos y detallados de sus propiedades patogénicas (producción de toxinas, p. ej.) o su análisis genómico. En infecciones crónicas, la permanencia constante del agente patógeno facilita su hallazgo, recuperación y caracterización, aun en etapas avanzadas de la enfermedad. Respecto a la huella inmunológica, la determinación de elementos de respuesta, generalmente anticuerpos, es posible hasta días después de la aparición de síntomas (periodo de ventana), una vez que se haya montado la respuesta inmunológica correspondiente (seroconversión) y según las características del agente y del estado de inmunocompetencia del paciente. Como ventaja de estos métodos inmunológicos es que la obtención de las muestras es más fácil (suero, líquidos corporales), hay mayor tiempo en que es factible obtener un resultado confiable e, incluso, se puede enviar la muestra con mucha seguridad a otros laboratorios con mayor capacidad para otros estudios.

IDENTIFICACIÓN DE AGENTES PATÓGENOS

Durante alrededor de cien años, los agentes infecciosos han sido identificados a través de las características que expresan (morfología, capacidad de desarrollo, transformaciones metabólicas, etc.) que solas o en conjunto puedan diferenciar adecuadamente unos de otros. Desde luego, las limitaciones principales de estos enfoques residen en la necesidad de contar con una cantidad mínima de agentes en la muestra clínica por estudiar, por debajo de la cual resulta muy difícil su observación o su recuperación.

Identificación macroscópica

La característica de los helmintos parásitos de ser visibles a simple vista hizo que fueron los primeros agentes de enfermedad que fueron reco-

nocidos. La asociación entre su expulsión con las heces fecales y ciertos estados patológicos tiene amplios antecedentes históricos y es notorio que todas las culturas conocidas han descubierto en la naturaleza remedios herbolarios para su eliminación, que siguen siendo ampliamente utilizados. La morfología es distintiva en todos esos macroparásitos y, por lo general, no requieren de confirmación en el laboratorio.

Observación de microorganismos

El microscopio compuesto con lentes de calidad exentos de aberraciones ópticas fue perfeccionado durante el siglo XIX y resultó ser el instrumento primario para la identificación de muchos microorganismos. Los avances realmente significativos en su observación fueron logrados con el desarrollo y el uso de colorantes y técnicas de tinción, con lo que se pudo intentar la diferenciación de formas y la clasificación de géneros y grupos más definidos. Tinciones simples con colorantes naturales como la hematoxilina (obtenida de la planta mexicana conocida como palo de Campeche, *Haematoxylon campechianum*), el carmín (de la cochinilla, un hemíptero del medio Oriente del género *Kermes vermilio*), los derivados de anilina, fucsina, violeta de genciana, azul de metileno, entre otros, se utilizan con éxito. Paul Ehrlich, uno de los investigadores más notables en su época por sus trabajos en bacteriología e inmunología, desarrolló la tinción para bacterias ácido-alcohol resistentes al teñirlas con fucsina y observar que una vez teñidas eran resistentes a la decoloración. Esta técnica fue mejorada y estandarizada por Ziehl y Neelsen en la forma que se continúa realizando en la actualidad y por esto se le conoce con los apellidos de ambos. Otro avance muy significativo en esta área fue el hallazgo de que muchas bacterias, aunque no todas, luego de ser teñidas de azul con cristal violeta seguido de una fijación con lugol (solución de yodo y yoduro de potasio) no se decoloraban con una mezcla de alcohol y éter, las que se denominaron bacterias Gram positivas. La técnica fue mejorada con una contracoloración con safranina, que permitió observar de color rojo a las bacterias no teñidas de azul, y se llaman Gram negativas. Con esto, hasta ahora, las bacterias se separan en las teñidas permanentemente o Gram positivas y las que pierden la coloración o Gram negativas, cada grupo con propiedades fisiológicas definidas y distintivas, útiles tanto para proseguir con la identificación como para orientar la quimioterapia inicial. La microscopia de campo oscuro permite identificar espiroquetas, como *Treponema pallidum*, agente causal de la sífilis.

En el caso de los hongos, para el diagnóstico de las micosis superficiales basta con raspar las lesiones y suspenderlas en una solución de hidróxido de potasio o de azul algodón en ácido láctico y fenol para observar levaduras o hifas y hacer una identificación tentativa, pero suficiente para instaurar el tratamiento. En la piel y en otros materiales como uñas, pelo, esputo, exudados o líquidos corporales se recomienda el uso del fluorocromo blanco de calcofluor, en solución de hidróxido de potasio, que se une a la quitina de la pared celular de los hongos y permite que se vean con facilidad por su fluorescencia en un microscopio de luz ultravioleta. La muy conspicua cápsula de *Cryptococcus neoformans* se puede poner en evidencia en el líquido cefalorraquídeo o en tejidos con una tinción negativa con tinta china o coloreándola con carmín. En cuanto a los virus, por su tamaño minúsculo nunca pudieron observarse directamente por microscopía óptica ni con tinciones en cortes de tejidos ni en ningún otro material clínico. Aunque los virus se pueden ver por microscopía electrónica, esta técnica no es de aplicación práctica. La única evidencia microscópica convencional que es de utilidad es en los virus que provocan transformaciones particulares en las células infectadas, como las células multinucleadas en las lesiones por virus de varicela, herpes simple y citomegalovirus, o por la propiedad de formar inclusiones dentro de las células infectadas, como los corpúsculos de Negri en las células cerebrales infectadas con el virus de la rabia.

Cultivo de microorganismos e identificación de agentes

Prácticamente todas las bacterias, hongos y aun muchos protozoarios de importancia médica pueden crecer en medios de cultivo sintéticos o semisintéticos. La importancia de los cultivos no sólo estriba en tener material para su identificación, sino también para contar con materia prima para la obtención de antígenos y usarlos en pruebas de diagnóstico o para la obtención de anticuerpos policlonales o monoclonales; asimismo para realizar pruebas de susceptibilidad a fármacos antimicrobianos, alcanzar un abasto adecuado para la preparación de vacunas, realizar infecciones experimentales y estudiar factores de patogenicidad, ciclos de vida, condiciones de vida y multiplicación. Koch es el autor de los cultivos sólidos y de la obtención de cepas puras; utilizó laminillas de vidrio y un caldo solidificado con gelatina, cuya solidez y transparencia permitió la formación de colonias, a partir de una bacteria, que quedaban aisladas respecto a otras, pero con el inconveniente de que la gelatina como soporte tiene bajo punto de fusión y muchas bacterias

la hidrolizan. La siguiente mejora fue la sustitución de la gelatina por el agar-agar, un polisacárido no ramificado obtenido de algas marinas, que es muy estable a las temperaturas de cultivo y no es degradado por bacterias u hongos. El otro gran avance en la tecnología bacteriológica fueron las cajas de Petri, de uso imprescindible en los laboratorios, en las que se pueden mantener cultivos sólidos encerrados, libres de contaminación y, al mismo tiempo, observarse desde el exterior sin mayor dificultad. Así como los diversos medios de cultivo que se clasifican según su composición y cualidades, por ejemplo los enriquecidos con sangre fresca o suero animal, los selectivos que contienen componentes que facilitan el crecimiento de ciertos microorganismos y no el de otros, los diferenciales que permiten distinguir ciertas especies, etcétera.

Una vez que se observan colonias con ciertas características que permiten sospechar su naturaleza, la conducta a seguir es identificar y caracterizar el agente con precisión. En particular, el resultado de la tinción de Gram en bacterias favorece la mejor elección en cuanto a la ruta diagnóstica que se debe seguir. Bajo un criterio fisiológico, la exploración de las capacidades metabólicas de un agente en particular ha conducido a las pruebas bioquímicas, para las que se pueden emplear tubos con un caldo base o agar nutritivo a los que se les adicionan un indicador de pH y sustratos definidos, cuya transformación genera un producto que puede acidificar o alcalinizar el medio y esto se refleja en el cambio de color del mismo, además de que en ocasiones se produce gas. Los medios sólidos como el triple azúcar e hierro o el hierro y lisina permiten observar simultáneamente varios cambios que facilitan la diferenciación de la bacteria aislada. El cambio se califica como positivo y su ausencia como negativo, con estos patrones particulares de transformación se puede establecer la clasificación correspondiente.

La falla mayor de las pruebas bioquímicas es que el resultado de la identificación puede tardar hasta 24 horas después del aislamiento, con el retraso consecuente que puede ser en demérito de la instauración oportuna de un tratamiento adecuado. Existen métodos automatizados que tratan de simplificar el procedimiento y acortan tiempos, sin embargo es más frecuente que las pruebas bioquímicas se vayan sustituyendo por otras más rápidas y, a veces, más certeras como las pruebas inmunológicas de identificación de antígenos mediante aglutinación directa o inmunofluorescencia directa, pero cada día se extiende más el uso de pruebas moleculares, en especial la reacción en cadena de la polimerasa. También existen medios de cultivo para hongos como el Sabouraud, el agar papa-dextrosa, el agar infusión de cerebro y corazón

con sangre de carnero, el agar extracto de malta, etc. Para los protozoarios patógenos se cuenta con el NNN (Novy-MacNeal-Nicolle) para *Leishmania* y *Trypanosoma* o el PYG-712 para amibas, aunque son de uso muy limitado en el diagnóstico.

Susceptibilidad a antimicrobianos

La antibiosis causada por un producto secretado por *Penicillium notatum* sobre *Staphylococcus aureus*, descubierta por Fleming, abrió la puerta para la búsqueda y la producción de las moléculas antimicrobianas conocidas como antibióticos. La penicilina fue el primer antibiótico disponible para uso en seres humanos. Aunque los antibióticos son una de las herramientas más útiles en la medicina, su uso rutinario, especialmente en condiciones no controladas, ha propiciado la selección de mutantes resistentes y con esto la búsqueda de nuevas moléculas. Debido a esto se generaron pruebas in vitro para determinar susceptibilidad o resistencia microbiana para modificar tratamientos. El mismo Fleming estableció un método in vitro para encontrar la susceptibilidad a antibióticos en tubo, con diluciones del antimicrobiano y determinando el crecimiento bacteriano por turbidimetría o por cambio de pH. La determinación de la concentración mínima inhibitoria de los antimicrobianos consiste en diluirlos en caldo contenido en tubos, sembrar la bacteria problema en una concentración estandarizada, incubar y determinar el desarrollo para definir la mínima concentración capaz de inhibir dicho desarrollo. En vista de que este procedimiento consume tiempo, requiere personal calificado y no es práctico tratándose de múltiples exámenes a realizar, se han buscado opciones diferentes; un método muy práctico, basado en la difusión en agar de los antimicrobianos, usa una placa con un medio sólido enriquecido en el que se siembra la bacteria en toda la superficie y, a distancias convenientes, se distribuyen discos de papel filtro impregnados con concentraciones conocidas de los antibióticos por probar. Al cabo de 24 horas de incubación, los antibióticos difunden radialmente sobre la superficie sólida y cuando hay susceptibilidad del agente, alrededor del disco se forman halos de inhibición de desarrollo bacteriano, los diámetros de estos halos se miden y comparan con los registrados en tablas predefinidas que informan si la bacteria en estudio es o no susceptible.

Los métodos automatizados para la determinación de la sensibilidad/resistencia a antibióticos han resuelto muchos problemas de variabilidad y de errores experimentales, se basan en el mismo principio de

inhibición del crecimiento microbiano, aunque ya están disponibles otros que identifican a los genes asociados a la resistencia. Todos requieren de bacterias aisladas, pero la lectura es más rápida porque se busca que la evaluación se realice a la brevedad posible, por procedimientos distintos de acuerdo con el diseño del fabricante. Con el avance en el conocimiento de los mecanismos genéticos de resistencia, se han identificado los genes y las mutaciones responsables, y con el empleo de métodos moleculares se están simplificando las determinaciones de resistencia y es muy probable que lleguen a sustituir a los métodos fenotípicos actualmente utilizados.

Cultivos celulares e identificación de virus y bacterias intracelulares obligadas
Desde el descubrimiento de que hay virus que son agentes infecciosos de existencia intracelular obligada, se ha tratado de hacerlos crecer en células vivas, propósito que se ha extendido a rickettsias, micoplasmas y clamidias, que son bacterias con las mismas exigencias para su crecimiento. El aislamiento de virus se puede realizar en cultivos primarios de tejidos recién obtenidos o en líneas celulares continuas con capacidad de crecimiento ilimitado, como son las células HeLa, Jurkat y THP-1, entre otras, de origen humano, las Vero de riñón de mono verde africano, las PK15 de riñón de cerdo, las CHO de ovario de hámster chino, las MDCK de riñón de perro cocker spaniel, las C6/36 del mosquito *Aedes albopictus*, etc. Una vez inoculadas con el material clínico se requiere de varios días, y a veces de varios pases, para constatar el desarrollo viral, usualmente por la observación de los cambios morfológicos debidos a efectos citopáticos en las células en un microscopio invertido. La caracterización del virus infectante se hace mediante pruebas acordes con sus propiedades conocidas: algunos forman cuerpos de inclusión característicos en la célula infectada, otros tienen en su superficie moléculas que se unen a eritrocitos de ciertas especies (hemadsorción o hemaglutinación viral); también se pueden usar anticuerpos específicos fluorescentes (inmunofluorescencia directa) o, con mayor facilidad, métodos moleculares de identificación (reacción en cadena de la polimerasa). Sin embargo, los cultivos virales son de utilidad muy restringida en el diagnóstico rutinario de infecciones virales pues son caros, requieren personal muy especializado, condiciones de trabajo complejas y los resultados son tardíos. No obstante, como ya fue mencionado, estas técnicas pueden ser imprescindibles para fines epidemiológicos por la necesidad de contar con un abasto del agente y proseguir con pruebas más especializadas.

DIAGNÓSTICO DE AGENTES INFECCIOSOS E INFECCIONES POR LA RESPUESTA INMUNE HUMORAL

Uno de los avances más espectaculares de la biología y de la medicina del siglo XIX fue el descubrimiento de los fenómenos fisiológicos responsables de la protección en contra de las enfermedades infecciosas. Este conocimiento fue el resultado de diversos grupos de investigación de varios países que con diferentes modelos experimentales y en humanos demostraron que es indispensable tener contacto con un agente exógeno para que el sujeto adquiriera un estado de inmunidad contra el efecto patogénico de dicho agente. El término respuesta inmune se acuñó para designar el proceso involucrado en esta forma de protección. Primero se pudo demostrar que esta respuesta estaba asociada a la aparición de moléculas de reconocimiento específico, después llamadas anticuerpos, en los líquidos corporales (plasma, suero, líquido cefalorraquídeo, saliva, heces, líquidos purulentos). Asimismo se definió el término de antígenos para designar a los elementos inductores, independientemente de su naturaleza química o de su estado de pureza. Los conceptos y los principios fundamentales sobre esta respuesta mediada por anticuerpos, denominada *humoral* por estar presente en los líquidos corporales, fueron propuestos por Ehrlich. No obstante, hasta mediados del siglo XX se identificaron a los linfocitos T como la estirpe celular responsable de esa forma específica de respuesta paralela a la humoral, desde entonces conocida como respuesta celular. Las respuestas humoral y celular, ambas específicas y con memoria, constituyen los dos brazos de la respuesta adaptativa. Otro hallazgo fundamental se dio en 1989 cuando se puso en evidencia que la respuesta innata, no específica y sin memoria, es esencial tanto en la primera línea de protección, como en el inicio, la dirección y la modulación de la respuesta adaptativa.

Los enfoques básicos para el diagnóstico inmunológico comprenden dos opciones: una es la identificación del agente mismo a través del hallazgo de antígenos que le sean característicos (métodos directos) y la otra es la demostración de anticuerpos específicos, que sólo pueden encontrarse si ha ocurrido un contacto reciente o pasado con un agente en particular (métodos indirectos). Desde luego, para desarrollar, estandarizar y garantizar la reproducibilidad de estos métodos se necesitan reactivos muy bien definidos. En los métodos directos se requieren anticuerpos de alta especificidad, ya sea policlonales (obtenidos deliberadamente por la inmunización de algún animal de experimentación)

o monoclonales (a partir de hibridomas de ratón o rata). En contraste, para los métodos indirectos, los antígenos necesarios se pueden obtener como moléculas nativas a partir de su fuente natural, por síntesis molecular en el laboratorio o muy puros por recombinación genética y expresión en células vectoras (bacterias, levaduras, insectos).

Neutralización

La combinación entre anticuerpos y toxinas, venenos, virus o microorganismos provocan inhibición o neutralización de los efectos biológicos de dichos materiales. Este procedimiento para diagnóstico se utiliza ya muy poco y consiste en inyectar una dosis pequeña de la toxina en la piel y buscar su efecto inflamatorio, el cual aparece de inmediato si el sujeto carece de anticuerpos contra esa toxina, pero que no sucede en caso de que el individuo tenga anticuerpos neutralizantes. Las pruebas de neutralización *in vitro* se continúan utilizando en investigación y en epidemiología como las más precisas y sensibles para poner en evidencia y cuantificar anticuerpos protectores contra virus. La técnica más utilizada es la de reducción de placas que parte de una suspensión viral estandarizada que se añade a una capa confluyente de células susceptibles en cultivo y se cubre con otra capa de agar para evitar que el virus se esparza en el sistema; al cabo de varios días puede observarse un número definido de áreas líticas (placas) que corresponden a los huecos dejados por las células que fueron infectadas y lisadas por el virus. En forma simultánea se hacen pruebas similares pero junto con la suspensión viral se añade el suero problema en diluciones seriadas. En caso de que estén presentes anticuerpos neutralizantes, el número de placas se reduce respecto al testigo de acuerdo con la concentración de anticuerpos y el punto final de la prueba, llamado título, corresponde a la dilución del suero capaz de reducir a 50% el número esperado de placas. Una variante de esta prueba es la inhibición de la hemaglutinación, en la que anticuerpos neutralizantes de moléculas de la superficie de algunos virus (influenza, dengue, fiebre amarilla, sarampión, rubéola, etc.), por ser receptores de otras moléculas de la membrana de eritrocitos de aves o mamíferos, resultan en su aglutinación (hemaglutinación viral). La prueba de neutralización que se realiza para bacterias es la determinación de antiestreptolisina O usada sobre todo para la evaluación del éxito terapéutico de la penicilina o de la eritromicina sobre infecciones estreptocócicas en pacientes con fiebre reumática. La estreptolisina O, que es termolábil, la producen estreptococos beta hemolíticos y tiene

la capacidad de hemolizar eritrocitos humanos y de conejo. Durante la infección por estreptococos se producen anticuerpos específicos neutralizantes en forma significativa, por lo que al mezclar el suero del paciente con cantidades estandarizadas de la estreptolisina se puede cuantificar la cantidad de anticuerpos por la magnitud de la inhibición del efecto hemolítico. El éxito del tratamiento de eliminación de la bacteria trae como consecuencia la disminución y aún negativización del título de estos anticuerpos.

Aglutinación

La combinación entre anticuerpos con antígenos presentes en partículas da lugar a que éstas se agreguen o aglutinen con una reacción visible a simple vista. Se llama aglutinación activa o directa cuando los antígenos son constitutivos de la partícula, como los de la superficie bacteriana o de eritrocitos, por lo que basta estandarizar bien el reactivo antigénico y adicionar el suero problema para buscar una reacción positiva. Por ejemplo se usa la prueba de aglutinación de rosa de Bengala para buscar anticuerpos contra *Brucella abortus* en el suero de casos sospechosos; su nombre deriva de que las bacterias se tiñen antes de la prueba con dicho colorante por lo que el resultado positivo o negativo de la reacción es fácilmente visible. Las reacciones de aglutinación usadas para identificar y definir variantes de bacterias (serotipos), según la especificidad de sus componentes estructurales ya sea somáticos o flagelares, se conocen como serotipificación. No obstante, la aplicación más difundida son las reacciones febriles que, aunque son de muy poca utilidad, continúan en uso por su bajo costo y facilidad de ejecución para identificar si un cuadro febril es causado por fiebre tifoidea, salmonelosis, brucelosis o tifo. La aglutinación pasiva es cuando se usa un soporte particulado, como eritrocitos o partículas de látex, al que se le unen químicamente antígenos definidos para lograr una reacción rápida, de fácil lectura y bajo costo. Esta variante metodológica ha favorecido el desarrollo de pruebas rápidas de amplia disponibilidad comercial y gran utilidad como pruebas presuntivas que pueden llevarse a cabo al pie de la cama del paciente.

Precipitación

Cuando un antígeno está disperso en una solución y se combina con su anticuerpo, se forman redes de complejos antígeno-anticuerpo que precipitan al modificarse las condiciones fisicoquímicas de los com-

ponentes individuales. Cuando se lleva a cabo en condiciones de total solubilidad, la magnitud del fenómeno está condicionada por las proporciones de ambos reactantes y, en la llamada zona de equivalencia, se alcanza la máxima precipitación, en tanto que los excesos de uno u otro reactante inhiben la cantidad de complejos precipitantes. Las reacciones de precipitación tuvieron un notorio impacto cuando se encontró que podían llevarse a cabo en un soporte (agar, poliacrilamida, papel) para distinguir simultáneamente tantas bandas de precipitación como sistemas antígeno-anticuerpo distintos se hallen presentes, aunque con la limitante de no poder distinguir la presencia de sistemas muy similares que al no poderse separar se observan como si fuera uno solo.

Las aplicaciones principales de estos métodos, conocidos genéricamente como de inmunodifusión, fueron el análisis y la separación de mezclas de antígenos y sentaron bases para su separación posterior en fracciones purificadas, así como para definir los isotipos de inmunoglobulinas en seres humanos y otras especies de vertebrados. De la inmunodifusión simple se pasó a la inmunoelectroforesis que, al conjuntar la difusión en agar con la separación electroforética previa de los antígenos, permite la resolución de las bandas generadas y la posibilidad de un mejor análisis de los resultados; la contrainmunoelectroforesis facilita el encuentro entre antígenos y anticuerpos al hacer pasar una corriente eléctrica por el gel, los antígenos, por su carga eléctrica, migran hacia el cátodo, en tanto que los anticuerpos lo hacen hacia el ánodo y al encontrarse ambos reactantes precipitan como bandas blancas sobre la matriz de agarosa.

Fijación del complemento

El sistema del complemento fue originalmente descrito por sus propiedades de ser activado por la reacción antígeno-anticuerpo y por tener un efecto citolítico sobre bacterias y eritrocitos; es un sistema multimolecular que sirve para medir la reacción antígeno-anticuerpo con gran sensibilidad. Una de las aplicaciones más tempranas para una enfermedad infecciosa fue la prueba de Wassermann para la sífilis, aunque por no ser una reacción específica podían encontrarse reacciones falsas positivas, ya que los anticuerpos anticardiolipina que participan pueden aparecer bajo otras condiciones, por ejemplo en enfermedades por autoinmunidad. Las pruebas de fijación de complemento se utilizaron profusamente durante muchos años en el diagnóstico de todo tipo de infecciones. Por ejemplo, en México, Dionisio Nieto utilizó la fijación de

complemento para una prueba diagnóstica de la neurocisticercosis, que durante muchos años fue la única disponible. Aunque estas pruebas ofrecían excelente sensibilidad y exactitud, al resultar muy complejas por lo laborioso de su ejecución y la facilidad de cometer errores experimentales, fueron abandonándose ante la aparición de nuevos métodos más sencillos y accesibles con eficiencia diagnóstica equivalente e incluso mejor.

Inmunofluorescencia

Los anticuerpos pueden purificarse y unirse químicamente (conjugarse) a otras moléculas que sirven como marcadoras (fluorocromos, isótopos, enzimas, etc.). Al adicionarlos a sus antígenos *in vitro* o *in situ*, la reacción puede ponerse en evidencia de acuerdo con la marca utilizada. El primer tipo de marcadores utilizados fueron los fluorocromos, principalmente la fluoresceína que absorbe luz ultravioleta a 490 nm y la emite como luz visible de color verde a 520 nm; los conjugados inmunofluorescentes se usan en pruebas directas con observación de los resultados en un microscopio con fuente de luz ultravioleta (microscopio de fluorescencia). Coombs implementó un avance de gran trascendencia diagnóstica con anticuerpos preparados en conejo específicos para anticuerpos humanos (suero de Coombs), que utilizó en pruebas *in vitro* para amplificar reacciones antígeno-anticuerpo no visibles (p. ej., anticuerpos anti-Rh). Más tarde, los anticuerpos anti anticuerpo humano fueron también conjugados a fluoresceína y utilizados en pruebas de inmunofluorescencia indirecta. Estas técnicas directa e indirecta se usan con gran frecuencia y mucho éxito en el diagnóstico, ya que se pueden aplicar en la identificación rápida y eficiente de agentes infecciosos en productos clínicos, preferentemente no contaminados con microbiota residente, cortes de tejidos, suspensiones de colonias microbianas o para agentes crecidos en cultivos celulares, así como para buscar anticuerpos específicos.

Radioinmunoensayo

Este fue otro hito en la metodología diagnóstica que, al utilizar isótopos radiactivos, fue durante muchos años el de elección por detectar y cuantificar cantidades muy pequeñas de moléculas diversas (hormonas, fármacos, etc.) pero con poca aplicación en el diagnóstico viral o microbiológico rutinario.

Métodos inmunoenzimáticos

La conjugación de enzimas a los anticuerpos ha dado lugar al desarrollo de métodos de gran utilidad diagnóstica. El método inmunoenzimático fundamental es el conocido como ELISA (por sus siglas en inglés, *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*). El ELISA indirecto es el más comúnmente usado en el diagnóstico de infecciones y está diseñado para detectar anticuerpos en una muestra clínica problema. Se realiza en placa de poliestireno como superficie sólida muy adsorbente, formada por 96 pozos, a la que se fijan las moléculas del antígeno respectivo por medio de su carga de superficie y, para enmascarar los sitios que hayan quedado libres, se recubren con una proteína irrelevante de bajo peso molecular (seroalbúmina, lactoalbúmina, glicina, leche descremada), que no entorpezca las reacciones subsecuentes. Se adiciona la muestra problema en la que se buscan los anticuerpos; si hubo reacción, ésta se pone de manifiesto con un anticuerpo dirigido contra el primer anticuerpo y conjugado a una enzima, llamado anticuerpo secundario, que al quedar retenido podrá transformar un sustrato idóneo por sus características distintivas, sean de color o de emisión de luz, en su producto, que se cuantifica por espectrofotometría o luminometría, respectivamente. Desde luego, cada paso incluye una incubación de duración variable (de 30 minutos a varias horas) a una temperatura definida (ambiente, 37 °C o 4 °C) para favorecer la unión de ambos componentes en cuestión y un lavado fuerte de los pozos de la placa para eliminar los reactivos que no hayan reaccionado. Hay varias enzimas, pero la peroxidasa de rábano picante (*horseradish* en inglés) y la fosfatasa alcalina son las más populares. Como sustrato de la peroxidasa se utiliza el peróxido de hidrógeno en presencia de una molécula que al oxidarse da un producto colorido cuya concentración puede medirse espectroscópicamente: 3,3',5,5' tetrametilbenzidina (TMB), 2,2' azino-di(3-etil-benzitiazolín) sulfonato (ABTS) y o-feniléndiamina (OPD). En el caso de la quimioluminiscencia, se usa también peroxidasa junto con luminol o luciferina. El ELISA tiene una ventaja adicional: como segundo anticuerpo se puede utilizar uno dirigido contra alguno de los isotipos de inmunoglobulinas humanas (IgG, IgA, IgM, IgE e, incluso, IgG1, IgG2, IgG3).

El ELISA de captura o de sándwich es el de elección para la búsqueda de antígenos en una muestra determinada. En éste, los pozos de la placa se recubren con anticuerpos primarios (de captura) específicos para el antígeno por identificar (pueden realizarse por fijación de sus Fc a una molécula aceptora como las proteínas A de *Staphylococcus aureus* o G de estreptococos, ahora disponibles como moléculas recombinantes). Los

espacios libres se bloquean, se agrega la muestra problema y, si ésta contiene los antígenos respectivos, quedan retenidos por el anticuerpo de captura. Se continúa con la adición de un segundo anticuerpo, también específico para el mismo antígeno pero obtenido en una especie diferente a la utilizada para el de captura, que al reconocer al antígeno atrapado se incorpora al sistema. Para poner en evidencia la reacción se añade un tercer anticuerpo que es el conjugado inmunoenzimático, que se une al segundo anticuerpo y así puede transformar al sustrato correspondiente que se agrega al final.

El ELISA de captura de IgM es una variante muy importante del ELISA en sándwich para el diagnóstico de enfermedades virales, ya que permite demostrar la presencia de anticuerpos específicos para este isotipo. El método consiste en tapizar los pozos con anticuerpos anti IgM humana, hacer el bloqueo y añadir el suero problema, cuyos anticuerpos IgM son atrapados y retenidos. Se agrega el antígeno viral recombinante específico, un anticuerpo monoclonal contra ese antígeno y el sistema inmunoenzimático correspondiente. El resultado sólo será positivo si en el problema hay anticuerpos IgM contra el agente viral respectivo. En vista de que la respuesta de IgM sólo se encuentra en infecciones primarias, al demostrarse su presencia se obtiene un diagnóstico seguro de la infección viral en curso. Con este procedimiento se ha logrado tener diagnósticos finales y definitivos de dengue, sarampión y rubéola en pocas horas y a un precio muy reducido, en comparación con los muchos días, con la alta proporción de resultados negativos falsos y con la alta inversión económica que requiere el cultivo, el aislamiento y la identificación del virus.

El ELISA en punto (*dot-ELISA* en inglés) es otra variante que ha tenido gran aplicación como prueba rápida. Se puede utilizar el sistema directo, indirecto o de sándwich descritos, pero en lugar de usar una placa de poliestireno como soporte, se utilizan tiras de papel de nitrocelulosa. Para facilitar la visualización del resultado positivo, el sustrato de la enzima empleada debe dar un producto colorido que precipite in situ.

Se puede incrementar la sensibilidad del ELISA mediante procedimientos de amplificación. Para esto, el anticuerpo primario en las pruebas directas o el secundario en las indirectas se hace acoplar a otras moléculas como biotina, o digoxigenina. La biotina es una vitamina que es fuertemente reconocida por la avidina obtenida de la clara de huevo o por la estreptavidina, obtenida de una bacteria, que tiene gran afinidad por la biotina y no da reacciones de fondo. Estas moléculas se marcan con peroxidasa o con fosfatasa alcalina; como cada molécula

de anticuerpo puede quedar unida con 3 a 6 de biotina sin perder sus características y cada una se asocia con una de avidina o estreptavidina, la reacción final se amplifica el mismo número de veces. La digoxigenina es una molécula esteroidea que se une a anticuerpos primarios o secundarios y sirve de unión con anticuerpos anti-digoxigenina, de alta afinidad, conjugados a una enzima.

Las distintas formas de ELISA, en especial la directa, se han aplicado con éxito en pruebas inmunohistoquímicas. La técnica es la misma que el ELISA en placa de poliestireno pero en laminillas de vidrio con cortes histológicos óptimamente adsorbidos, en los que previamente se debe llevar a cabo un bloqueo de las moléculas endógenas constitutivas (peroxidasa, fosfatasa alcalina, biotina), que podrían participar en las reacciones y falsear el resultado. Para que este resultado se observe mejor y perdure con permanencia en el corte, se usa un sustrato que genere un precipitado colorido in situ. También puede amplificarse la reacción con un sistema peroxidasa-antiperoxidasa.

Derivado de la prueba inmunoenzimática está la inmunoelectrotransferencia mejor conocida como *western blot*. Es un procedimiento que combina la separación electroforética de una mezcla de antígenos en un bloque de poliacrilamida, la transferencia de esos antígenos con corriente eléctrica a una membrana de nitrocelulosa (que puede cortarse en tiras estrechas) y la búsqueda de anticuerpos contra los antígenos transferidos a la nitrocelulosa por un ELISA y un sustrato cuyo producto precipite; las reacciones positivas se observan como bandas nítidas de color. El nombre de *western blot* viene de un juego de palabras que se inició cuando Edwin Southern desarrolló un método para separar fragmentos de DNA en bloques de agarosa y que por su apellido se le denominó *southern blot* y más tarde, el método se aplicó a la separación de RNA y se le dio el nombre de *northern blot* para contrastarlo con el *southern* y, posteriormente, a la separación de proteínas se le denominó *western blot*. Una aplicación inicial muy notoria fue para el diagnóstico confirmatorio de la infección por VIH, ya que su diagnóstico de laboratorio se inicia con pruebas presuntivas (generalmente ELISA), que son muy sensibles y limitan la no identificación de individuos infectados, pero tienen el riesgo de dar resultados positivos falsos. Así, en casos de que la prueba presuntiva resulte positiva se debe llevar a cabo la confirmación con otra prueba muy específica, como lo es el *western blot*; para este propósito se considera que un resultado positivo corresponde a la aparición de por lo menos una banda para cada producto de los genes

gag, pol y *env* del virus. El *western blot* es uno de los más difundidos para muchas otras enfermedades infecciosas.

Pruebas inmunológicas rápidas

Merece una consideración especial el grupo heterogéneo de técnicas conocidas como pruebas rápidas, cuyo denominador común es la facilidad de su ejecución en ausencia de un laboratorio formal, equipo especial o de corriente eléctrica, la rapidez para obtener el resultado, lectura unívoca y con la mejor especificidad y sensibilidad posibles que, además, se pueden realizar por personal sin ningún entrenamiento. Se ha diseñado una cantidad impresionante de estas pruebas bajo fundamentos bioquímicos, inmunológicos y de biología molecular para campos muy diversos en el diagnóstico, incluso el viral y el microbiológico. En estos últimos, las aplicaciones de las pruebas rápidas para agentes infecciosos o la respuesta humoral son muy vastas, ya sea en encuestas epidemiológicas o brotes, realizadas en un número muy elevado de sujetos o en casos individuales, cuando es urgente el resultado por el estado crítico del sujeto o por la alta posibilidad de que no regresen por el resultado de su prueba y que, al efectuarse y obtenerse un resultado de inmediato, se les conoce genéricamente como pruebas al pie de la cama del paciente, proporcionan un dato oportuno y confiable que permite orientar la conducta terapéutica más conveniente de aplicar.

La primera opción metodológica de resultado rápido fue la aglutinación pasiva, ya descrita, que fue mejorada al conjugar antígenos solubles a partículas de mayor tamaño y transformar reacciones de precipitación en las mucho más evidentes de aglutinación. En el mercado se disponen actualmente de muchas pruebas de aglutinación pasiva en látex que se realizan en tarjetas de cartón o plástico, con aplicaciones en muchas enfermedades virales, bacterianas, micóticas y por protozoarios. Otra más reciente, ya mencionada, es el *dot* (del inglés punto) ELISA también de alta eficiencia. Los resultados con ambas pruebas se obtienen en escasos minutos y se pueden hacer semicuantitativos, pero tienen el defecto que ante reacciones débiles la evaluación a simple vista puede ser difícil. Las pruebas inmunocromatográficas se basan en la migración libre de sustancias solubles sobre un soporte sólido. Un desarrollo pionero de estas pruebas lo hizo en México Maximiliano Ruiz Castañeda con la llamada reacción de fijación de superficie para *Salmonella typhi*. También existen pruebas de flujo lateral para la búsqueda de antígenos o de anticuerpos en muestras problema, se utilizan como soporte placas dese-

chables de plástico (casetes) que contienen varias membranas porosas sintéticas (nitrocelulosa, p. ej.) sobrepuestas. En el momento de la prueba en la zona de muestra se coloca una gota del producto clínico problema que por capilaridad migra a lo largo de la membrana. Si la muestra contiene antígenos o los anticuerpos que se buscan, éstos reaccionan con el componente homólogo fijo. En el sitio de muestra se adicionan anticuerpos monoclonales conjugados a oro coloidal o a microesferas de color, específicos para el antígeno o el anticuerpo que se busca y que al migrar se combinan con los complejos antígeno-anticuerpo formados y se manifiestan como una banda colorida en el sitio. Las pruebas en tira reactiva también son muy útiles para buscar antígenos o anticuerpos y utilizan tiras individuales o dispuestas en forma de peine en las que se han inmovilizado los reactivos de la prueba y se sumergen en el tubo con la muestra clínica o las puntas del peine en los pozos de una placa en donde se han distribuido muestras distintas, las que posteriormente reaccionan con las moléculas de detección que pueden ser anticuerpos o antígenos acoplados a enzimas, oro coloidal o microesferas.

REACCIONES DE INMUNIDAD CELULAR ÚTILES EN EL DIAGNÓSTICO DE INFECCIONES

La respuesta adaptativa celular depende de la actividad de los linfocitos T. El primer experimento asociado a diagnóstico fue cuando Koch descubrió en animales con tuberculosis experimental que, al administrarles por vía intradérmica pequeñas cantidades de tuberculina, un concentrado estéril del caldo de cultivo donde crecía *M. tuberculosis*, aparecía una reacción inflamatoria local al cabo de 24 a 48 horas. Estas reacciones fueron llamadas de hipersensibilidad tardía para distinguirlas de las inmediatas, mediadas por anticuerpos y que aparecen a los pocos minutos de estar en contacto con el antígeno. En humanos, la reacción se realiza por la inyección intradérmica de una baja concentración estandarizada de PPD y debe leerse a las 24 y 48 horas en busca de eritema e induración y para definir el resultado debe medirse el diámetro de la última: en sujetos de la población general, la reacción es positiva si mide 10 mm o más, indeterminada entre 5 y 9.9 mm y negativa si es menor a 5 mm; en pacientes con VIH y SIDA, los que tuvieron un trasplante o tienen una inmunodeficiencia, la positividad es desde los 5 mm. La prueba no es diagnóstica de tuberculosis activa, pero sí de latente. La reacción a la tuberculina fue el inicio de una serie de pruebas *in vivo* conocidas genéricamente como intradermorreacciones, pruebas de hipersensibi-

lidad tardía o cutáneas tardías, aplicadas a la identificación de estados infecciosos crónicos causados por agentes de vida intracelular. Para continuar con un estilo de nomenclatura iniciado por la tuberculina, los antígenos utilizados reciben nombres como lepromina (para *M. leprae*), histoplasmina (para *Histoplasma capsulatum*), coccidioidina (para *Coccidioides immitis*), esporotricina (*Sporothrix schenckii*), leishmanina (*Leishmania* spp.), etc. Todas estas pruebas tienen valor diagnóstico relativo y deben interpretarse siempre en función al estado clínico del paciente y a la epidemiología de su lugar de residencia o de contagio.

Una nueva generación de pruebas de respuesta celular *in vitro* se ha iniciado con las pruebas de liberación de interferón gamma (IGRA, del inglés *interferon gamma release assay*) para el diagnóstico de tuberculosis latente y activa. Se basan en los linfocitos T de memoria circulantes que, al ser estimulados específicamente, producen interferón gama (IFN- γ). Una de las pruebas (T-SPOT) usa células mononucleares obtenidas de la muestra de sangre que se mezclan con dos antígenos por separado y se colocan en pozos de una placa, previamente tapizados con anticuerpos monoclonales anti-IFN- γ ; se incuba 16-20 h, se lava el exceso de reactivos y el IFN- γ generado en las células se pone en evidencia con un reactivo inmunoenzimático, cuyo sustrato transformado precipita como manchas en las células, que son contadas e interpretadas en relación con los testigos.

DIAGNÓSTICO DE AGENTES INFECCIOSOS POR BIOLOGÍA MOLECULAR

Es indudable que el mayor descubrimiento científico del siglo XX ocurrió en 1953 al ser revelada la estructura del ácido desoxirribonucleico (DNA). El resultado inmediato fue contar con explicaciones coherentes de los procesos fundamentales de la herencia, la biosíntesis de proteínas y la evolución, y fueron la base de espectaculares avances en el terreno de la biología molecular. En materia de agentes infecciosos, destacan el hallazgo de nuevos agentes, la mejor clasificación, subclasificación o reclasificación de agentes conocidos, la obtención eficiente y reproducible de moléculas totalmente purificadas útiles como antígenos en el diagnóstico y en la producción de vacunas.

Las técnicas moleculares aplicadas al diagnóstico de infecciones son de mayor especificidad, sensibilidad y rapidez que otras metodologías, incluyendo a las inmunológicas. Ofrecen enormes ventajas como la seguridad en su manejo, superan las limitaciones de otras en cuanto a volúmenes de materiales clínicos necesarios o de la necesidad de man-

tener la viabilidad de los agentes y, sobre todo, que brindan información muy detallada que permite la individualización de los agentes identificados. En paralelo al desarrollo de los métodos de biología molecular, ha habido grandes avances en cuanto a recursos tecnológicos, nanotecnológicos y bioinformáticos que facilitan la ejecución rápida, eficiente, reproducible y de menor costo de los diagnósticos, aunque conservando aún la necesidad de contar con personal técnico bien entrenado y de un control de calidad muy rígido. De igual manera, cada vez son más los procedimientos moleculares que ya pueden hacerse sin personal experimentado, en un solo paso y al pie de la cama del paciente. Todos estos avances están siendo posibles con equipos multidisciplinarios, en los cuales cada grupo aporta su talento y experiencia y con el apoyo económico de compañías especializadas en el área, de modo que cada vez es más difícil identificar al autor o autores principales que participaron en uno u otro desarrollo.

Hibridación

En el DNA hay secuencias de nucleótidos específicas que distinguen a una de otra especie y que pueden ser usadas como marcadoras de identidad. La unión complementaria entre cadenas híbridas de DNA, una que es desconocida y otra muy bien caracterizada, se utiliza para identificar agentes infecciosos. Previamente hubo que encontrar secuencias conservadas (es decir, no sujetas a mutaciones frecuentes), exclusivas del agente o de los agentes que se intentan buscar. Con esta información se sintetizan químicamente sondas o iniciadores (*primers* en inglés) complementarios que se conjugan con alguna molécula marcadora (isótopo, enzima, fluorocromo, digoxigenina, etc.). En el momento de la prueba, se extrae el DNA de la muestra problema, se desnaturaliza con calor y se hace reaccionar con los iniciadores para que se lleve a cabo la alineación de las cadenas complementarias y, al enfriarse, se formen los híbridos respectivos con el iniciador marcado. Se hace un lavado para eliminar moléculas no reaccionantes y se somete el sistema a la evaluación de la marca (autorradiografía, transformación del sustrato de la enzima, microscopia de fluorescencia, ELISA) y si esta es positiva se confirma la presencia e identidad del agente. Estas técnicas se aplican a colonias microbianas, cultivos virales o tejidos parasitarios y son mucho más rápidas y eficientes que los métodos convencionales de identificación; además requieren de un mínimo de moléculas en la muestra. En cortes histológicos se puede llevar a cabo la hibridación in situ con sondas de

oligonucleótidos, de DNA o de RNA marcados con cualquiera de las moléculas mencionadas que identifican y ubican al agente responsable.

Análisis del polimorfismo de la longitud de los fragmentos de restricción

Conocido por las siglas RFLP (del inglés, *Restriction fragment length polymorphism*), este método se basa en la comparación de las características individuales de las secuencias de nucleótidos de los genes, cada uno con una distribución particular de sitios de ataque de enzimas de restricción que reconocen y cortan secuencias palindrómicas de 4 a 8 pares de bases del DNA, de modo que cada enzima genera fragmentos de longitud diferente según el DNA presente, los que se pueden observar y analizar en electroforesis en gel de agarosa. Como ejemplos de enzimas de restricción de uso frecuente está la *EcoRI*, que reconoce y rompe las secuencias G.AATTC de una cadena y CTTAA.G de la otra y la *AluI* para las secuencias AG.CT y TC.GA de una y otra cadenas. Este método fue muy empleado para identificar genes de agentes infecciosos hasta antes de la aparición de otros procedimientos más simples, más rápidos y de menor costo.

Reacción en cadena de la polimerasa

Conocida como PCR por las siglas en inglés de *polymerase chain reaction*, o más precisamente PCR de punto final porque sólo al término de la reacción se puede analizar el producto, es un procedimiento muy versátil que se ha convertido en el más empleado para el diagnóstico molecular de laboratorio. El fundamento de la PCR es la amplificación geométrica de una región genética de un organismo con el uso de iniciadores específicos. Esto se logra después de 30 a 40 ciclos sucesivos y continuos de desnaturalización (separación de las dos cadenas de DNA) que se lleva a cabo usualmente a temperaturas entre 94 y 96 °C, seguida por la alineación con los iniciadores específicos a temperatura más baja, entre 40 y 60 °C, y el proceso de extensión/alargamiento (duplicación) catalizado por DNA polimerasa y con la participación de los cuatro desoxirribonucleótidos en un amortiguador adecuado, a una temperatura de unos 75 °C. La alineación ocurre entre las cadenas desnaturalizadas del DNA problema y el par de iniciadores específicos, complementarios a los extremos de las cadenas con sentido y antisentido de esa región del DNA. La clave para que esta PCR trabaje con eficiencia es el uso de una DNA polimerasa dependiente de DNA resistente a las altas temperaturas necesarias

para la desnaturalización sin quedar después inactiva; esto se logró con una enzima de *Thermus aquaticus*, una bacteria aislada de aguas termales, que actualmente se obtiene como molécula recombinante. El procedimiento se lleva a cabo de forma automática en un equipo que se programa a las temperaturas y a los tiempos que se requieren en cada ciclo. Al final de la reacción se tienen miles de millones de copias (llamadas amplicones) de la secuencia específica que se identifican mediante uno de varios métodos de detección. El más común es la electroforesis en gel de agarosa o poliacrilamida en la que se usa un marcador de pesos moleculares para identificar la banda correspondiente al tamaño del producto resultante de la reacción. Otra posibilidad es recuperar el amplicón y someterlo a secuenciación para luego buscar en el *Gene Bank* a qué agente corresponde. Un problema serio con los métodos de PCR punto final es la contaminación de la muestra con fragmentos de DNA que se pudieron haber liberado al ambiente durante procesos llevados a cabo previamente, y son causa de reacciones positivas falsas, indiferenciables de las verdaderas. Como recomendaciones para limitar esta contaminación es disponer de cuartos independientes y separados entre sí para la preparación de muestras, la ejecución del método y la detección de los productos, además de incluir siempre controles internos positivos y negativos muy estrictos.

Modalidades de la PCR

La retrotranscripción-PCR (RT-PCR) es una de las variantes de la PCR que han acrecentado su versatilidad, ya que permite amplificar cadenas de RNA, tanto de origen viral como de RNA mensajero. El sistema es muy similar al convencional sólo que al tubo de reacción se le añade transcriptasa inversa que inicialmente copia el RNA en DNA complementario y este es el que continúa con la reacción como ya fue descrita. La PCR anidada incrementa la sensibilidad y la especificidad del procedimiento y evita la amplificación errónea de regiones no relevantes al llevarse a cabo en dos fases sucesivas; en la primera se amplifica una región extensa, que incluye a la específica, para generar un amplicón de gran tamaño y en este producto se efectúan la alineación con iniciadores internos y la amplificación de la región específica de interés.

La PCR multiplex es una variante en la cual, en el tubo de reacción, se introducen varios pares de iniciadores diferentes con el objetivo de identificar simultáneamente varios genomas que pudieran estar contenidos en la muestra o para localizar uno de los posibles agentes

a los que podría corresponder un determinado aislado. Para esto hay que estandarizar las distintas temperaturas que se necesitarían para que la alineación o las alineaciones ocurran en el mismo tubo y buscar que los amplicones resultantes sean de tamaños distintos y puedan diferenciarse con facilidad en la electroforesis en gel. La PCR permite una gran flexibilidad en cuanto a ser adaptada a otros sistemas que facilitan su automatización, por ejemplo, la tecnología Luminex conjuga las ventajas de la PCR y la lectura de resultados por citometría de flujo. Se emplean microesferas de diferentes tonos del rojo del espectro que tienen en su superficie sondas específicas para genes de los agentes que se busca determinar, conjugadas a fluorocromos. Después de amplificar los genes respectivos mediante PCR multiplex, se procede a incubar estos productos con las perlas fluorescentes y el equipo solamente detecta aquellas que se han unido a las secuencias homólogas.

En muestras clínicas de etapas muy iniciales de la enfermedad infecciosa en las que la cantidad del agente es todavía escasa, se puede hacer una amplificación previa del material genético con iniciadores de amplio espectro únicos o en multiplex. Estos iniciadores corresponden a regiones muy conservadas de los genomas de los posibles agentes que puedan ser causa de la infección; con esto, se amplifica cualquiera que sea el genoma del agente y el amplicón obtenido se lleva a secuenciación para determinar la identidad del agente etiológico, ya sea que se trate de uno conocido o de uno nuevo, genéticamente relacionado.

PCR en tiempo real

Variante que detecta y cuantifica el producto al tiempo que éste se va formando. Básicamente es similar a la PCR convencional pero, además, ofrece la ventaja de que, por las condiciones en que se lleva a cabo, se limitan mucho las posibilidades de contaminación y los resultados son mucho más confiables. Para la detección se puede utilizar un método inespecífico con un fluorocromo reportero (*SYBR Green*) que se intercala en el DNA de doble cadena naciente y sólo bajo esas condiciones emite fluorescencia; la concentración del producto se determina con referencia a una dilución estándar establecida previamente. El gran defecto de este método inespecífico es que también detecta dobles cadenas de DNA no relevante que pueden estar presentes e, incluso, dímeros de los iniciadores. Hay la opción más ventajosa de hacer la detección por un método específico con iniciadores conjugados a una molécula reportera fluorescente, que sólo se expresa cuando se está llevando a cabo una reacción

específica y eso impide que se detecten reacciones irrelevantes. En el método conocido como *Taq-Man*, el iniciador tiene unido en el extremo 5' al fluorocromo reportero y en el 3' un inhibidor (*quencher* en inglés) de la fluorescencia. Al alinearse a la cadena de DNA, entra en actividad la Taq polimerasa y en su actividad de exonucleasa 5'-3' degrada al iniciador y libera al reportero de su inhibidor, por lo que su presencia se manifiesta en forma proporcional al avance de la reacción en cada ciclo. En la adaptación multiplex se usan varios iniciadores acoplados a fluorocromos diferentes que emiten luz a distintas longitudes de onda y eso permite su identificación. La mayor limitante de la PCR en tiempo real es la dificultad en la interpretación de los datos, ya que los análisis estadísticos requeridos son muy complejos.

Microarreglos

Innovación tecnológica de impacto enorme en la biología molecular que permite analizar al mismo tiempo cientos o miles de genes. Se parte de un soporte sólido inerte, conocido como *chip*, dividido en cientos o miles de puntos microscópicos, cada uno forrado con sondas para un gen en particular. La tecnología actual permite que cada sonda sea sintetizada de manera directa sobre cada uno de los puntos y tenga un tamaño uniforme, lo cual se logra mediante un procedimiento automatizado llevado a cabo por un robot que ofrece una precisión micrométrica. En su aplicación para la identificación de agentes infecciosos, el proceso es relativamente simple: a partir de la muestra problema se obtiene el RNA que se transcribe a DNA complementario por RT-PCR, se desnaturaliza y se añade al microarreglo para que en él se lleve a cabo la hibridación entre las cadenas complementarias. Después de eliminar el exceso de reactivos por lavado, se busca el punto o los puntos donde se llevaron a cabo las hibridaciones que señalarán la identidad del o los agentes presentes en la muestra. Para identificar esos híbridos se deben marcar primero las cadenas de DNA del problema con estrategias diferentes, ya sea al conjugarlos directamente con un fluorocromo determinado y por el color de la luz emitida se localizan los híbridos formados, o al unirlos a biotina y usar avidina o estreptavidina conjugada a un fluorocromo. En todos los casos, la lectura se hace con un rastreador (escáner) automatizado provisto de un rayo láser que identifica, cuantifica y registra la luz emitida que se analiza mediante un programa computacional que informa sobre la identidad del agente o los agentes presentes en la muestra problema.

Pruebas rápidas moleculares

Al igual que las inmunológicas, las pruebas rápidas conocidas como al pie de la cama del paciente, basadas en la identificación molecular del agente, están desarrollándose a gran velocidad. Un ejemplo son los inmunoensayos magnéticos en los que se parte del principio de los ELISA pero sustituyendo al reactivo inmunoenzimático por perlas magnéticas acopladas al antígeno conocido o al anticuerpo específico, según se vaya a aplicar el procedimiento. Una vez que las perlas magnéticas son retenidas por la reacción específica, su detección la realiza un magnetómetro que detecta el cambio en el campo magnético inducido, el cual es proporcional a la cantidad del material que está participando en la reacción. Otro ejemplo notable es la disponibilidad comercial de una PCR en tiempo real totalmente automatizada para agentes infecciosos, en especial la aplicación para identificar a *M. tuberculosis* y a la vez si este es resistente a la rifampicina mediante una muestra no procesada que se introduce a un aparato cerrado que permite la captura, la concentración y la purificación del agente en estudio, su lisis para la liberación del DNA, su amplificación por PCR en tiempo real semianidado con iniciadores adecuados y un sistema de emisión de resultados, todo en un lapso de alrededor de 90 minutos y sin contaminación del equipo o desperdicio de reactivos.

EL FUTURO DEL DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE INFECCIONES

La rapidez con que se está desarrollando la tecnología aplicada al diagnóstico hace posible vislumbrar un futuro promisorio en cuanto a la disponibilidad de mejores métodos e instrumentos de gran versatilidad para determinar e identificar enfermedades infecciosas y sus agentes etiológicos. La tendencia principal es hacia el desarrollo de métodos rápidos y confiables como son los de al pie de la cama, que ya ocupan un sitio muy importante en el trabajo diario, después de haberse superado muchas limitaciones en cuanto a especificidad y sensibilidad. De igual manera, los equipos automatizados para el diagnóstico por métodos moleculares se están simplificando y con frecuencia se anuncia la disponibilidad de nuevos instrumentos y adaptaciones metodológicas de alto rendimiento. La nanotecnología, con el empleo de nanomateriales en conjunción con métodos muy novedosos, está abriendo una etapa muy promisoriosa para su aplicación en el diagnóstico de laboratorio, dada su gran facilidad de ejecución con resultados de máxima confiabilidad. Es

factible suponer que en muy pocos años muchos de estos procedimientos nuevos pasen a ser parte de la rutina diagnóstica y tal vez sustituyan los, hasta ahora, convencionales, todo en beneficio de la salud del ser humano.

BIBLIOGRAFÍA

- BELLANTI, J. A. *et al.* (eds.). 2012. *Immunology IV. Clinical Applications in Health and Disease*. I Care Press, Bethesda, MD.
- CARSON, S. *et al.* 2012. *Molecular Biology Techniques. A Classroom Laboratory Manual*. 3a. ed., Elsevier-Academic Press, Ámsterdam.
- FLISSER, A. y R. Pérez Tamayo (eds.). 2006. *Aprendizaje de la parasitología basado en problemas*. Editores de Textos Mexicanos, México, DF.
- GRODY, W. W. *et al.* (eds.). 2010. *Molecular Diagnostics: Techniques and Applications for the Clinical Laboratory*. Elsevier-Academic Press, Ámsterdam.
- JENKINS, S. G. y A. N. Schuetz. 2012. "Current Concepts in Laboratory Testing to Guide Antimicrobial Therapy", *Mayo Clinic Proceedings*. 87: 290-308.
- LEBOFFE, M. J. *et al.* (eds.). 2012. *Microbiology Laboratory Theory & Application. Brief*. 2a. ed., Morton Publishing Company, Englewood, CO.
- MURRIA, P. R. y F. G. Witebsky. 2010. "The Clinician and the Microbiology Laboratory", G. L. Mandell *et al.* (eds.), *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 7a. ed., Churchill Livingstone-Elsevier, Philadelphia, PA, pp. 233-265.
- NIEMZ, A. *et al.* 2011. "Point-of-Care Nucleic Acid Testing for Infectious Diseases", *Trends in Biotechnology*. 29: 240-250.
- THERON, J. *et al.* 2010. "Current Molecular and Emerging Nanobiotechnology Approaches for the Detection of Microbial Pathogens", *Critical Reviews in Microbiology*. 36: 318-339.

DIAGNÓSTICO POR IMAGEN

*José Luis Criales**

INTRODUCCIÓN

El uso de los métodos de diagnóstico por imagen es en la actualidad muy importante y a menudo imprescindible, en especial para confirmar un determinado diagnóstico clínico o para conocer la magnitud de la patología. En este capítulo inicialmente describiremos de manera general los diferentes métodos de diagnóstico por imagen disponibles hoy en día y posteriormente abordaremos la patología más frecuente o interesante haciendo una división por aparatos y sistemas y enfatizando en la utilidad de los métodos de imagen para el diagnóstico de enfermedades infecciosas.

MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEN

Radiografía simple (Rx)

Puede emplearse en su forma convencional o, más recientemente, con los sistemas digitales; estos últimos han mejorado la resolución de los estudios, facilitan el archivo de imágenes en formato digital, permiten ahorrar debido a que puede obviarse la impresión en película radiográfica y hacen posible la transferencia de imágenes por vía electrónica para diagnóstico remoto (teleradiología). Los estudios radiográficos pueden hacerse también utilizando diversos contrastes; por ejemplo, bario para examinar el tracto digestivo o contraste yodado como en el caso de la urografía excretora; estos exámenes contrastados aún tienen utilidad en situaciones específicas.

* CT Scanner del Sur, jcrales@att.net.mx.

Ultrasonido (US)

Es un método de fácil implementación; relativamente económico, muy útil en diversas circunstancias; sin embargo, en mayor grado dependiente de la habilidad y de la experiencia de la persona que realiza el examen; una de sus principales ventajas es inferir la naturaleza quística o sólida de las lesiones. El método puede usarse con la modalidad de Doppler a color, lo que permite evaluar de manera más objetiva las estructuras vasculares arteriales y venosas o la vascularidad de lesiones ocupativas.

Tomografía computada (CT)

Desde que se puso en funcionamiento en los años setenta, se ha convertido en una herramienta fundamental para el diagnóstico de diversas patologías; inicialmente se usó en el sistema nervioso central y después de manera vertiginosa en las demás áreas del cuerpo humano. El avance de esta tecnología ha sido vertiginoso; en la actualidad se utilizan equipos multidetector o multicorte (TCMD) o de energía dual con los que es posible obtener imágenes de alta resolución y reconstrucciones multiplanares y en 3D de gran calidad, en especial de las estructuras vasculares.

Resonancia magnética (RM)

Es el método ideal para la caracterización de los tejidos. Utiliza un campo magnético y ondas de radiofrecuencia. La secuencia más empleada se denomina *spin echo* cuyas imágenes con regularidad se obtienen con tiempos de relajación denominados T1 y T2; más recientemente se utilizan otras secuencias como FLAIR y difusión; se usan también secuencias especiales para demostrar los tractos del sistema nervioso, es la llamada tractografía y es posible hacer un estudio de los metabolitos que contiene cada tejido, es la denominada espectroscopia.

PET/CT

En este método se combinan dos modalidades, utilizadas simultáneamente: por un lado, la tomografía por emisión de positrones (PET), que proporciona información funcional de los tejidos a nivel molecular, y por el otro, la tomografía computada (CT) que da información morfológica detallada de las estructuras evaluadas. Para su aplicación se utilizan diversos radioisótopos o radiotrazadores; el que se usa con más frecuencia es la ¹⁸F₂FDG, un análogo de la glucosa que sigue la vía

metabólica de la misma y permite así reconocer aquellas células que consumen más glucosa como son las de tipo tumoral o de origen inflamatorio-infeccioso; también hay varios otros trazadores nuevos.

SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

Cerebritis piogénica y abscesos

Se originan por extensión directa en casos de trauma, cirugía, sinusitis y otomastoiditis, entre otras, o por diseminación hematológica secundaria a infecciones pulmonares, endocarditis o cardiopatía congénita. Lo más común es la infección por anaerobios. El patógeno más común después de trauma o cirugía es el *Staphylococcus aureus*. Con menor frecuencia puede haber infecciones por gérmenes Gram-negativos, listeria o nocardia. En la diseminación hematológica hay mayor compromiso de los lóbulos frontales y parietales; en caso de diseminación directa por sinusitis, la mayor afección es en los lóbulos frontales; las otomastoiditis comprometen principalmente a los lóbulos temporales o al cerebelo.

La CT y la RM son fundamentales para el diagnóstico, los cambios observados con estos métodos se correlacionan de manera estrecha con la fisiopatología. En los procesos infecciosos cerebrales se consideran cuatro etapas: cerebritis temprana, cerebritis tardía, formación de cápsula temprana y cápsula tardía. En la cerebritis temprana, pocos días después del inicio de la infección, el parénquima se vuelve edematoso con presencia de necrosis central ocupada por polimorfonucleares, linfocitos y células plasmáticas; la CT puede ser normal en etapa temprana o puede verse una zona hipodensa de margen mal definido con mínimo efecto de masa y con algunas áreas de reforzamiento con el contraste. En RM son áreas hiperintensas en T2 y FLAIR, e hipointensas en T1; el reforzamiento con gadolinio es inconstante en este estadio. La cerebritis tardía se desarrolla aproximadamente una semana después del inicio de la infección, hay proliferación vascular en la periferia del proceso, se forma un borde irregular; la porción necrótica central se hace más grande, en RM; aumenta su señal en FLAIR y T2. La formación de cápsula temprana ocurre alrededor de dos semanas a partir del inicio de la infección, en el margen de la lesión se forma una cápsula de colágena y reticulina; en los exámenes contrastados de CT y RM se advierte un borde lineal de reforzamiento que, debido al centro necrótico, forma una imagen anular. Lo anterior se asocia a edema vasogénico (fig. 1). En la cápsula tardía, la pared de colágeno se hace más completa, el borde es más delgado y nítido.



FIGURA 1.

Encefalitis por *listeria monocytogenes*

Afecta a pacientes inmunocomprometidos principalmente. El microorganismo puede producir meningitis, meningoencefalitis y abscesos. La forma más frecuente de afección es una romboencefalitis que involucra el tallo cerebral y el cerebelo, en RM son áreas de señal anormal en el tallo y en los tractos de sustancia blanca (fig. 2).

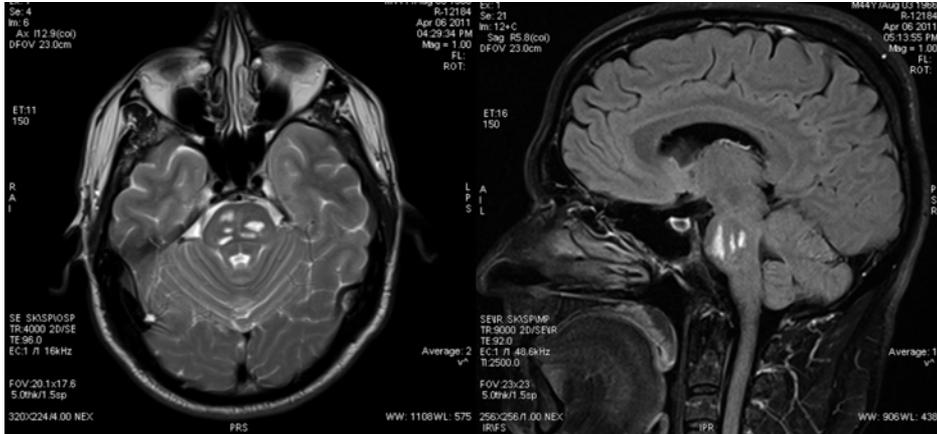


FIGURA 2.

Infecciones por micobacterias

La forma más frecuente es la meningitis causada por *Mycobacterium tuberculosis*; en pacientes inmunosuprimidos el agente responsable puede ser *M. avium intracellulare*. La enfermedad se disemina a las meninges desde los pulmones; sin embargo, las radiografías del tórax de estos pacientes suelen ser normales hasta en 40% a 75% de los casos. En

las CT y RM se ve engrosamiento y reforzamiento anormal de las meninges especialmente a nivel de las cisternas basales, lo que a menudo se asocia con vasculitis e infartos (fig. 3).

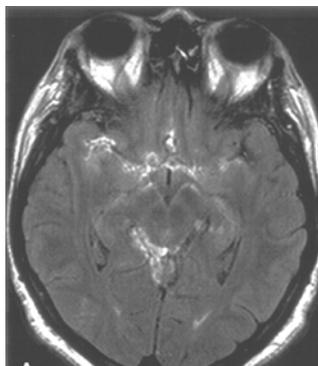


FIGURA 3.

Otra variedad de infección micobacteriana es el tuberculoma, aún frecuente en países en vías de desarrollo. Afecta a personas en los extremos de la vida, en los adultos son más constantes las lesiones supratentoriales, la localización infratentorial es más habitual en los niños. En CT se ven como lesiones nodulares isodensas o ligeramente hiperdensas, refuerzan en forma anular y su porción central es densa lo que les da apariencia en “diana”. En RM el centro es hipo o hiperintenso en T2, según el tamaño de la lesión, la pared de las lesiones es en general hipointensa en T2; el edema perilesional es mínimo (fig. 4).

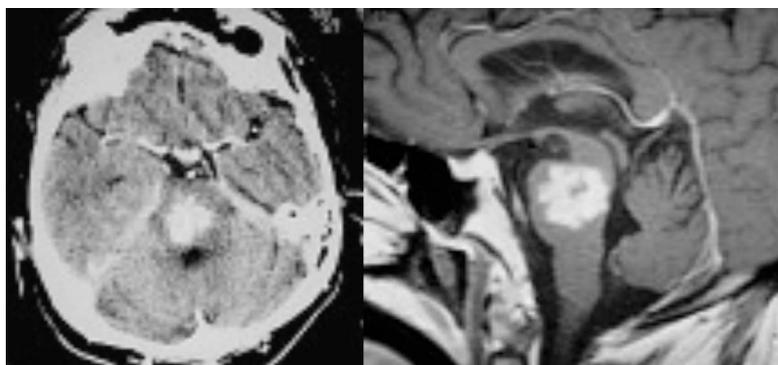


FIGURA 4.

Infecciones parasitarias

La más repetida en América Latina es la cisticercosis, causada por la larva de la *Taenia solium*. Las lesiones pueden ser parenquimatosas (las

más comunes), del espacio subaracnoideo, intraventriculares y muy rara vez espinales. Las lesiones parenquimatosas, habitualmente son supratentoriales, se localizan entre la sustancia gris y la blanca, según su evolución, pueden encontrarse en cuatro fases: vesicular, coloidal, nodular granular y nodular calcificada (fig. 5).

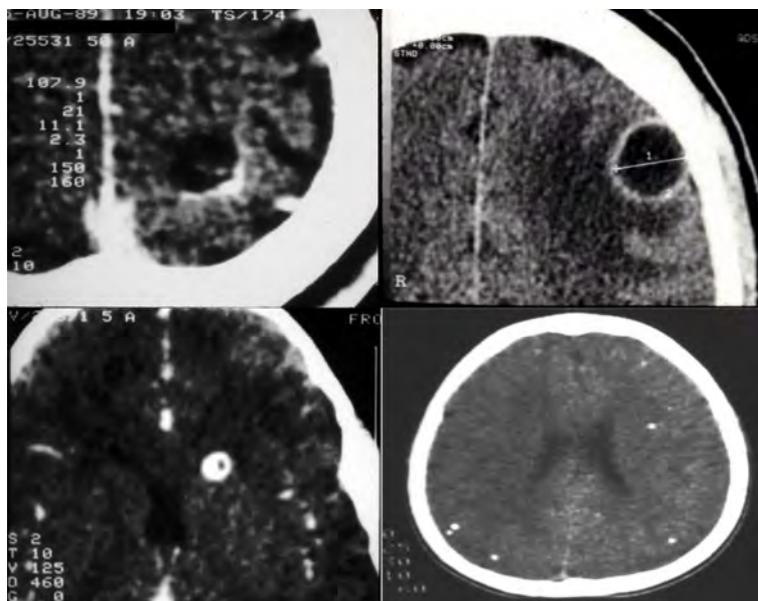


FIGURA 5.

Las lesiones en fase vesicular son redondas, de contorno nítido, su densidad en CT y su señal en RM son similares al líquido cefalorraquídeo, pueden tener una imagen más densa en la periferia que es el escólex, generalmente no se asocian a edema significativo; cuando el quiste muere, la densidad de las lesiones aumenta, se hace coloide, el contenido sale al parenquima vecino y genera un proceso inflamatorio, el cual se manifiesta con reforzamiento después de inyectar contraste; luego, en la fase granular la lesión se hace más pequeña y tiene mayor reforzamiento; finalmente está la lesión calcificada.

Las lesiones intraventriculares (fig. 6) son similares en evolución y en apariencia a las parenquimatosas; se pueden encontrar en cualquier parte del sistema ventricular, se asocian a ependimitis, pueden producir obstrucción, en especial del foramen del Monro o del acueducto de Silvio. Cuando son quísticas es difícil diferenciarlas del líquido cefalorraquídeo; para esto es mejor la RM que la CT.

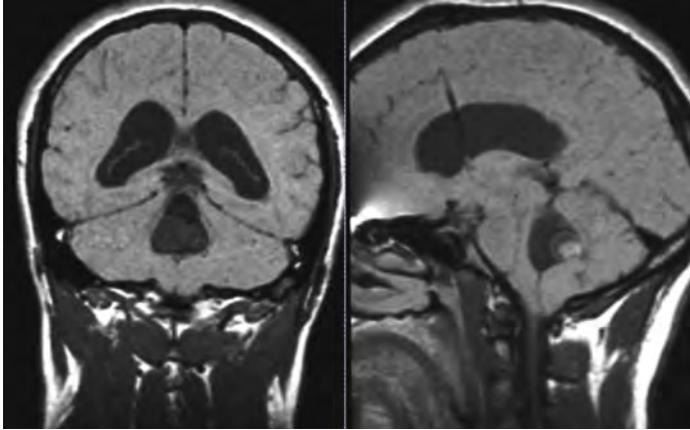


FIGURA 6.

Las lesiones del espacio subaracnoideo se conocen generalmente como *racemosas* porque los cisticercos se transforman del tipo celuloso al racemoso; se sitúan por lo regular en las cisternas de la base donde forman racimos que se acomodan en las cisternas y en los surcos cerebrales (fig. 7). La cisticercosis espinal suele ser intradural pero puede ser intramedular o extramedular.

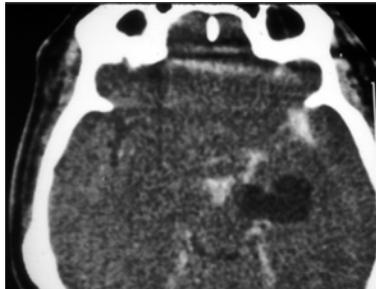


FIGURA 7.

Otras infecciones parasitarias

La enfermedad hidatídica o equinococosis afecta de manera habitual al pulmón y al hígado, el compromiso del cerebro varía entre 1% y 4%; las lesiones son de tipo quístico y su densidad en CT y su señal en RM son similares al líquido cefalorraquídeo. La toxoplasmosis puede ser congénita o adquirida; esta última es más frecuente en pacientes con SIDA. La forma congénita se produce cuando la madre se infecta durante el embarazo; el feto sufre una encefalitis difusa destructiva. En los estudios de imagen se ve atrofia severa con dilatación de los ventrículos y las calcificaciones en la sustancia blanca periventricular, en los hemisferios cerebrales y en los núcleos basales; esto

último ayuda a diferenciarla de la infección por citomegalovirus, en la cual las calcificaciones son exclusivamente periventriculares.

Infecciones virales

Las más comunes incluyen citomegalovirus, herpes simple, varicela zoster y VIH. La encefalitis por *Herpes simplex* ocurre con mayor frecuencia en neonatos cuando el producto atraviesa el canal del parto de una madre que tiene el virus herpes genital (tipo 2); éste produce una severa encefalitis y, si el niño sobrevive, en los estudios de imagen en etapa temprana se ve edema difuso y más tarde diversos grados de encefalomalacia que pueden demostrarse con US transcraneal, CT o RM. En los adultos la infección por *Herpes simplex* puede producir encefalitis o neuritis. En CT, los signos no son evidentes hasta el 5° día después del inicio de los síntomas; habitualmente son áreas hipodensas difusas en los lóbulos temporales. En RM se ven áreas hiperintensas en T2 y FLAIR en los lóbulos temporales o frontales, respetando el putamen (fig. 8).

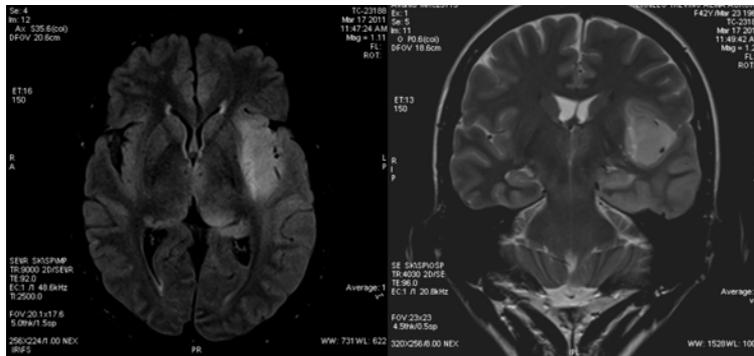


FIGURA 8.

CABEZA Y CUELLO

Sinusitis aguda y crónica

Es la patología más común que afecta a la nariz y a las cavidades paranasales. Aunque los senos paranasales pueden estudiarse con radiografías simples, el método más útil y sensible para su exploración es la CT, en especial en imágenes en el plano coronal que demuestran mejor la anatomía del ostium de los senos maxilares y de la unidad ostiometal anterior que son un punto clave para evaluar el sistema de drenaje mucoso de los senos paranasales (fig. 9).

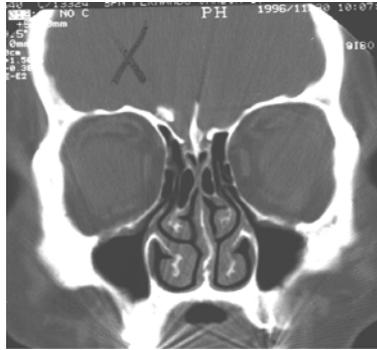


FIGURA 9.

La patología inflamatoria puede manifestarse como un mínimo engrosamiento de la mucosa en pacientes asintomáticos (fig. 10), hasta secreciones extensas que forman niveles hidroaéreos en casos de sinusitis aguda (fig. 11). En los pacientes con infección crónica es frecuente la presencia de engrosamiento de las paredes de las cavidades por osteítis y presencia de lesiones de mayor densidad en su interior por infecciones de origen micótico (fig. 12).

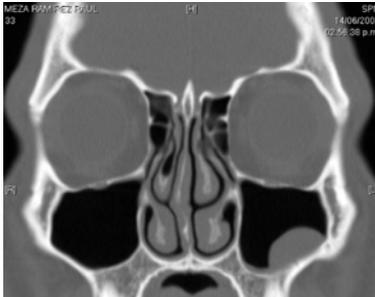


FIGURA 10.

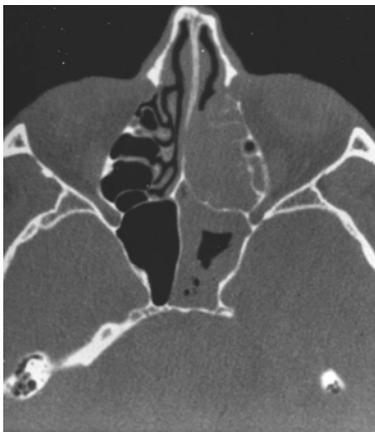


FIGURA 11.



FIGURA 12.

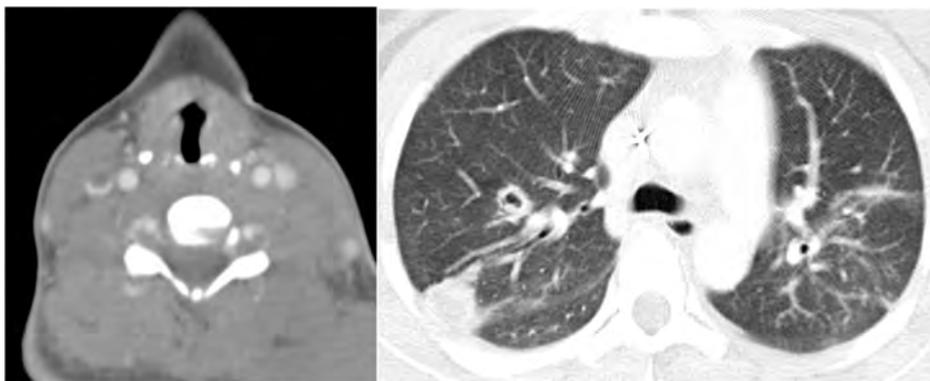


FIGURA 14.

INFECCIONES PULMONARES

Mecanismos de diseminación y patrones radiológicos

El aparato respiratorio está en estrecho contacto con la atmósfera, debido a ello está expuesto a múltiples microorganismos que, transportados por el aire y por el aparato traqueobronquial, producen infecciones pulmonares; otras vías de diseminación son la vascular y la que ocurre por contiguidad con una infección vecina. La diseminación traqueobronquial tiene tres subtipos basados en su fisiopatología que correlacionan con los patrones radiográficos: neumonía lobar, típica de infecciones por neumococo; bronconeumonía, habitual en las infecciones por estafilococo; y neumonía intersticial, que se presenta en infecciones virales y por micoplasma.

Neumonías por bacterias Gram-positivas

La más frecuente adquirida en la comunidad es la producida por *Streptococcus pneumoniae* (neumococo); puede afectar a sujetos previamente sanos, sin embargo, se ve con mayor frecuencia en ancianos, alcohólicos e inmunocomprometidos. Primero afecta a los lóbulos inferiores o a los segmentos posteriores de los lóbulos superiores; en etapa temprana daña la porción distal de la vía aérea pero con rapidez el proceso disemina al espacio aéreo y a través de los canales interalveolares tiene extensión lobar. La apariencia radiográfica típica es la de patrón acinar (alveolar) con opacidades tenues confluentes que ocupan el espacio aéreo y respetan los bronquios y los bronquiolos con imagen de *broncograma aéreo* (fig. 15). La cavitación es rara, con excepción de las infecciones causadas por el serotipo 3.



FIGURA 15.

La neumonía producida por *Staphylococcus aureus* es más común en pacientes hospitalizados o debilitados. Se puede producir por diseminación hematogena en enfermos con endocarditis o en aquellos que tienen catéteres, así como en los adictos a drogas de uso endovenoso. El *S. aureus* produce un patrón de bronconeumonía con formación de opacidades “en parches”, las lesiones generalmente son bilaterales; en casos más graves, las opacidades pueden confluir y formar consolidaciones grandes o convertirse en abscesos. La asociación con derrames pleurales paraneumónicos es frecuente. En niños suelen verse neumatoceles y, eventualmente, neumotórax.

Neumonías por bacterias Gram-negativas

Son responsables de cerca de 50% de las infecciones nosocomiales; los microorganismos más frecuentes son las enterobacterias *Klebsiella*, *Escherichia coli* y *Proteus*, así como *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* y *Legionella pneumophila*. La neumonía por *Klebsiella* es más constante en pacientes debilitados, hospitalizados, ancianos o alcohólicos. En radiología se caracteriza por consolidaciones lobares que se distinguen de las neumonías por neumococo con base en tres características:

1. Son producidas por un exudado inflamatorio exuberante que genera abombamiento de las cisuras (fig. 16).
2. La formación de cavidades y abscesos es más frecuente que en las neumonías por neumococo.
3. La incidencia de derrame pleural y empiema es muy alta.



FIGURA 16.

INFECCIONES ATÍPICAS

La más frecuente es la producida por *Mycoplasma pneumoniae*. Al inicio de la enfermedad la apariencia radiográfica es la de un patrón reticular fino que con el tiempo cambia a opacidades “en parches” segmentarias que a menudo coalescen para formar consolidaciones lobares; en CT además se pueden ver imágenes como “árbol en yema” por compromiso bronquiolar. Es usual la asociación con derrame pleural.

Infecciones por micobacterias

La que más se presenta, especialmente en América Latina, es la producida por *Mycobacterium tuberculosis*; desde el punto de vista clínico y radiográfico se reconocen dos formas principales de tuberculosis pulmonar: primaria y posprimaria o de reinfección. Una vez aspirado el bacilo genera una respuesta inmune de tipo celular; en muchos pacientes el bacilo es fagocitado y eliminado por los macrófagos; si el bacilo sobrepasa a la respuesta inmune se desarrolla un foco inflamatorio que evoluciona a la formación de un granuloma (foco de Ghon) y, entonces, si tiene una manifestación radiológica evidente que es la presencia de una lesión inicialmente tenue y después de aspecto nodular que tiene necrosis caseosa central (fig. 17), el granuloma se asocia a ganglios hiliares y/o mediastinales regionales (complejo de Ranke). En la tuberculosis primaria, la enfermedad parenquimatosa suele resolverse por completo o puede quedar una cicatriz o una calcificación residual (fig. 18).

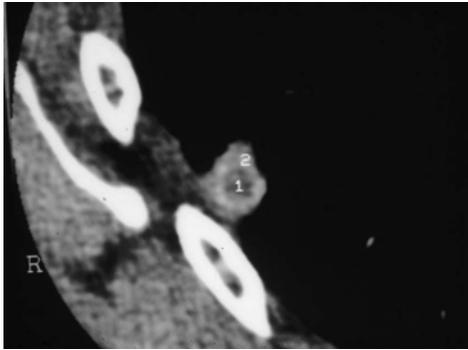


FIGURA 17.



FIGURA 18.

La tuberculosis posprimaria o de reinfección se asocia a síntomas sistémicos tóxico-infecciosos. La reactivación ocurre, por lo general, en los segmentos posteriores de los lóbulos superiores o en los segmentos anteriores de los lóbulos inferiores. Habitualmente se observan opacidades mal definidas (fig. 19), nódulos o zonas de consolidación (fig. 20). La cavitación o la formación de “cavernas” es muy frecuente y es un signo radiológico de proceso infeccioso activo (fig. 21) que se asocia a adenomegalia regional con ganglios hipodensos o de apariencia heterogénea. Cuando un foco tuberculoso activo se disemina por vía linfohematógena se denomina tuberculosis miliar, que es un cuadro asociado a alta mortalidad y es un poco más frecuente en pacientes inmunocomprometidos; por imagen se ven múltiples nódulos de tamaño pequeño, con un diámetro promedio de 2mm, los cuales son más evidentes en los lóbulos superiores (fig. 22).

Infecciones micóticas

Los hongos causan afección por diversos mecanismos, en general producen procesos granulomatosos de tipo necrotizante. La infección por *Histoplasma capsulatum* es endémica en algunas regiones de Norteamérica; la mayoría de las infecciones son asintomáticas. En las radiografías del



FIGURA 19.

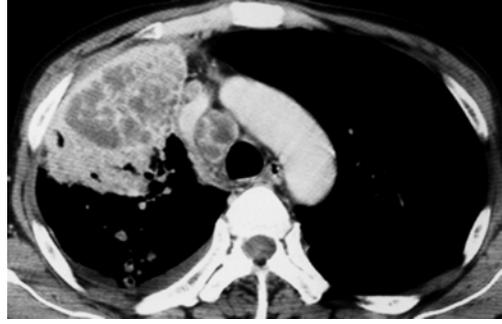


FIGURA 20.



FIGURA 21.



FIGURA 22.

tórax en la fase aguda pueden verse opacidades segmentarias de aspecto acinar; en etapa crónica se observan múltiples nódulos bien definidos, calcificados y asociados o no con ganglios hiliares o mediastinales calcificados. *Coccidioides immitis* desde el punto de vista clínico y radiológico puede manifestarse en cuatro tipos: agudo, persistente, crónico progresivo y diseminado.

En términos generales, las lesiones son opacidades multifocales, segmentarias, que ocupan el espacio aéreo; pueden asociarse a adenomegalia o a derrame pleural. *Cryptococcus neoformans* es la causa más frecuente de infección micótica en pacientes con SIDA, aunque puede afectar a personas inmunosuprimidas por otras causas. El pulmón suele ser la puerta de entrada para la diseminación posterior del microorganismo a otros órganos. En el pulmón se ven varios patrones, lo más común son nódulos o masas únicos o múltiples, áreas de ocupación del espacio aéreo (fig. 23), o patrón miliar. En los individuos inmunosuprimidos pueden verse cavitaciones, linfadenopatía y derrame pleural.

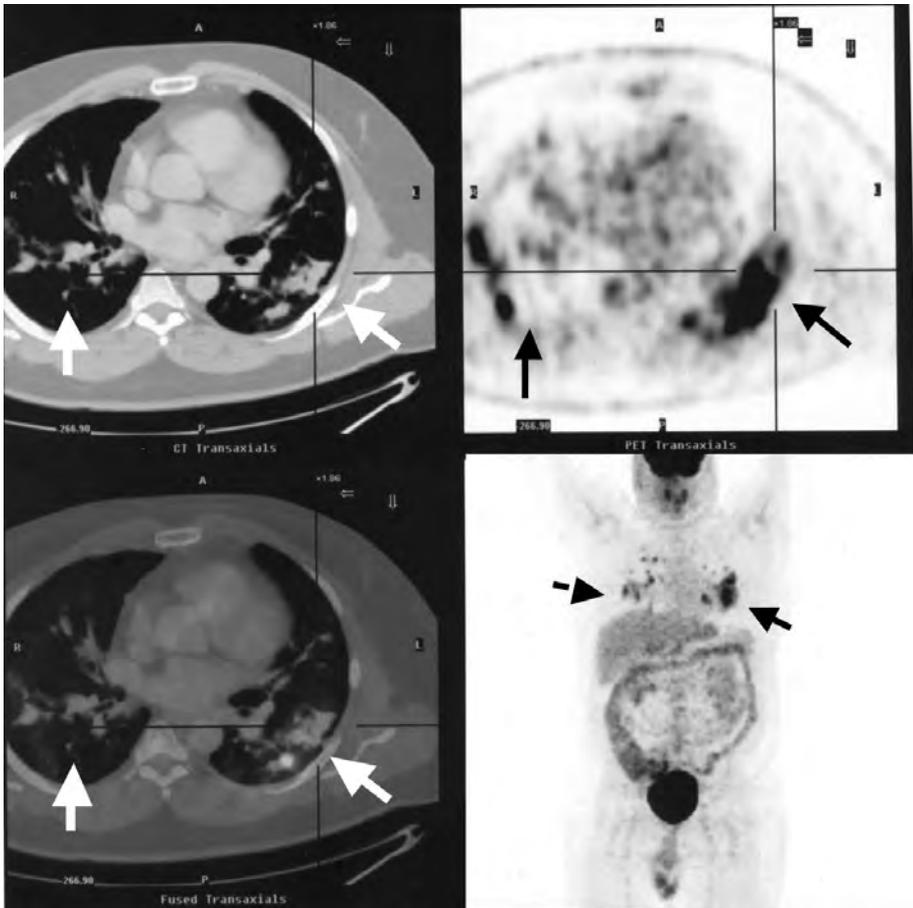


FIGURA 23.

APARATO GASTROINTESTINAL

Helicobacter pylori

Se ha identificado como la principal causa de gastritis crónica, duodenitis, úlceras duodenales y gástricas benignas y de lesiones neoplásicas del tipo del adenocarcinoma gástrico y el linfoma tipo MALT. *H. pylori* es un bacilo espiral Gram-negativo que coloniza el estómago y sobrevive a la acción de los ácidos gástricos gracias a una poderosa enzima de ureasa que crea un ambiente más alcalino propicio para su desarrollo.

La prevalencia de la infección es mayor a mayor edad, se calcula que supera 50% en mayores de 60 años. *H. pylori* es responsable de alrededor de 70% de las úlceras gástricas (fig. 24), 95% de las úlceras duodenales (fig. 25) y se cree que es responsable de 50% de los carcinomas gástricos.

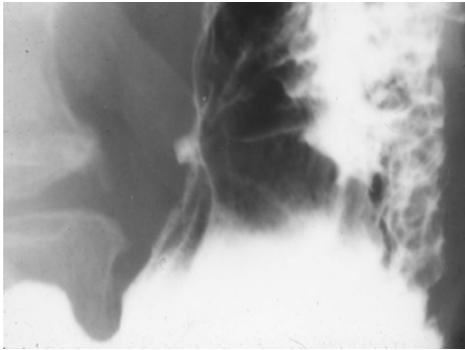


FIGURA 24.

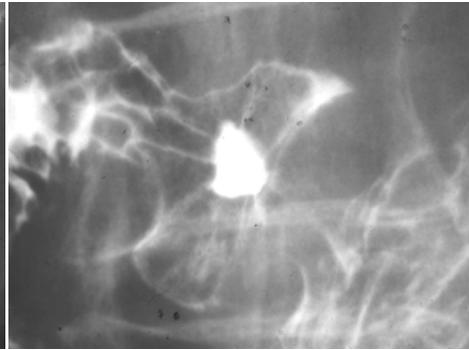


FIGURA 25.

Apendicitis

Es causa muy frecuente de infección del tracto gastrointestinal; puede deberse a obstrucción del lumen apendicular por hiperplasia linfoide, fecalitos, cuerpo extraño y parásitos entre otros. El diagnóstico se basa a menudo en la clínica y en los datos de laboratorio; sin embargo, en los últimos años, la imagen diagnóstica ha alcanzado un rol muy importante, especialmente en casos dudosos. Las radiografías simples muestran anomalías, por ejemplo puede verse una calcificación intrapendicular (apendicolito), otros hallazgos son aire líquido en el ciego y en el ilion terminal, y pérdida de las líneas grasas, entre otros. El US tiene una sensibilidad promedio de 90% y especificidad de 95%; el dato más confiable es un diámetro transversal seccional del apéndice igual o mayor a 6 mm. El método más preciso de diagnóstico es la CT que tiene una sensibilidad de 98% y especificidad de 97%; los hallazgos más presentados son engrosamiento circunferencial de las paredes del apéndice, apendicolito, incremento en la densidad, estriación de grasa periapendicular, flemón y, en los casos más avanzados, formación de abscesos (fig. 26).



FIGURA 26.

Diverticulitis

Ocurre por la perforación de un divertículo intramural. La localización más frecuente es en el colon sigmoideas; el diagnóstico puede hacerse con enema baritado en el que suele observarse además de los divertículos, zonas de estrechez y contraste extraluminal. En la actualidad se prefiere evaluar a los pacientes con sospecha de diverticulitis con CT por su precisión y por tratarse de un método muy poco invasivo. Los hallazgos habituales de diverticulitis en CT son estrechez, engrosamiento de la pared colónica, estriación de la grasa, abscesos y eventualmente presencia de fístulas (fig. 27).

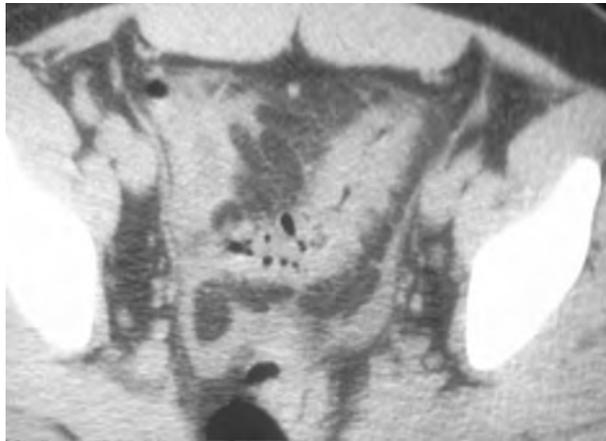


FIGURA 27.

Amibiasis

La colitis por *Entamoeba histolytica* es frecuente en diversas áreas geográficas, especialmente en lugares de clima cálido y en sitios con servicios sanitarios y de provisión de agua potable deficientes. Los trofozoítos invaden la mucosa y la submucosa intestinal y producen pequeñas úlceras. En el examen baritado del colon se observa pérdida del patrón habitual de las haustras, el intestino tiene un patrón granular debido a una combinación de úlceras y edema; las úlceras tienen una apariencia característica en "forma de botón", los segmentos más afectados son el ciego y el colon ascendente por la relativa éstasis en estos sitios. Con menor frecuencia se ven amebomas, los cuales son granulomas hiperplásicos con sobreinfección bacteriana del proceso amibiano; se trata de lesiones ocupativas a menudo de aspecto concéntrico que reducen el calibre de la luz intestinal; estos amebomas son más evidentes en estudios de CT (fig. 28).



FIGURA 28.

Peritonitis tuberculosa

Es una manifestación poco frecuente de la tuberculosis, su diagnóstico es difícil; es más constante en pacientes inmunosuprimidos o en asociación con otras enfermedades como cirrosis o diabetes. La diseminación puede ser secundaria a un foco a distancia como el pulmón o la diseminación de ganglios intraabdominales comprometidos, con menos incidencia se ha descrito diseminación secundaria a tuberculosis genitourinaria. Los hallazgos en TC son poco específicos, lo más común es engrosamiento peritoneal, pequeños nódulos en la grasa mesentérica y ascitis muchas veces loculada (fig. 29).

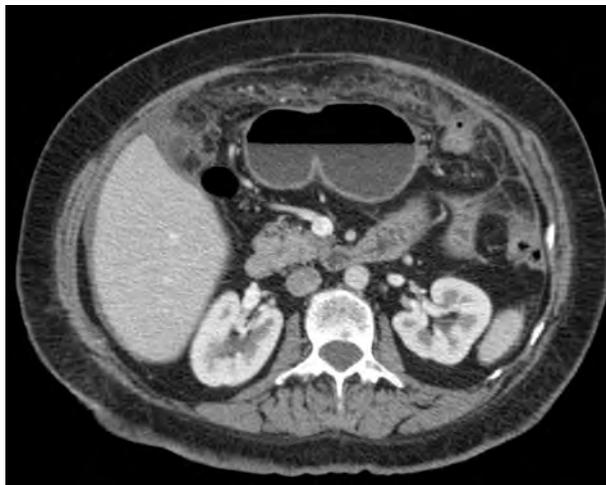


FIGURA 29.

HÍGADO

Hay múltiples procesos infecciosos que afectan al hígado aunque sólo se hará referencia a aquellos que tienen expresión florida y apariencia más específica en los estudios de imagen.

Absceso hepático amibiano

La amebiasis hepática es una manifestación grave de infección diseminada, se produce en menos de 1% de individuos infectados. Los trofozoítos de *Entamoeba histolytica* pueden invadir la mucosa del colon e ingresar al sistema porta para llegar al hígado donde la mayoría se lisan; sin embargo algunos sobreviven y desarrollan su actividad histolítica, generando microabscesos que posteriormente progresan en tamaño, en especial en el lóbulo derecho. El US es el método de imagen en el que se suele demostrar la presencia de los abscesos amibianos, a menudo son lesiones únicas, redondeadas de contorno nítido, hipoecóicas con ecos internos por la presencia de detritus y con reforzamiento posterior. En TC son lesiones hipodensas, con coeficientes de atenuación ligeramente mayores que el líquido, de margen nítida, en las que después de inyectar contraste se observa una pared característica de “triple línea” (fig. 30); estas lesiones se pueden romper al espacio pleural.



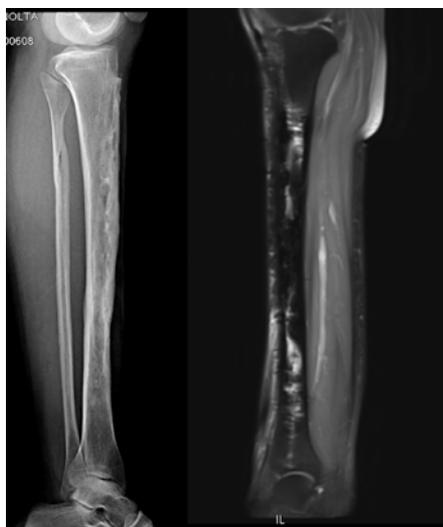
FIGURA 30.

SISTEMA OSTEOARTICULAR

Osteomielitis

La osteomielitis es una inflamación de los huesos causada por un organismo infectante. La infección puede estar limitada a una única parte del

hueso o puede afectar varias áreas. Por lo general, la infección se debe a un único organismo; sin embargo, pueden producirse infecciones poli-microbianas (causadas por bacterias y hongos diferentes), en especial, en pacientes con diabetes. Las personas pueden desarrollar una infección en los huesos a cualquier edad, si bien es más común en niños y en personas mayores de 50 años. La Rx continúa siendo el primer paso en el estudio del paciente con sospecha clínica de infección musculoesquelética, a pesar de no ser el método más sensible ni específico. Es barata, accesible, puede sugerir el diagnóstico así como excluir o mostrar otras patologías que puedan estar causando los síntomas y se pueden manifestar hallazgos recientes desde el décimo día. El método tiene una sensibilidad que varía entre 43% y 75% y una especificidad de 75% a 83%. Por lo tanto, un resultado positivo es diagnóstico, pero uno negativo no la excluye. Los signos radiográficos tempranos son aumento de volumen de las partes blandas y obliteración de los planos grasos y musculares adyacentes, reacción perióstica y destrucción ósea cortical. A medida que progresa la infección se ve osteoporosis localizada, destrucción del hueso trabecular, mayor destrucción ósea y reacción perióstica, así como formación de hueso nuevo reactivo (fig. 31A).



FIGURAS 31A Y 31B.

El absceso de Brodie se observa como una lesión lítica redondeada, relativamente bien delimitada, rodeada de un halo esclerótico. La TC tiene excelente resolución espacial, además da gran definición del hueso cortical y su compromiso, con evaluación razonable de las partes blandas. La

TC también es útil para la evaluación de huesos planos como la escápula y las costillas. Los equipos multicorte actuales permiten visualizar mayor detalle trabecular óseo, disminución de los artefactos por elementos metálicos de osteosíntesis y reconstrucciones volumétricas y tridimensionales, en distintos planos. La TC es útil en procedimientos guiados bajo imagen como biopsias, punciones o aspiración. La RM tiene mejor detección temprana, permite delimitar la extensión del compromiso óseo y de partes blandas. Además ofrece imágenes multiplanares, siendo la mejor modalidad disponible para la evaluación de osteomielitis. El método tiene alta sensibilidad por el buen contraste tisular de la médula ósea normal y la anormal, dado por las secuencias con saturación grasa principalmente, donde las lesiones con gran contenido de agua, como el edema, la osteomielitis y los tumores, se hacen más evidentes. El edema óseo no es específico y se puede ver también en otros procesos como hematomas, fracturas, infartos o neoplasias. El edema medular aparece de baja señal en secuencias potenciadas en T1 y de alta señal (brillante) en secuencias potenciadas en T2 o con saturación grasa (FatSat). Las partes blandas adyacentes que también se afectan se ven con aumento de señal difuso o localizado en secuencias T2 o STIR. Una desventaja es que el edema óseo puede durar meses después de la resolución de la infección. Sin embargo, pacientes con osteomielitis crónica pueden ser seguidos por la aparición de recurrencias. Otra limitación son los artefactos en la imagen producidos por elementos metálicos de osteosíntesis o protésicos. La RM tiene una sensibilidad de 82% a 100% y una especificidad de 75% a 96% para el diagnóstico de osteomielitis (fig. 31B).

BIBLIOGRAFÍA

- BHALLA, M. y T. C. McLoud. 1998. "Pulmonary Infections in the Normal Host", T. C. McLoud, *Thoracic Radiology*. Mosby, St. Louis, pp. 122-130.
- BRANDT, W. E. y C. A. Helms. 2007. *Fundamentals of Diagnostic Radiology*. 3a. ed., Lippincot Williams & Wilkins, Philadelphia.
- BUSHBERG, J. T. et al. 2001. *The Essential Physics of Medical Imaging*. 2a. ed., Lippincot Williams & Wilkins, Baltimore.
- CODY, D. D. 2002. "Image processing in CT", *RadioGraphics*. 22: 1255-1268.
- LEUNG, A. L. 1999. "Pulmonary tuberculosis: the essentials", *Radiology*. 210: 307-322.
- OSBORN, A. 2004. *Diagnostic Imaging: Brain*. AMIRSYSW, Salt Lake City.
- PEDROSA, C. S. y R. Casanova. 2000. *Diagnóstico por Imagen. Tratado de radiología clínica*. 2a. ed., vol. 2, Mc Graw Hill, Interamericana, Madrid.

NOSOLOGÍA INFECCIOSA

*Alberto Lifshitz**

La infección es el resultado de una interacción entre los microorganismos y los huéspedes (también llamados hospederos u hospedadores) que representa una parte considerable de las enfermedades contemporáneas. No obstante, no todas las interacciones corresponden estrictamente a infecciones, pues ello depende de la dosis de microorganismos, su virulencia, su patogenicidad y de las condiciones del huésped. En este capítulo se analizan algunas de estas interacciones y las principales manifestaciones de infección, con énfasis en los aspectos clínicos. El espectro va desde lo inaparente e inocuo hasta la infección masiva y fatal.

El término infección puede ser visto como la presencia de un organismo dentro de otro llamado huésped, pero en general se refiere a la invasión de los tejidos por estos microorganismos que se reproducen en su seno. Se refiere a una forma particular de colonización en la que el colonizado u hospederero sufre un daño y la relación entre hospederero y colonizante se define como parasitaria. Cuando provoca síntomas o trastornos en el funcionamiento de los órganos invadidos se habla de enfermedad infecciosa. La infección bacteriana transcurre en tres etapas: adherencia, resistencia a la reacción inmune y ataque tisular. Las infecciones pueden ser localizadas o generalizadas, agudas o crónicas, primarias o secundarias. La infección localizada se restringe a un órgano o a parte de él (infección focal); la infección aguda es la que tiene poco tiempo de evolución; la infección secundaria es la que ocurre encima o como consecuencia de una enfermedad previa. También hay que dis-

* Secretario de Enseñanza Clínica de la Facultad de Medicina de la UNAM, alifshitzg@yahoo.com.

tinguir el término sobreinfección (algunos lo traducen del inglés como superinfección) que refiere a que en un individuo previamente infectado ocurre una nueva infección, con frecuencia relacionada con el uso de antimicrobianos. La coinfección es cuando varios microorganismos la producen, puede ser incluso una combinación de virus, de bacterias y de hongos. Cuando se trata de varias bacterias se le suele llamar infección polimicrobiana o polibacteriana. También se utiliza el término de infección mixta cuando existe esta combinación de agentes microbianos. Hay infecciones endógenas, producidas por microorganismos que se encontraban ya dentro del individuo enfermo, e infecciones exógenas por microbios que proceden de fuera del individuo que enferma, ya sea mediante contagio de otro enfermo o por la exposición a un objeto contaminado. En relación con los parásitos como protozoarios, helmintos o ectoparásitos se emplea el término infección.

Un paso previo a la infección es la colonización, que es la aparición de nuevos microorganismos en un individuo. Se empieza a colonizar un individuo en el canal del parto y horas después del nacimiento todas las superficies están colonizadas por microorganismos llamados comensales. La hospitalización propicia la colonización por cepas de hospital, lo cual no implica infección pero puede ser el primer paso para ello. De hecho, muchas medidas higiénicas en los hospitales tienen el propósito de evitar la colonización. Si en la piel o en las vías respiratorias se identifica algún microbio que antes no existía se puede decir que el tejido ha sido colonizado. El término también se aplica a la situación de la microbiota que está colonizando el cuerpo. En la infección, a diferencia de la colonización, se rebasan las barreras de la piel y de las mucosas y los microbios penetran al espacio interno, lo que provoca una respuesta inmune en el huésped. En la colonización, la carga bacteriana no causa daño tisular y no se interrumpe el proceso de cicatrización.

Conviene distinguir la colonización de la contaminación, término que suele referirse a superficies inertes y que alude a la presencia de microorganismos en la superficie de los objetos. De hecho, para fines prácticos, se considera que todos los objetos están contaminados, salvo que hayan sido esterilizados de alguna manera.

La presencia de microorganismos en líquidos que normalmente son estériles, como la orina y la sangre, se suele referir como bacteriuria y bacteremia (también se le nombra bacteriemia). Por supuesto que cuando son virus se llama viremia y cuando son hongos fungemia. Los términos no necesariamente tienen la connotación de enfermedad infecciosa pues la bacteremia muchas veces ocurre de manera inadvertida,

por ejemplo cuando se manipulan superficies casi siempre colonizadas como la boca, el tubo digestivo o la piel. Las extracciones dentarias, por ejemplo, se acompañan del paso de algunas bacterias residentes en la boca hacia la sangre; a veces esto puede originar fiebre o escalofrío, pero en muchas ocasiones pasa desapercibido. El asunto tiene importancia en los pacientes que no son inmunológicamente competentes o que tienen una lesión previa en las válvulas del corazón porque allí se pueden alojar los microbios y causar una endocarditis infecciosa que suele ser un cuadro grave. Algo parecido ocurre cuando un paciente tiene un dispositivo intravascular, como un catéter o una prótesis, que se puede colonizar después de alguno de estos procedimientos. Cuando se sabe que un paciente tiene una lesión valvular y va a ser sometido a alguna manipulación de la boca, se suele prescribir antimicrobianos un poco antes del procedimiento. También en muchas cirugías del aparato digestivo o genital se hace necesario prescribir antimicrobianos desde antes de la cirugía y por poco tiempo (profilaxis antimicrobiana). En cuanto a la bacteriuria no necesariamente debe interpretarse como infección de las vías urinarias o de los riñones (pielonefritis) pues puede tratarse de una contaminación de la orina o de bacterias que no están invadiendo los tejidos. Se ha definido como un límite para considerar con mayor probabilidad la presencia de una infección, un número de unidades formadoras de colonias mayor de 100 000, aunque esto no hace el diagnóstico de infección, sino acaso de bacteriuria significativa.

El término *septicemia* se aplica a la condición que supone la presencia de infección en todo el cuerpo. Para hacer el diagnóstico se suele exigir que por lo menos en dos sitios se documente una infección por el mismo o los mismos microorganismos. Por lo general es un cuadro grave y más que una enfermedad primaria es una complicación de alguna infección en algún órgano. La palabra *sepsis* estrictamente es sinónimo de septicemia, pero a veces se utiliza como sinónimo de infección, como cuando se habla de sepsis urinaria o sepsis abdominal.

Endotoxemia, por su parte, es la presencia en sangre de endotoxinas producidas por las bacterias Gram-negativas, sin que de manera obligada éstas también se encuentren en la sangre. Las endotoxinas tienen acciones farmacológicas que no necesariamente dependen de la infección, como son fiebre, vasodilatación, colapso circulatorio. La endotoxina se ha identificado también como el pirógeno exógeno, es decir, el agente externo que induce la liberación de sustancias capaces de elevar la temperatura del cuerpo. Se llaman protozoosis las enfermedades ocasionadas por organismos unicelulares eucariotas como el paludismo, la tripanosomosis o

la giardiosis, helmintiasis, causadas por gusanos (tremátodos, céstodos, nemátodos) y ectoparasitosis, provocadas por los artrópodos. Cuando los helmintos tienen en estadio de desarrollo en la tierra previo a ser infectivos para el ser humano, se usa el término de geohelmintiasis.

Una relación particular entre hospedero y agente infeccioso es el estado de portador que se refiere a la condición en la que un sujeto porta consigo algún microbio potencialmente dañino pero que a él no le está provocando enfermedad. Así, hay portadores de *Staphylococcus aureus* o de *Salmonella* que, aunque no estén enfermos, sí tienen importancia epidemiológica porque pueden transmitir este microbio a otras personas que sean susceptibles de infectarse por éste. Son bastante conocidos los casos de enfermeras que cuidan a neonatales (que gozan de buena salud), pero acarrean en sus vías respiratorias superiores *S. aureus* que infecta a los recién nacidos prematuros, por definición, inmunocomprometidos. Otro caso famoso es el de la llamada “María Tifoidea”, quien transmitió la enfermedad a muchas personas.

El término intoxicación se refiere a los efectos de una sustancia inerte (no un organismo vivo, sino una sustancia química), un tóxico, sobre el organismo humano. El tóxico puede ser, desde luego, un producto bacteriano. Algunas diarreas, por ejemplo, no son producidas por la invasión de las bacterias a los tejidos intestinales, sino por la acción farmacológica de sustancias producidas por las propias bacterias, en cuyo caso la diarrea suele ser autolimitada, pues dura el tiempo que tarda el cuerpo en eliminar el tóxico.

MANIFESTACIONES DE INFECCIÓN

Fiebre

Aunque no es su única causa, la fiebre suele ser una manifestación de infección, por supuesto independiente del sitio y del o de los microorganismos causales. Los microbios actúan como pirógenos, es decir, sustancias que pueden activar los mecanismos termogénicos del cuerpo; con exactitud, son los mismos que se activan, por ejemplo, en la adaptación al frío, salvo que en las condiciones de infección, esta termogénesis no es adaptativamente necesaria. La presencia de fiebre obliga al clínico a buscar una infección que la haya originado y, tal vez represente la activación de una serie de mecanismos, que preparan al cuerpo para la lucha contra la infección. La hipertermia es sólo el signo mientras que

la fiebre es un síndrome que comprende tres fases: la termogénica (en la que se está generando calor) caracterizada por escalofríos, dolores musculares, piloerección (piel de gallina), percepción de que hace frío; la fase de hipertermia en la que se identifica aumento de la temperatura cutánea, percepción de que hace calor, taquicardia, cefalea; y la fase termolítica en la que predomina la sudación.

No todas las infecciones se acompañan de fiebre porque tiene que ver con el contacto que el organismo parásito tenga con el aparato inmune. Por ejemplo, la mayoría de las parasitosis intestinales o las infecciones cutáneas no provocan fiebre; en cambio casi todas las infecciones bacterianas y virales sistémicas suelen producirla. Las amibas, por ejemplo, no producen fiebre mientras se localicen sólo en el intestino, pero en cuanto se convierten en invasoras (p. ej., en un absceso hepático o en un ameboma) se presenta elevación térmica.

Leucocitosis

Es el aumento en el número de leucocitos en la sangre; generalmente más de 10 000/ml se considera un indicio inespecífico de infección aunque también puede deberse a causas no infecciosas. Según el predominio de algún tipo de leucocito se puede suponer algún grupo de organismos que puede estar causando la infección. Desde luego, hay infecciones que no se asocian con leucocitosis (tifoidea y algunas virales), y los pacientes con leucopenia por alguna otra causa (aplasia medular, leucemia) pueden ser más susceptibles a infecciones aunque no desarrollan leucocitosis. Muchas infecciones sistémicas por virus se acompañan de linfocitosis y las parasitarias conllevan eosinofilia.

Sedimentación apresurada

Esta es una manifestación inespecífica de inflamación, proceso que por lo regular va de la mano con las infecciones. Se trata de una prueba burda que consiste tan sólo en permitir que los glóbulos rojos sedimenten por gravedad en un tubo de ensayo; la velocidad con que sedimentan depende teóricamente del peso de los propios eritrocitos y de la fluidez del plasma, más común lo último. La sedimentación acelerada es la manifestación sumaria de la activación de un conjunto de cambios que se conocen como respuesta de fase aguda, orquestados por el hígado y que conforman también una forma de defensa contra la agresión.

Disfunción orgánica

La mayoría de los casos de infección se acompañan de modificación en la función de los órganos infectados. Una infección en el corazón (endocarditis, miocarditis) favorece falla cardiaca; una en el hígado modifica la función hepática; una artritis infecciosa afecta la movilidad de la articulación afectada; una infección en el intestino suele provocar diarrea, etcétera.

Inflamación

Aunque en el idioma cotidiano se relaciona con aumento de volumen, lo cierto es que la inflamación se refiere a un conjunto de reacciones biológicas en el que participan los vasos sanguíneos capilares y la inmunidad celular. Esto ocurre como respuesta a un daño, como el que puede producir la infección, y tiende a circunscribir la lesión y la infección. Clínicamente se manifiesta, en efecto, por aumento de volumen, enrojecimiento, incremento de la temperatura local y dolor. Aunque la inflamación es un acompañante de la infección, no se ha probado que su manipulación (p. ej., con antiinflamatorios) tenga algún efecto benéfico para la evolución de la enfermedad, salvo acaso el de disminuir el dolor. En la actualidad se considera también que varias de las enfermedades crónicas como la diabetes, la aterosclerosis o el asma tienen un componente inflamatorio.

Absceso (flemón)

El absceso es una infección localizada que se caracteriza por la acumulación de pus, que es un líquido verde-amarillento producto de la necrosis del exudado inflamatorio. El tratamiento de un absceso casi invariablemente requiere que el pus se drene, que se elimine hacia el exterior mediante algún procedimiento quirúrgico. Mucha gente considera que el flemón es un sinónimo de absceso aunque otros utilizan este término para referirse a la infección en los tejidos adyacentes, en general tejidos blandos como tejido conjuntivo y tejido celular subcutáneo.

Celulitis

Este término tiene también una connotación popular y otra técnica (médica). La popular se refiere a una distribución particular de la grasa subcutánea que hace aparecer irregular a la piel que la cubre, con apariencia de piel de naranja, y cuya importancia es cosmética; a muchas

mujeres no les gusta tener ese aspecto y se someten a procedimientos para atenuarla. La versión técnica de celulitis es una inflamación (frecuentemente una infección) en el tejido celular subcutáneo; en muchos casos se conoce como erisipela y se caracteriza por enrojecimiento de la piel, aumento de volumen del área, aumento en la temperatura local y dolor. En ocasiones se acompaña de fiebre.

Cistitis

Etimológicamente significa inflamación de la vejiga (como colecistitis es inflamación de la vesícula biliar). No siempre corresponde a una infección pues también puede ser sólo una irritación. No es raro que aparezca en mujeres después de una actividad sexual intensa o violenta. Se dice que prácticamente todas las mujeres padecen cistitis por lo menos una vez en su vida, no así los varones pues en éstos sólo ocurre cuando hay una hiperplasia de próstata que limita el vaciamiento de la vejiga. Muchas cistitis son autolimitadas o desaparecen sólo con aumentar la ingestión de líquido, pero la verdadera importancia de la cistitis, además de las molestias que origina, es que puede ser el punto de partida para una infección ascendente que alcance los riñones (pielonefritis). Los síntomas más comunes son ganas frecuentes de orinar aunque se expulsa muy poca orina cada vez (polaquiuria), ardor al orinar (disuria), sensación de que no se terminó de orinar sino que aún permanece orina en la vejiga (tenesmo vesical), en algunos casos turbidez urinaria y en otros sangre en la orina (hematuria).

“Cicatriz” serológica

Algunos pacientes que tuvieron una infección en el pasado que generó la producción de anticuerpos contra el microorganismo causante pueden mantener un nivel de estos anticuerpos detectables en su sangre por un periodo más o menos prolongado, a veces de por vida. Estos anticuerpos son de clase IgG y sólo revelan que alguna vez el sistema inmune del paciente estuvo en contacto con el microorganismo en cuestión. Incorrectamente algunos pacientes han sido diagnosticados como enfermos, aunque lo que tienen son sólo anticuerpos. En todo caso, si estos son IgM sí puede considerarse la presencia de la enfermedad activa o al menos reciente. Estas marcas serológicas ayudan en estudios epidemiológicos para investigar la distribución de ciertas enfermedades en lo que se denomina estudios de seroprevalencia.

Impedimento de la cicatrización

La infección de una herida o lesión suele ser la causa por la cual no se logra su resolución. Cuando una herida quirúrgica no cierra habitualmente es porque está infectada; el proceso inflamatorio que acompaña a la infección interfiere con los mecanismos de cicatrización. La idea de que en el diabético no cicatrizan las heridas tiene que ver con la mayor susceptibilidad de los diabéticos a las infecciones de partes blandas.

Gripe (o gripa)

Es un término con el que se suele designar a una infección respiratoria aguda, que puede ser producida por distintos microorganismos, generalmente virus, y que se manifiesta por rinorrea (escurrimiento nasal), dolor faríngeo y con frecuencia tos que aparece un poco más tarde. Por lo regular es un proceso autolimitado (se cura solo), pero se puede complicar con bronquitis, otitis o neumonía.

Descontrol

A veces la manifestación clínica de infección es la incapacidad para alcanzar un control en pacientes diabéticos. De hecho, una regla clínica señala que si un diabético está descontrolado y no se encuentra la causa (excesos alimentarios, suspensión de medicamentos) conviene buscar infección, que a veces está oculta. En los ancianos, cuando no desarrollan fiebre, se puede sospechar infección porque tienen síntomas de confusión (delirium).

Exantema

Algunas infecciones virales se acompañan de manifestaciones en la piel que se conocen como exantemas; cuando afectan a las mucosas se les denomina enantemas. Estos signos pueden variar pero los más comunes son máculas eritematosas (como en el sarampión) y vesículas (como en la varicela).

Diarrea y disentería

La diarrea consiste en un aumento en el número mayor de evacuaciones intestinales a las habituales de cada individuo y en una disminución de su consistencia, las que se tornan líquidas. No todas las diarreas son infecciosas ni generadas por productos microbianos (toxinas), pero con frecuencia lo son, aunque autolimitadas.

La disentería es una forma de diarrea en la que las evacuaciones se acompañan de moco y sangre, además de cólico y, a menudo, de tenesmo (sensación de cuerpo extraño en el recto). Aunque también la disentería puede tener causas no infecciosas, se le relaciona con amibiasis intestinal y con infecciones por *Shigella*.

Endocarditis

Es una infección en el interior del corazón, generalmente localizada en válvulas ya enfermas o en un material extraño como catéteres o prótesis. Originalmente se llamaba endocarditis bacteriana pero como la infección también se puede deber a otros microorganismos (como hongos), se decidió llamarla endocarditis infecciosa. Los síntomas incluyen fiebre, soplos precordiales cambiantes y fenómenos embólicos en los lechos ungueales, el cerebro y otros sitios. Suele haber, además, una enfermedad glomerular asociada.

Anemia

La disminución de los niveles de hemoglobina y de glóbulos rojos puede acompañar a las infecciones por varias razones: algunas parasitosis interfieren con la nutrición, por ejemplo al afectar la absorción de vitamina B12, con lo cual provocan una anemia macrocítica megaloblástica que, a veces, se acompaña de trastornos de la sensibilidad profunda porque se afectan los cordones posteriores de la médula espinal. Algunos geohelminthos intestinales pueden generar lesiones que sangran, casi siempre microscópicamente, pero de manera paulatina van produciendo anemia. El paludismo, al tener una fase de su ciclo dentro de los eritrocitos, acaba destruyéndolos (hemólisis) con lo que también generan anemia. Las infecciones crónicas, por mecanismos complejos en los que participan muchos factores, provocan un tipo de anemia que se conoce como *anemia de la enfermedad crónica* y que también acompaña a enfermedades crónicas no infecciosas.

Desnutrición

Muchos pacientes con infecciones, particularmente crónicas y parasitarias, están desnutridos. El nexo infección-desnutrición es bidireccional porque, además, los individuos desnutridos se infectan con facilidad.

Síntomas localizados

Dependiendo del órgano u órganos afectados, la infección puede originar síntomas diversos. Las infecciones del sistema nervioso central, por ejemplo, provocan signos de irritación meníngea (rigidez de nuca, Kernig, Brudsky, cefalea, visión borrosa, confusión). Si produce un absceso localizado origina déficit neurológico relacionado con el área afectada. La neurocisticercosis, si bien puede ser sólo un hallazgo en personas asintomáticas, es frecuente que origine crisis epilépticas. La toxoplasmosis puede dar síntomas oculares. El paludismo provoca fiebre periódica y esplenomegalia. La infección del tejido celular subcutáneo genera enrojecimiento, dolor y aumento de volumen. La infección intestinal suele provocar diarrea.

Síntomas menos específicos

Una gran cantidad de síntomas se han atribuido a infecciones y, en particular a parasitosis, que, si bien se han asociado de vez en cuando, la mayor parte de las veces no tienen que ver, pues se trata de manifestaciones tan comunes que simplemente por azar se pueden vincular con infecciones. Aquí se incluyen cefalea, mareo, anorexia, bruxismo, prurito rectal, distensión abdominal, ruidos intestinales audibles, meteorismo, estreñimiento.

Hay varias teorías que relacionan a ciertas enfermedades calificadas como de causa desconocida como posibles infecciones. Así, el lupus eritematoso se ha ligado con infecciones virales, la aterosclerosis con ciertas infecciones bacterianas, la diabetes tipo 1 con algunos virus que afectan al páncreas (insulinitis) y hasta el cáncer pudiera tener un origen infeccioso. No es difícil que en el futuro muchas de estas enfermedades ya se consideren infecciosas. Hasta hace poco formaban parte del grupo de enfermedades de causa desconocida tanto la enfermedad de Crohn como la de Whipple.

LECTURAS RECOMENDADAS

- AWASTHI, S. *et al.* 2003. *Helminthic Infections*. BMJ, 327: 431-433.
- BULLOCH, W. 1960. *The History of Bacteriology*. Oxford University Press, Londres.
- KASPER, D. L. *et al.* 2005. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. McGraw-Hill, EUA, pp. 1197-1277.
- KATZ, D. E. y D. N. Taylor. 2001. *Parasitic Infections of the Gastrointestinal Tract*. Gastroenterology Clinics of North America. 30: 797-815.
- MOLINA, J. *et al.* (eds.). 2010. *Microbiología. Bacteriología y virología*. Méndez Editores, México, DF.

TERAPÉUTICA ANTIINFECCIOSA

*Rodolfo Rodríguez-Carranza y Jacinto Santiago-Mejía**

INTRODUCCIÓN

Los agentes antiinfecciosos son sustancias producidas por microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos) o sintetizadas químicamente (sulfas, quinolonas) que tienen la capacidad de eliminar, impedir o retardar la multiplicación de otros organismos, tales como virus, bacterias, hongos, protozoarios, helmintos y ectoparásitos. Estos fármacos son tóxicos relativamente selectivos contra los agentes patógenos invasores y su utilidad médica depende de las diferencias bioquímicas entre el organismo infectante y el hospedero. La terapéutica antiinfecciosa está dirigida al tratamiento de pacientes con síntomas y signos clínicos de infección. El desarrollo de fármacos capaces de prevenir o erradicar procesos infecciosos ha sido uno de los logros más significativos del siglo XX. En la actualidad se encuentran entre los fármacos más prescritos en el mundo y su manejo apropiado permite salvar la vida de los enfermos; no obstante, su uso indiscriminado da lugar a efectos adversos, a interacciones farmacológicas y, lo que es más importante, favorece la aparición de cepas resistentes a sus efectos.

Este ensayo refiere brevemente los aspectos fundamentales de la terapéutica antiinfecciosa. La información pertinente se describe en cuatro secciones: antibacterianos, antivirales, antimicóticos y antiparasitarios. Sólo se hace referencia a los fármacos de mayor utilidad clínica (cuadros 1-4), indicando los prototipos de cada grupo, los cuales fueron seleccio-

* Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, rodcar@unam.mx; samj@unam.mx.

nados por su eficacia y seguridad bien establecidas, disponibilidad en nuestro medio y menor costo; así como los fármacos alternativos. Al igual que en otros campos de la terapéutica, los agentes antiinfecciosos tienen un nombre genérico y uno o varios nombres de marca, lo que depende de la compañía farmacéutica que lo fabrica, sin embargo, la información válida siempre se refiere a los nombres genéricos.

ANTIBACTERIANOS

Los antibacterianos son sustancias útiles en el tratamiento de las infecciones producidas por bacterias. A partir del descubrimiento de la penicilina, se han descrito numerosos productos con actividad antimicrobiana clínicamente útil y, en la actualidad, se dispone de un poco más de 100 antibacterianos que pertenecen a grupos específicos según su uso clínico y mecanismo de acción. Aun cuando los antibióticos se clasifican de diferentes maneras, una de las más importantes considera el mecanismo de acción, por el cual actúan sobre las bacterias; estos son:

1. Inhibidores de la síntesis de la pared bacteriana; entre ellos están las penicilinas (penicilina G sódica cristalina, procaínica, benza-tínica; amoxicilina; ampicilina) y las cefalosporinas (cefalexina, cefuroxima, ceftriaxona, cefotaxima, cefepima).
2. Inhibidores de la síntesis proteica; entre ellos están los macrólidos (eritromicina, azitromicina, claritromicina), los aminoglucósidos (amikacina, gentamicina), las tetraciclinas (tetraciclina, doxiciclina), los fenicoles (cloranfenicol) y las lincosamidas (clindamicina).
3. Generadores de metabolitos altamente reactivos; en este grupo se encuentran los nitrofuranos (nitrofurantoína).
4. Inhibidores de la síntesis de DNA; en esta categoría están las quinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina, moxifloxacina).
5. Inhibidores de la síntesis y reducción de ácido fólico; aquí se encuentran el trimetoprim-sulfametoxazol.
6. Modificadores de la permeabilidad de la membrana; aquí se ubica la polimixina B.

Una manera práctica de describirlos es según su utilidad en el tratamiento de padecimientos infecciosos específicos (cuadro 1); en algunos casos se les agrupan en torno a una enfermedad específica. Tal es el caso de los antituberculosos (isoniazida, rifampicina, etambutol, pirazinamida, estreptomycin) y de los antileproso (dapsona, clofazimina).

CUADRO 1. Guía para la terapia de infecciones bacterianas

<i>Infecciones</i>	<i>Agentes probables</i>	<i>Fármacos de elección</i>	<i>Fármacos alternativos</i>
<i>Respiratorias</i>			
Faringitis	<i>Streptococcus</i> beta hemolítico grupo A, (<i>Streptococcus pyogenes</i>)	penicilina G	eritromicina
Otitis media	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i>	amoxicilina	amoxicilina-ácido clavulánico, trimetoprim-sulfametoxazol
Sinusitis	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Haemophilus influenzae</i> , otros	amoxicilina-ácido clavulánico	levofloxacina
Neumonía aguda adquirida en la comunidad	<i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	amoxicilina-ácido clavulánico, cefuroxima	ceftriaxona, cefotaxima, levofloxa- cina
<i>Gastrointestinales</i>			
	<i>Shigella</i>	ciprofloxacina	
	<i>Salmonella enteritidis</i>	ciprofloxacina	ofloxacina
<i>En tejidos blandos</i>			
Impétigo	<i>Streptococcus pyogenes</i>	penicilina G benzatina	
Erisipela	<i>Streptococcus pyogenes</i>	penicilina G benzatina	
Celulitis	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i>	dicloxacilina	cefalexina
<i>Urinarias</i>			
	<i>Escherichia coli</i>	trimetoprim-sulfametoxazol, ciprofloxacina	
<i>Por micobacterias</i>			
Tuberculosis	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	isoniazida + rifampicina + pirazina- mida + etambutol	estreptomicina, moxifloxacina, cla- ritromicina
Lepra	<i>Mycobacterium leprae</i>	dapsona + rifampicina	dapsona + clofazimina

A los antibacterianos también se les identifica como bacteriostáticos y bactericidas. Los primeros no son tóxicos directos; inhiben la replicación bacteriana, la síntesis proteica y el metabolismo celular. De esta manera, reducen de manera gradual la población bacteriana, ya que los organismos mueren paulatinamente y no son reemplazados. En contraste, los antibióticos bactericidas producen la muerte celular de manera directa eliminando algunos elementos necesarios para su supervivencia, impidiendo la formación de la pared bacteriana, causando fenestraciones en la pared celular, o evitando la absorción de nutrientes.

Factores que determinan la susceptibilidad y la resistencia de las bacterias a los antibióticos

La eficacia terapéutica de los antibióticos depende de varios factores; los más importantes incluyen: que alcancen el sitio de la infección en concentraciones suficientes para inhibir la proliferación bacteriana y que las defensas del hospedero sean suficientes; si es así, todo lo que se necesita es un efecto inhibitorio aceptable, como el que se logra con los agentes bacteriostáticos que reducen la síntesis de proteínas o evitan la división celular. Cuando las defensas del paciente están disminuidas se requiere la destrucción de la bacteria; por lo tanto, es necesario utilizar bactericidas.

Si se da la resistencia bacteriana, entonces aumenta el riesgo de desarrollar infecciones graves que ponen en peligro la vida del paciente, ya que las bacterias que las producen no responden a la administración de antibióticos. La resistencia al efecto de los antibióticos se presenta cuando la bacteria involucrada evoluciona para impedir la acción del agente antibiótico. Esta resistencia puede ser de tres tipos: intrínseca, por mutación y mediada por plásmidos. La primera se presenta cuando la bacteria produce una enzima que degrada al fármaco, como en el caso de las betalactamasas. Las mutaciones ocurren: 1) por síntesis de proteínas alteradas en los sitios de unión por lo que no se unen el organismo y la molécula del fármaco; 2) por composición alterada de los ribosomas; 3) por conformación alterada de las tipoisomerasas; 4) por vías alternas para la síntesis de ácido fólico; 5) por disminución de la captura o expulsión acelerada del fármaco. Finalmente, la resistencia dependiente de plásmidos involucra el paso de una mutación de una bacteria a otra cuando el DNA alterado, que confiere resistencia, se empaqueta en un plásmido y se transfiere de modo lateral a otra bacteria.

Como ya se mencionó, el uso indiscriminado e irracional de antibióticos favorece el desarrollo de resistencia bacteriana. Ello incluye la

práctica común de prescribir antibacterianos para enfermedades producidas por virus, como es el caso del resfriado común. Aun cuando los antibacterianos no afectan a los virus, muchas personas esperan que estos antibióticos favorezcan o aceleren la recuperación.

Guía para el buen uso de los antibióticos

Las siguientes consideraciones están orientadas al uso racional de los antibacterianos en la práctica clínica. Sin embargo, aun cuando este tipo de guías son útiles y orientan rápidamente al médico, es éste, con base en la información disponible, quien debe llevar a cabo las reflexiones necesarias para seleccionar el antibiótico idóneo al paciente particular, teniendo en cuenta lo siguiente:

1. Los antibióticos son medicamentos que sólo deben ser utilizados para el tratamiento de infecciones ocasionadas por bacterias susceptibles.
2. Se deben prescribir antibióticos sólo cuando se tenga la certeza, con base en los resultados de estudios microbiológicos, o la sospecha fundamentada en los signos y en los síntomas del paciente, de infección bacteriana.
3. En casos de infección hospitalaria y en pacientes con infecciones comunitarias graves, el estudio de laboratorio es imperativo. En ambos casos, la interpretación de los datos de laboratorio se debe hacer tomando en consideración el cuadro clínico del paciente.
4. Para cada bacteria se tiene un tratamiento de elección y varias alternativas. El reto del médico consiste en identificar el mejor antibiótico para cada paciente en particular. Cuando el hallazgo de laboratorio indique que existe más de un antimicrobiano capaz de actuar contra el agente causal, se seleccionará aquel que: *a)* sea menos tóxico; *b)* tenga una vía de administración y posología más adecuadas; *c)* induzca menor resistencia; y *d)* su costo sea menor.
5. El diagnóstico presuntivo de una infección bacteriana se basa en los datos clínicos y epidemiológicos, y el tratamiento empírico se justifica cuando no se dispone de la identificación precisa del agente causal o cuando la urgencia del caso así lo requiera. La caracterización del agente etiológico puede obviarse cuando exista evidencia de que la infección es causada por un determinado microorganismo y que la experiencia del médico indique que es susceptible a un determinado antibiótico; sin embargo, en

casos graves, antes de iniciar el tratamiento se debe obtener el material necesario para identificar al agente causal y su susceptibilidad antimicrobiana.

6. Se debe seleccionar el antibiótico con base en el conocimiento de sus propiedades farmacológicas y farmacocinéticas, contraindicaciones y riesgos de su uso. Al respecto, es necesario recordar que existen antibióticos que no se deben administrar a mujeres embarazadas por riesgo de efectos sobre el producto, sobre la posibilidad de reacciones alérgicas, y por el riesgo que representan las funciones renal y hepática alteradas.
7. Para cada microorganismo o diagnóstico clínico de infección existen ciertos medicamentos que se distinguen por su eficacia y seguridad (prototipos terapéuticos). En general, estos son los antibióticos más apropiados. En el caso de medicamentos con eficacia y seguridad equivalentes se deben escoger los de menor costo; sin embargo, el médico debe seleccionar el antibiótico basándose en las características clínicas de la infección.
8. Siempre es recomendable que los médicos estén familiarizados con la lista de los antibióticos más establecidos y más económicos. Este será su arsenal contra las enfermedades infecciosas.
9. El tratamiento con más de un antibiótico sólo se justifica en aquellos casos de infecciones graves bajo tratamiento empírico y cuando la evidencia disponible señale un efecto sinérgico y/o reducción del riesgo de resistencia. Las combinaciones son más eficaces que los agentes individuales en infecciones por micobacterias y en endocarditis bacteriana.
10. Los antibióticos, como medida profiláctica, sólo deben emplearse en casos justificados: personas que hayan estado en contacto con pacientes con meningitis meningocócica, individuos con alto riesgo de padecer tuberculosis, aquellos que hayan tenido contacto sexual con personas con sospecha de enfermedad de transmisión sexual, enfermos que se hayan sometido a procedimientos que propicien bacteriemia o los individuos que tengan algún riesgo de infección.
11. La mayoría de las infecciones comunes responden al tratamiento en el curso de 5-7 días; sin embargo, las infecciones severas pueden requerir de 2-3 semanas y las crónicas tiempos más prolongados. Es importante limitar los tratamientos excesivamente prolongados tras la curación clínica de la infección.
12. En general, los bacteriostáticos deben administrarse más allá del punto de mejoría de los síntomas de la infección. Es necesario

tener en cuenta que el efecto posantibiótico implica que algunos antibacterianos mantienen temporalmente su efecto sobre las bacterias después de que se suspende su administración (aminoglucósidos, fluoroquinolonas, imipenem).

13. Se debe suspender el tratamiento antibiótico cuando no exista evidencia de infección. La administración innecesaria puede dar lugar a una superinfección o sobreinfección.
14. Para uso tópico hay que seleccionar antibióticos que no suelen utilizarse por vía sistémica con lo que se evita la sensibilización del paciente y la aparición de cepas resistentes.

Cuando no se justifica la prescripción de antibacterianos

El uso de antibióticos en situaciones que no lo justifican representa un riesgo para la salud de los pacientes, un desperdicio de recursos económicos y, sobre todo, favorece el desarrollo de resistencia bacteriana, lo que incrementa gastos y mortalidad por enfermedades infecciosas. En todos los países del mundo, el uso inapropiado de antibióticos está bien documentado. En el campo de las infecciones bacterianas, cabe subrayar algunas situaciones en que no se justifica la prescripción de antibacterianos: *a)* en pacientes con infecciones de clara etiología viral (gripe, sarampión, etc.), ya que los antibacterianos no son efectivos en infecciones virales, aun cuando pueden ser útiles en las infecciones secundarias; *b)* en infecciones en que se concluya que tienen un curso limitado; *c)* en colonizaciones bacterianas asintomáticas, sin datos de infección activa; *d)* cuando el diagnóstico es fiebre de origen desconocido; *e)* cuando las condiciones del paciente permiten esperar los resultados de los estudios microbiológicos para dar tratamiento etiológico; *f)* cuando la resolución de la infección es de tipo quirúrgico y la cirugía puede llevarse a cabo de inmediato; *g)* profilaxis de infecciones bacterianas, excepto las que se indican arriba; *h)* cuando no se tiene evidencia de eficacia clínica; *i)* en general, es recomendable evitar el uso de aminoglucósidos, especialmente en ancianos con función renal alterada; *j)* no usar tetraciclinas en niños y no usar cloranfenicol en recién nacidos.

ANTIVIRALES

Los antivirales son fármacos útiles en el tratamiento de infecciones producidas por virus. En contraste con la terapia antibacteriana, el número de medicamentos antivíricos es mucho menor y, al igual que para el caso

de los antibióticos, se tienen antivirales específicos para tratar distintos tipos de virus. Estos agentes deben tener la propiedad de actuar contra los virus con un alto nivel de especificidad sin afectar de manera significativa las funciones celulares del hospedero. Los fármacos que carecen de esta selectividad resultan tóxicos y no tienen utilidad clínica.

En el campo de la terapia antivírica la posibilidad de utilizar medidas inmunológicas pasivas (inmunoglobulinas) y activas (vacunas) ha permitido prevenir o erradicar varias enfermedades infecciosas. Sin embargo, existen infecciones causadas por virus para las cuales la única alternativa válida es la administración de fármacos antivirales y cabe aclarar que los antivirales son distintos de los viricidas, agentes químicos que destruyen partículas virales presentes en el medio ambiente (detergentes). En general, la utilidad terapéutica de los fármacos antivirales depende de su capacidad para impedir la penetración del virus a las células del hospedero, para inhibir alguna de las fases de su ciclo de multiplicación o para evitar la liberación de la partícula viral. Una de las formas más válidas de clasificar a los antivíricos disponibles para uso médico es agruparlos según la fase del ciclo viral que afectan:

1. Inhibidores de la síntesis de RNA y DNA, como la ribavirina, la cual es útil contra varios tipos virales incluyendo al virus sincicial respiratorio y al virus de la hepatitis C.
2. Inhibidores de la síntesis de DNA; entre ellos están los análogos de nucleótidos, como aciclovir y ganciclovir, útiles en infecciones por herpesvirus.
3. Inhibidores de la transcriptasa inversa; entre ellos se encuentra zidovudina, tenofovir, emtricitabina, lamivudina, didanosina y zalcitabina, los cuales son útiles en infecciones por los tipo 1 y tipo 2 del VIH.
4. Inhibidores de proteasas; aquí se ubica al lopinavir, ritonavir y saquinavir, igualmente útiles en infecciones por VIH.
5. Inhibidores de la liberación de la partícula viral, como oseltamivir y zanamivir, útiles en infecciones por el virus A de la influenza.
6. Inhibidores de la liberación del genoma vírico; entre ellos se encuentran amantadina y rimantadina, útiles contra el virus A de influenza.

Un caso especial son los interferones (interferón alfa 2b), los cuales inhiben varios procesos y tienen utilidad contra varias infecciones virales, incluyendo las provocadas por los virus B y C de la hepatitis.

Los antivirales disponibles en el mercado son útiles en el tratamiento de infecciones virales frecuentes e importantes, destacando los que se

usan en el tratamiento de infecciones por VIH, herpesvirus, virus A de la influenza, virus sincicial respiratorio y los virus B y C de la hepatitis. Por lo que una manera práctica de describirlos se fundamenta en su utilidad clínica (cuadro 2). Cabe mencionar que los inhibidores de la transcriptasa inversa y los inhibidores de las proteasas también se les describe como antirretrovirales por su capacidad particular de evitar la replicación de retrovirus, fármacos de gran utilidad en las infecciones por el VIH.

CUADRO 2. Guía para la terapia de infecciones virales

<i>Agente probable</i>	<i>Fármacos de elección</i>	<i>Fármacos alternativos</i>
Virus B de la hepatitis	interferón alfa 2b, lamivudina	
Virus C de la hepatitis	interferón alfa 2b (pegilado) + ribavirina	telaprevir, boceprevir
Virus A de la influenza	oseltamivir, zanamivir	amantadina, rimantadina, ribavirina
Virus del herpes simple	aciclovir	valaciclovir, famciclovir, foscarnet
Virus de la varicela-herpes zoster (herpes zoster)	famciclovir	
Citomegalovirus	ganciclovir	foscarnet
VIH y SIDA (profilaxis transmisión materno-fetal)	zidovudina + lamivudina + lopinavir / ritonavir	
VIH/sida (adolescentes y adultos)	tenofovir + emtricitabina efavirenz (3er componente)	abacavir + lamivudina, zidovudina + lamivudina lopinavir + ritonavir

Factores que determinan la susceptibilidad y la resistencia a los antivirales

La eficacia terapéutica de los antivirales depende de diversos factores, entre los más importantes se encuentran: *a)* que el fármaco alcance concentraciones suficientes dentro de las células infectadas; y *b)* que las defensas del hospedero sean suficientes. Por otro lado, *a)* la carga viral alta y virus con tasa de mutación elevada (especialmente en virus RNA) reducen la posibilidad terapéutica y favorecen la aparición de resistencia; *b)* esquemas prolongados y repetidos también favorecen la presencia de virus resistentes; y *c)* la resistencia se presenta cuando se utilizan tratamientos prolongados y en pacientes inmunocomprometidos. La resistencia, que se manifiesta como falta de respuesta clínica o virológica al tratamiento, se explica por mutaciones dentro del genoma viral. Esta resistencia depende de sustituciones puntuales (aminoácidas) en las

proteínas blanco (polimerasa de DNA, proteína M2) que evitan la unión del fármaco o previenen que la enzima acepte el medicamento como sustrato (timidincinasa, transcriptasa inversa).

Guía para el buen uso de los antivirales

Para el uso adecuado de los antivirales es conveniente retomar algunas de las consideraciones arriba descritas para antibacterianos, resaltando que se debe indicar antivirales sólo en infecciones provocadas por virus susceptibles, cuando se tenga certeza del diagnóstico, se haga una selección del antiviral según los datos clínicos y condiciones del paciente particular, se dé tratamiento empírico cuando sea pertinente y se tenga en cuenta embarazo, función renal y hepática. Además, es necesario considerar los siguientes aspectos:

1. El diagnóstico temprano de la infección viral determina una terapia antiviral eficaz, especialmente importante para los enfermos inmunocomprometidos. Por lo tanto, es necesario apoyarse de medios diagnósticos rápidos, sensibles, específicos y prácticos. Por el contrario, para algunas infecciones (herpes zoster, varicela) es suficiente con el diagnóstico clínico para tomar una decisión terapéutica.
2. Excepto en algunos casos, se debe considerar que los antivirales son relativamente más tóxicos que otros fármacos antiinfecciosos. Aciclovir puede elevar las concentraciones de creatinina y nitrógeno ureico; amantadina y rimantadina producen estimulación del sistema nervioso central; ganciclovir y zidovudina causan mielosupresión, en especial neutropenia; ribavirina produce anemia hemolítica y es teratógena; los antirretrovirales análogos de nucleótidos son inhibidores directos de la polimerasa de DNA mitocondrial del hospedero.
3. Cuando se utilizan fármacos antivirales de acción sistémica es recomendable llevar a cabo un monitoreo estrecho del paciente para detectar efectos adversos no previstos; esto se debe, en parte, a que la información sobre su farmacocinética es limitada, sobre todo en niños.
4. La aplicación tópica de un antiviral en córnea, piel, mucosas o en el tracto respiratorio tiene la intención de alcanzar concentraciones elevadas en el sitio de la infección y evitar la posible toxicidad de la administración sistémica como el caso de aciclovir en el herpes oro-labial o la inhalación de ribavirina contra infecciones por el virus sincicial respiratorio.

5. La combinación de antivirales con mecanismos de acción diferentes es útil para aumentar la eficacia antiviral, reducir la dosis, disminuir los riesgos de toxicidad o el desarrollo de resistencia. Es aplicable en infecciones por el virus de la inmunodeficiencia humana, el virus C de la hepatitis, el citomegalovirus resistente a ganciclovir y la combinación de micofenolato y aciclovir que potencia la actividad antiherpética.
6. En casos de infección por VIH se recomienda dar tratamiento antirretroviral independientemente del conteo CD4+ en mujeres embarazadas con el fin de reducir la posibilidad de transmisión materno-fetal, en pacientes coinfectados con hepatitis crónica activa, en neuropatía asociada a VIH o en síndrome retroviral agudo (primoinfección).
7. La profilaxis se justifica en recién nacidos expuestos a lesiones herpéticas durante el parto, en la terapia de trasplante de órganos, en infecciones por virus tipo A de influenza (ancianos y pacientes inmunosuprimidos).

Cuándo no se justifica la prescripción de antivirales

Existen situaciones que no justifican el uso de antivirales: *a)* infecciones virales benignas con curso limitado; *b)* colonizaciones virales asintomáticas en las cuales no se aprecia enfermedad; *c)* casos con fiebre de origen desconocido; *d)* condiciones que permitan esperar los estudios de laboratorio; *e)* profilaxis de infecciones virales, excepto las que arriba se indican; *f)* cuando no se tiene evidencia de eficacia clínica; y *g)* cuando existen las siguientes contraindicaciones: tenofovir en casos de daño renal y comorbilidades asociadas a neuropatía; aciclovir en ancianos con daño renal; ribavirina en casos de embarazo, daño renal o hepático; efavirenz, idoxuridina, estavudina y didanosina en el embarazo y en la mujer en edad fértil sin anticoncepción eficaz; amantadina y rimantadina en casos de epilepsia y ganciclovir en niños y durante la lactancia.

ANTIMICÓTICOS

Los antimicóticos o antifúngicos son sustancias químicas que tienen la capacidad de evitar el crecimiento de algunos tipos de hongos (fungostáticos) o, incluso, provocar su muerte (fungicidas). El número disponible de estos agentes para uso clínico es inferior al de los antibacterianos. Una razón es que los hongos son células eucariontes, como las de los

mamíferos, y los fármacos que afectan la síntesis de proteínas, RNA o DNA en los hongos tienen el potencial de ser tóxicos para el hospedero.

Los antimicóticos tienen un uso muy amplio en el primer nivel de atención debido a la frecuencia con que se presentan las infecciones por hongos, sobre todo las de tipo superficial que se localizan en piel, uñas, cabello y mucosas; este tipo de infecciones afectan a una proporción considerable de la población y, en términos generales, la terapia farmacológica es muy eficaz. La incidencia de micosis invasivas (profundas, sistémicas) y la necesidad clínica de prescribir antimicóticos sistémicos aumentó debido al número de pacientes inmunocomprometidos; situación asociada al uso cada vez más frecuente de antimicrobianos, inmunosupresores, anticancerígenos, radioterapia y, también, a la epidemia de infecciones por el VIH.

Los antimicóticos habitualmente se clasifican según el mecanismo de acción por el cual actúan sobre los hongos, como se indica a continuación; la manera práctica de describirlos considera su uso clínico (cuadro 3):

1. Inhibidores de la síntesis de la membrana del hongo; este grupo comprende a la mayor parte de antifúngicos, incluye: alilaminas (terbinafina), azoles (ketoconazol, fluconazol, itraconazol) y morfolinas (amorolfina).
2. Alteradores de la integridad de la membrana del hongo; entre ellos están los antibióticos poliénicos (anfotericina B, nistatina, natamicina) y las hidroxipiridinas (ciclopiroxolamina).
3. Alteradores de la integridad de la pared; en este grupo se encuentran la caspofungina.
4. Inhibidores de la mitosis celular, representados por griseofulvina.
5. Inhibidores del crecimiento celular, incluye al tolnaftato.

Factores que determinan la susceptibilidad y la resistencia a los antimicóticos

La eficacia clínica de los antimicóticos se favorece con un diagnóstico apropiado y temprano y, cuando el sistema inmune del hospedero es eficiente sólo es necesario un efecto inhibitor mínimo, como el que se logra con los agentes fungistáticos (azoles); por el contrario, si existe inmunosupresión severa, se requiere la destrucción completa del hongo, en tal caso es recomendable el uso de fármacos que alcancen concentraciones adecuadas para obtener un efecto fungicida como la caspofungina y la anfotericina B. El tratamiento es menos efectivo cuando existe una carga inicial elevada de hongos y cuando la infección es causada por cepas muy virulentas.

CUADRO 3. Guía para la terapia de infecciones micóticas

<i>Infección (patógeno)</i>	<i>Fármacos de elección</i>	<i>Fármacos alternativos</i>
<i>Micosis superficiales</i>		
Tiña (dermatofitos)	miconazol, ketoconazol	terbinafina, griseofulvina, tolnaftato
Onicomycosis (dermatofitos, levaduras)	terbinafina	itraconazol
Candidiasis cutánea	miconazol, ketoconazol	nistatina
Candidiasis vulvovaginal (no complicada ni recurrente)	miconazol, clotrimazol, nistatina	fluconazol
Candidiasis oral (no complicada ni recurrente)	nistatina tópica	fluconazol
Candidiasis esofágica (con inmunocompromiso)	fluconazol sistémico	voriconazol
<i>Micosis profundas</i>		
Candidemia y candidiasis sistémica	anfotericina B	fluconazol, voriconazol
Criptococosis	anfotericina B, fluconazol	fluocitosina, voriconazol
Aspergilosis invasiva	voriconazol, caspofungina	anfotericina B
Cromoblastosis	anfotericina B, posaconazol	
Histoplasmosis, coccidioidomicosis, paracoccidioidomicosis	anfotericina B, itraconazol	

La resistencia clínica a los antimicóticos, que se manifiesta como falta de respuesta a pesar de un esquema terapéutico adecuado, aumenta el riesgo de desarrollar infecciones graves que ponen en riesgo la vida del paciente, sobre todo pacientes con micosis invasivas. La resistencia puede ser de dos tipos: *a*) primaria o intrínseca; y *b*) secundaria o adquirida. La primera se presenta sin exposición previa al antimicótico, como la resistencia de *C. krusei* al fluconazol. La resistencia secundaria ocurre cuando: 1) el hongo sintetiza proteínas alteradas en los sitios de unión al fármaco, como sucede con la enzima C14-alfadesmetilasa, lo que resulta en falta de unión entre el blanco farmacológico y la molécula del fármaco, así ocurre entre algunas especies de *Candida* o *Aspergillus* y los azoles; 2) el hongo utiliza vías alternas que evitan la síntesis y la acumulación del 14-alfa-metil-3,6-diol generado por los azoles; 3) el hongo expulsa aceleradamente al fármaco por sobreexpresión de transportadores, como ocurre con algunas especies de *Candida* o *Aspergillus* y los azoles; y 4) el hongo sobreexpresa enzimas de unión (C14-alfadesmetilasa), fenómeno

con el que se rebasan las concentraciones terapéuticas ordinarias. Cabe señalar que, a diferencia de lo que sí ocurre con las bacterias, los hongos no presentan resistencia mediada por plásmidos.

Guía para el buen uso de los antimicóticos

Varios lineamientos descritos para el buen uso de los antibacterianos se aplican a los antimicóticos; aquí se agregan los siguientes:

1. Los antimicóticos tópicos son altamente eficaces contra las dermatofitosis (tiña corporal, inguinal, del pie, de la mano o de la cabeza). Existen formulaciones con base en cremas, geles, lociones y jabones para el pelo. La mayor parte de ellos son azoles (clotrimazol, miconazol) y alilaminas como terbinafina; generalmente la infección se resuelve de 2 a 4 semanas.
2. La seguridad relativa es mayor para la vía tópica que para la terapia oral. Con la aplicación tópica la mayor parte de efectos adversos sólo incluyen reacciones leves y transitorias en el sitio de aplicación.
3. La eficacia del tratamiento tópico de la candidiasis vaginal y bucal generalmente es satisfactorio. La nistatina y los azoles tópicos son de elección, aun cuando el fluconazol oral evita la aplicación intravaginal repetida.
4. La profilaxis con nistatina o ketoconazol es pertinente en pacientes con riesgo de candidiasis bucal o vaginal, como aquellos que reciben antimicrobianos por tiempo prolongado, inmunodepresores, anticancerígenos o que tienen alguna inmunodeficiencia de fondo.
5. Se recomienda considerar la terapia oral sobre la tópica en micosis superficiales de áreas extensas, casos graves o persistentes, onicomicosis, pacientes incapaces de cumplir con la aplicación tópica y pacientes inmunocomprometidos que requieren resolución rápida.
6. En ocasiones se justifica el tratamiento empírico si se cumplen ciertos requisitos: *a*) infecciones fúngicas oportunistas que cursan con fiebre de origen desconocido; *b*) pacientes severamente neutropénicos; y *c*) falta de respuesta a antibacterianos de amplio espectro.
7. La combinación de antifúngicos sistémicos puede estar indicada en pacientes con infecciones invasivas (criptococosis meníngea).
8. Respecto a las reacciones adversas de los antifúngicos sistémicos, es importante tener en cuenta que los triazoles pueden causar hepatotoxicidad y son susceptibles a interacciones farmacológicas debido a su metabolismo por las enzimas CYP450. El voriconazol

se asocia a alteraciones visuales y a fotosensibilidad. Las equinocandinas causan reacciones relacionadas a la infusión. La anfoterina B es el estándar de oro para el tratamiento de las infecciones fúngicas invasivas muy graves, aunque puede provocar nefrotoxicidad, hepatotoxicidad y depresión de la médula ósea.

Cuando no se deben recetar antimicóticos

Cabe mencionar algunas situaciones en las que no se justifica la prescripción de antimicóticos: *a)* colonizaciones fúngicas asintomáticas, sin datos de infección activa; *b)* cuando el diagnóstico es fiebre de origen desconocido, excepto en las indicaciones descritas previamente; *c)* cuando las condiciones del paciente permiten esperar los resultados de los estudios de laboratorio; *d)* profilaxis de infecciones fúngicas, excepto las que se indican antes; y *e)* cuando no se tiene evidencia de eficacia clínica.

ANTIPARASITARIOS

Los antiparasitarios comprenden a un grupo heterogéneo de sustancias químicas útiles en el tratamiento de las infecciones parasitarias provocadas por protozoarios, helmintos y ectoparásitos. La educación, el saneamiento ambiental y el control vectorial son las mejores medidas de prevención de estas infecciones y los fármacos antiparasitarios la mejor herramienta para su tratamiento. Habitualmente los fármacos antiparasitarios se subdividen en antiprotozoarios (fármacos útiles en el tratamiento de infecciones producidas por protozoarios), antihelmínticos (fármacos útiles en el tratamiento de las infestaciones por vermes, helmintos o lombrices) y fármacos útiles en las ectoparasitosis (pediculicidas, escabicidas). Cada parasitosis tiene fármacos de elección y en algunas existen alternativas.

Los fármacos antiprotozoarios afectan los procesos de síntesis (cofactores, ácidos nucleicos, proteínas, membranas o microtúbulos). Una manera habitual de describir a los fármacos antiprotozoarios es en función de la etiología de la enfermedad que provocan: *a)* antiamibianos, entre los que se encuentra los de acción local (diyodohidroxiquinoleína, quinfamida) y los de acción local y sistémica (metronidazol, nitazoxanida); *b)* antigiardíasicos, metronidazol y nitazoxanida también son eficaces; *c)* anticriptosporidiásicos, destaca nitazoxanida; *d)* antipalúdicos o antimaláricos, comprenden los fármacos que son útiles en la profilaxis de personas que pretenden viajar a regiones endémicas (cloroquina, mefloquina, prime-

tamina) o en el tratamiento (cloroquina, mefloquina, pirimetamina, quinina, artemetero), a menudo en esquemas combinados para aumentar la eficacia y contender con cepas resistentes (cuadro 4).

Los antihelmínticos afectan el metabolismo energético o la función neuromuscular de los parásitos. Comúnmente se clasifican según la helmintiasis que afectan: 1) helmintos intestinales (ascariosis, tricuriasis, uncinariasis, enterobiosis); en este grupo se encuentran albendazol, mebendazol y pirantel; 2) teniasis y cisticercosis, siendo parte de este grupo albendazol, mebendazol y praziquantel; y 3) oncocercosis, incluye la ivermectina (cuadro 4). Los fármacos que se utilizan en el tratamiento de las ectoparasitosis humanas afectan en general la función neuromuscular del parásito. Los parásitos responsables son piojos, pulgas y larvas de moscas miasígenas. El medicamento de elección es la permetrina y las alternativas son ivermectina y benzoato de bencilo.

CUADRO 4. Guía para la terapia de infecciones parasitarias

<i>Parasitosis</i>	<i>Fármaco de elección</i>	<i>Fármaco alternativo</i>
Amibiasis	diyodohidroxiquinoleína (de acción local)	quinfamida, nitazoxanida
	metronidazol (de acción sistémica)	
Giardiasis	nitazoxanida	metronidazol
Tricomoniiasis	metronidazol	
Criptosporidiosis	nitazoxanida	
Paludismo (malaria)	cloroquina (profilaxis)	mefloquina, pirimetamina
	cloroquina (tratamiento)	mefloquina, quinina, artemisina
Helmintiasis intestinales	albendazol	mebendazol, pamoato de pirantel
Teniosis, cisticercosis	albendazol, praziquantel	mebendazol
Oncocercosis	ivermectina	

Factores que determinan la susceptibilidad y la resistencia a los anti-parasitarios

Aun cuando se han reportado algunos casos de resistencia al tratamiento antiparasitario (*Trichuris trichiura*-mebendazol), se acepta que la susceptibilidad es alta y en ciertos casos de resistencia se pueden considerar los esquemas de tres dosis, que son altamente eficaces. Por otro lado, existen grandes áreas del mundo con *Plasmodium falciparum* multirresistente; el problema en México es menor y, si es pertinente, se utiliza cloroquina.

Guía para el buen uso de los antiparasitarios

Varios de los lineamientos previamente descritos para el buen uso de antibacterianos se aplican en el caso de los antiparasitarios; sin embargo, cabe agregar las siguientes consideraciones:

1. El tratamiento de las parasitosis intestinales debe ser integral e involucra la educación del paciente respecto a las medidas higiénicas necesarias para evitarlas.
2. Idealmente, el tratamiento farmacológico se elige cuando se ha demostrado la presencia del parásito. En el caso de las parasitosis intestinales, esto se logra mediante un estudio coproparasitológico o por la observación de helmintos expulsados por el excremento, la boca o la nariz.
3. En zonas endémicas, un cuadro clínico sugerente puede justificar el uso de antiparasitarios si no se tiene acceso a las pruebas confirmatorias; asimismo, en épocas de epidemia, en todas aquellas personas que cumplan la definición de caso, y algunas campañas sanitarias que incluyan tratamiento antihelmíntico.
4. Contra las helmintiasis suele ser eficaz la utilización de fármacos antiparasitarios de amplio espectro (albendazol) por corto tiempo (una a tres dosis). La amibiasis y la giardiosis son altamente susceptibles al metronidazol, tinidazol y nitazoxanida.
5. Los marcadores primarios de eficacia de los fármacos antihelmínticos son la cura de la enfermedad y la disminución en la tasa de huevos de helminto por gramo de heces.
6. En personas que pretenden viajar a una zona endémica de paludismo se recomienda quimioprofilaxis. En pacientes con SIDA es necesaria la quimioprofilaxis contra *P. jiroveci*. Las parejas sexuales de mujeres con tricomoniasis vaginal deben recibir tratamiento con metronidazol aunque se encuentren asintomáticos.
7. Excepto durante el embarazo y en casos de intoxicación alcohólica, los fármacos antiparasitarios son relativamente seguros para el paciente.

Cuándo no se justifica la prescripción de antiparasitarios

En ausencia de una demostración objetiva de una parasitosis, ningún síntoma, como bruxismo (rechinido de los dientes), insomnio, cefalea, mareo, sialorrea nocturna o molestias gastrointestinales, justifica un tratamiento antiparasitario. No se recomienda tratamiento en los

portadores de huevos de helmintos o quistes de protozoarios en los cuales no exista evidencia de enfermedad; la excepción podrían ser los hospederos inmunosuprimidos, pero habrá que analizar el caso particular. El hallazgo incidental de calcificaciones intracraneales atribuibles a cisticercos en personas asintomáticas no justifica el empleo de antiparasitarios. Durante el embarazo no deben utilizarse imidazoles, praziquantel ni antiparasitario alguno. Los pacientes con anticuerpos antitoxoplasma tipo IgG no requieren terapéutica; la excepción podría ser la mujer embarazada en la que puede ser preferible darle el beneficio de un tratamiento, aunque el diagnóstico no esté totalmente sustentado.

BIBLIOGRAFÍA

- ANTHONY, P. K. y R. Thoms. 2002. "Antibiotics and Anti-infectives", Anthony P. K. (ed.), *Pharmacology Secrets*. Hanley & Belfus, Philadelphia, pp. 241-263.
- BLACK, D. y A. Ellsworth. 2004. "Practical Overview of Antibiotics for Family Physicians", *Clinics of Family Practice*. 6: 265-289.
- BOWLWARE, K. L. y T. Stull. 2004. "Antibacterial Agents in Pediatrics", *Infectious Diseases Clinics of North America*. 18: 513-531.
- CROFT, S. L. 1997. "The Current Status of Antiparasitic Chemotherapy", *Parasitology*. 114: S3-S15.
- DE CLERCQ, E. 2004. "Antiviral Drugs in Current Clinical Use", *Journal of Clinical Virology*. 30: 115-133.
- GOODMAN and Gilman's. 2006. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 11a. ed. McGraw-Hill, Nueva York.
- GUAY, D. 2003. "Short-Course Antimicrobial Therapy of Respiratory Tract Infections", *Drugs*. 63: 2169-2184.
- GUPTA, A. K. y E. A. Cooper. 2008. "Update in Antifungal Therapy of Dermatophytosis", *Mycopathologia*. 166: 353-367.
- KEISER, J. y J. Utzinger. 2008. "Efficacy of Current Drugs against Soil-transmitted Helminth Infections: Systematic Review and Meta-Analysis", *Journal of the American Medical Association*. 299: 1937-1948.
- KÖHLER, P. 2001. "The Biochemical Basis of Antihelminthic Action and Resistance", *International Journal of Parasitology*. 31: 336-345.
- KONTOYIANNIS, D. P. y R. E. Lewis. 2004. "Toward more Effective Antifungal Therapy: the Prospects of Combination Therapy", *British Journal of Haematology*. 126: 165-175.
- KUMATE, J. et al. 2001. *Manual de infectología clínica*. 16a. ed., Méndez Editores, México.

- LASTAIR, A. 1996. "Antiparasitic Drugs", *New England Journal of Medicine*. 334: 1178-1184.
- NICOLLE, L. 2002. "Urinary Tract Infection: Traditional Pharmacologic Therapies", *American Journal of Medicine*. 113: 35-44.
- LÓPEZ, F. A. y S. Lartchenko. 2006. "Skin and soft tissue infections", *Infectious Diseases Clinics of North America*. 20: 759-772.
- LÓPEZ-MARTÍNEZ, R. *et al.* 2004. "Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio", *Micología médica*. 2a. ed., Trillas, México.
- MARTÍN, R. J. 1997. "Modes of Action of Anthelmintic Drugs", *Veterinary Journal*. 154: 11-34.
- MORRISON, V. A. 2005. "Caspofungin: an Overview", *Expert Review of Anti-infective Therapy*. 3: 697-705.
- NUERMBERGER, E. y J. Grosset. 2004. "Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Issues in the Treatment of Mycobacterial Infections", *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 23: 243-255.
- PIACENTI, F. J. 2006. "An Update and Review of Antiretroviral Therapy", *Pharmacotherapy*. 26: 1111-1133.
- RODRÍGUEZ CARRANZA, R. 2009. *Vademécum Académico de Medicamentos*. 5a. ed., McGraw-Hill-Interamericana, México.
- RODRÍGUEZ CARRANZA, R. *et al.* 2009. *Guía de farmacología y terapéutica*. 2a. ed., McGraw-Hill Interamericana, México.
- RODRÍGUEZ CARRANZA, R. y O. Rivero Serrano. 2011. *Prescripción basada en la evidencia. MiniVAM*. Intersistemas Editores, México.
- SCOTT, L. J. y D. Simpson. 2007. "Voriconazole: a Review of its Use in the Management of Invasive Fungal Infections", *Drugs*. 67: 269-298.
- SIMON, V. *et al.* 2006. "HIV/AIDS Epidemiology, Pathogenesis, Prevention, and Treatment", *Lancet*. 368: 489-504.
- STANLEY, S. L. 2003. "Amoebiasis", *Lancet*. 361: 1025-1034.
- TUSET, M. *et al.* 2003. "Characteristics of Antiviral Drugs", *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 21: 433-457.

INFECCIONES EMERGENTES, REEMERGENTES Y BIOTERRORISMO

*Lourdes García-García y Renata Báez-Saldaña**

INTRODUCCIÓN

La diversidad de las enfermedades infecciosas constituye una amenaza que actualmente enfrenta la humanidad, hecho sin precedente que favorece la emergencia y la reemergencia de patógenos en todo el mundo. El potencial de diseminación rápida y la ubicuidad que caracteriza a las enfermedades infecciosas provocan la pérdida de la salud. No hay país o población inmune y las barreras políticas y geográficas ofrecen poca protección. Contrario a las expectativas sobre erradicación de enfermedades infecciosas, en todo el mundo han emergido enfermedades que hasta este momento no se conocían o bien otras que se habían considerado erradicadas o bajo control por los servicios de vigilancia epidemiológica.

En el mundo actual, las enfermedades infecciosas se ubican dentro de las diez primeras causas de muerte. Su incidencia y su diseminación se ha incrementado en las últimas dos décadas, a pesar de que en los años sesenta se pensó que podrían estar bajo control por el desarrollo de medidas sanitarias, de tecnología médica y por los avances en la industria farmacéutica. El fenómeno inesperado de la emergencia y la reemergencia de enfermedades infecciosas y la resistencia a fármacos indiscutiblemente están cambiando la epidemiología global.

* Instituto Nacional de Salud Pública, SSA, garcigarm1@gmail.com; baezrd@unam.mx.

Actualmente la población mundial vive en un mundo globalizado en los siguientes aspectos: viajes internacionales, político, económico, cultural e interacciones humano-humano y humano-animal. El concepto globalización incluye también la exposición a agentes causantes de infecciones. Se siguen identificando nuevas enfermedades infecciosas que han sobrepasado las barreras de especie (animales a humanos); los agentes infecciosos cada vez desarrollan resistencia a los antimicrobianos con mayor frecuencia, así mismo se han vuelto más virulentos. Adicionalmente, los microorganismos patógenos de las llamadas enfermedades emergentes constituyen un potencial para utilizarse como agentes de bioterrorismo.

Entre las condiciones demográficas y ecológicas modernas que generan la diseminación de enfermedades infecciosas se incluye el crecimiento rápido de la población, la pobreza, la migración urbana y, más recientemente, el turismo internacional, las alteraciones en los hábitats de los animales y de los artrópodos que transmiten enfermedades y el incremento en el número de personas con afecciones del sistema inmune.

Las enfermedades emergentes y reemergentes se definen como aquellas cuyos agentes patógenos son desconocidos, inesperados o cuya incidencia se ha incrementado en las últimas dos décadas. Las enfermedades emergentes se pueden definir según diferentes criterios:

1. Aquellas cuya etiología se identificó en las últimas décadas.
2. Las que no se reconocieron hasta que ocurrieron cambios cuantitativos o cualitativos en sus manifestaciones.
3. Las que no se habían presentado en una región determinada.
4. Las que afectaban animales y pasaron a causar enfermedad en humanos.
5. Enfermedades completamente nuevas. Casi la totalidad de los agentes patógenos definidos como nuevos existían antes en la naturaleza y, en muchos casos, no ha cambiado su información genética, por lo que su emergencia como agentes nuevos resulta de cambios en las condiciones sociales y ambientales que favorecen el acceso a nuevas poblaciones, o al incremento en su virulencia en hospederos inmunocomprometidos. Un padecimiento infeccioso emergente se define como un nuevo surgimiento de una infección conocida después de un declive significativo en su incidencia, o bien, que ha estado completa o parcialmente controlada en un área geográfica específica y que reaparece causando un número considerable de casos nuevos.

Este capítulo está dividido en tres secciones. En la primera se revisan los aspectos generales y factores epidemiológicos asociados a la emergencia o a la reemergencia de las enfermedades infecciosas. Posteriormente se analizan cuatro entidades que en épocas recientes han tenido particular interés en México por su aparición como agentes nuevos (VIH y SIDA, influenza pandémica A(H1N1)2009) o que reaparecieron después de haber estado parcialmente controladas o incluso ausentes (tuberculosis y cólera) haciendo énfasis en las medidas de prevención y control que se adoptaron para cada una de ellas. La segunda sección está dedicada a los agentes biológicos asociados a bioterrorismo. Se describe la etiología, epidemiología, manifestaciones clínicas, pronóstico y tratamiento de seis padecimientos (ántrax, peste, botulismo, viruela, tularemia y fiebres hemorrágicas virales). La sección final está dedicada a describir las medidas que a nivel internacional se han diseñado en los últimos años para contender con agentes emergentes, reemergentes y asociados a bioterrorismo.

FACTORES ASOCIADOS A LA EMERGENCIA DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Se considera que en los últimos treinta años han surgido más de treinta patógenos enteramente nuevos, o sea que se registra un patógeno nuevo o reemergente por año. Existen múltiples factores que han contribuido a la emergencia o a la reemergencia de enfermedades, de los cuales varios se relacionan con las actividades humanas que amplifican los fenómenos naturales y que son consecuencia de la globalización y del desarrollo tecnológico. Entre las circunstancias que han favorecido la propagación de infecciones como la tuberculosis, el cólera o la fiebre tifoidea están el crecimiento poblacional, el hacinamiento, la migración de zonas rurales a las ciudades, el inadecuado saneamiento básico y, principalmente, el relajamiento de las actividades de control que ha causado la diseminación de la tuberculosis multirresistente, de la difteria, del dengue y de la fiebre amarilla. El desequilibrio ecológico producido por la contaminación del medio ambiente con basura, la industrialización, la creciente urbanización y la deforestación han ocasionado brotes de fiebre por hantavirus, enfermedad de Chagas, encefalitis virales y fiebre hemorrágica. El contacto con animales y el hacinamiento permitió la presentación de influenza A de los subtipos H5N1 y H1N1. El mal uso de los antibióticos ha comprometido su efectividad de manera importante durante los últimos veinte años. La consecuente aparición de resistencia antimicrobiana

es otro factor, quizás subestimado, que empeora la amenaza actual de las enfermedades infecciosas y que se ha manifestado a través de la diseminación de patógenos resistentes en el ambiente hospitalario.

En resumen, los principales factores que facilitan la diseminación, la emergencia y la reemergencia de las enfermedades infecciosas incluyen la globalización de los viajes, el comercio, la demografía y los comportamientos humanos, la susceptibilidad genética a la infección, el debilitamiento de la infraestructura de la salud pública tanto en el ámbito nacional como internacional, el deterioro de las condiciones socioeconómicas como pobreza, desigualdad social, guerra, ecosistemas modificados, clima, daño intencional, carencia de voluntad política, adaptación y cambios microbianos. Estas condiciones originan que en las poblaciones vulnerables se desarrollen y se transmitan infecciones. En los mapas 1 y 2 se esquematiza la globalización y el número de puntos interconectados tanto por vía aérea como marítima.

Además, para ilustrar lo anteriormente expuesto, en el cuadro 1 se presentan ejemplos de enfermedades infecciosas emergentes y los cambios en el medio ambiente, hospedero u organismo patógeno que han promovido su emergencia.

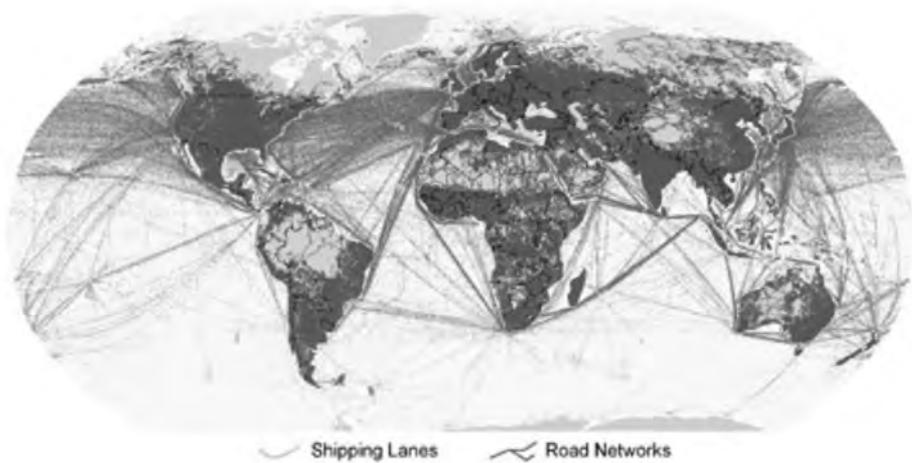
Entre las enfermedades emergentes se incluyen el síndrome de insuficiencia respiratoria aguda grave (SARS por sus siglas en inglés), la influenza aviar AH5N1, la influenza pandémica A(H1N1)2009, la enfermedad de *Lyme* y la neumonía por hantavirus. Otras enfermedades se consideran reemergentes debido al desarrollo de resistencia a antibióticos como malaria, tuberculosis y neumonías bacterianas. En las últimas décadas la continua amenaza de enfermedades emergentes y reemergentes ha permitido recordar la capacidad de los agentes infecciosos para evolucionar, adaptarse y sobrevivir. En el cuadro 2 se describen algunos de los agentes etiológicos y enfermedades infecciosas descubiertos entre los años 1973 y 2009.

Entre los factores que pueden influir en la susceptibilidad a agentes infecciosos se encuentran, también, las características genéticas del hospedero. Algunos ejemplos de estos factores genéticos lo constituyen alelos del gen de las globinas, como ocurre en la anemia de células falciformes, alfa y beta talasemia que determinan protección parcial contra el paludismo; el grupo sanguíneo tipo O que conlleva mayor susceptibilidad a padecer cólera grave; algunos alelos HLA que modifican la susceptibilidad o la historia natural de infecciones tales como las causadas por los virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el virus de hepatitis B, el del sarampión, el del papiloma humano, los hantavirus, los patógenos causantes de tuberculosis,

MAPAS 1 y 2. La globalización ha acelerado como nunca antes el comercio y ha ampliado enormemente el número de puntos interconectados tanto por vía aérea (mapa 1) como marítima (mapa 2)



FUENTE: <http://openflights.org/demo/openflights-routedb-2048.png>.



FUENTE: P. Kareiva *et al.*, "Domesticated Nature: Shaping Landscapes and Ecosystems for Human Welfare", *Science*, 2007, jun 29, 316(5833): 1866-1869.

coccidioidomicosis y paludismo. Dado que uno de los agentes causales del paludismo, el *Plasmodium vivax*, requiere de la glicoproteína Duffy para penetrar a los eritrocitos, la mutación en el gen de la quimiocina receptora otorga protección completa contra la enfermedad. Las mutaciones en los alelos de otro gen, el CCR5 que codifica para un receptor de quimiocinas inducen protección parcial contra la infección por VIH y el desarrollo del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

CUADRO 1. Enfermedades infecciosas emergentes seleccionadas y los cambios en el medio ambiente, hospedero o agente patógeno que han promovido su emergencia

<i>Enfermedad infecciosa u organismo</i>	<i>Factores</i>
Coronavirus productor del síndrome agudo respiratorio grave (SARS, por sus siglas en inglés, <i>Severe Acute Respiratory Syndrome</i>)	Viajes internacionales, transmisión nosocomial
Cólera	Deficiente saneamiento ambiental y falta de agua potable, fenómeno El Niño, cambio climático, viajes internacionales, comercio de alimentos
Arenavirus	Cambios en la agricultura que permitieron un contacto más estrecho con roedores infectados
Virus Junin	
Virus Machupo	
Virus Guanarito	
Hantavirus	Cambios climáticos que permitieron la expansión de ratones
Fiebre del Valle del Rift	Presas, irrigación y cambio climático
Virus del Ébola-Marburg	Aumento en el contacto entre primates infectados y el hombre, diseminación nosocomial, importación de animales
Dengue	Aumento en los viajes globales, urbanización
Influenza	Agricultura, avicultura, porcicultura y aumento en los viajes globales
VIH	Cambios en la conducta sexual, urbanización, aumento en el uso de drogas ilícitas, comercio global de productos de la sangre
Rabia de los mapaches	Comercio de mapaches
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Comercio internacional de fresas
<i>Borrelia burgdorferi</i> (enfermedad de Lyme)	Aumento en la población pobre, incremento del contacto humano con garrapatas
Paludismo	Crecimiento y movimiento de poblaciones humanas, disminución en el uso y la efectividad de insecticidas, hacinamiento, uso de la tierra y deforestación, irrigación y otros usos del agua, cambio climático global, resistencia del <i>Plasmodium falciparum</i> a la cloroquina
<i>Escherichia coli</i> O157: H7 enterohemorrágica	Distribución global de alimentos, contaminación de playas, pozos, ríos
<i>Campylobacter</i> resistente a quinolonas	Abuso y mal uso de antibióticos en la agricultura y en los hospitales
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> resistente a isoniazida y rifampicina	Tratamientos incompletos o inadecuados contra la tuberculosis, hacinamiento en prisiones, hospitales y comunidades
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Contaminación de las fuentes municipales de agua, aumento de gente con inmunosupresión

CUADRO 2. Agentes etiológicos y enfermedades infecciosas descubiertos entre 1973 y 2009

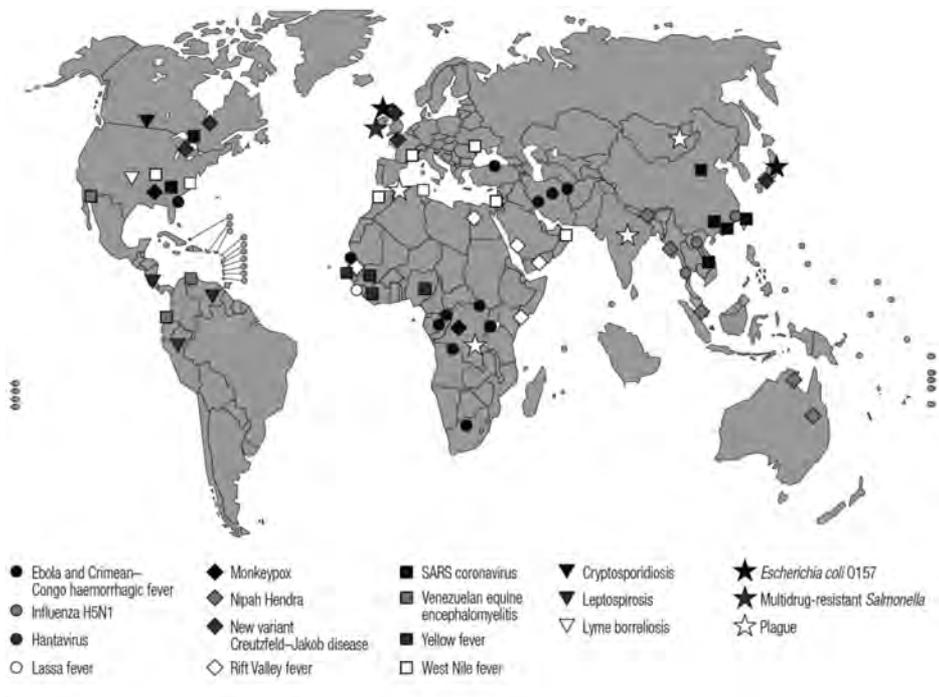
Año	Agente patógeno	Enfermedad
1973	Rotavirus	Causa más frecuente de diarrea infantil a nivel global
1975	Parvovirus B19	Crisis aplásica en anemia hemolítica crónica
1976	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Enterocolitis aguda
1976	Fiebre hemorrágica de Crimea-Congo	Fiebre hemorrágica transmitida por garrapatas
1977	Virus del Ébola	Fiebre hemorrágica del Ébola
1977	<i>Legionella pneumophila</i>	Enfermedad de los legionarios
1977	Hantavirus	Fiebre hemorrágica con síndrome renal
1977	<i>Campylobacter</i> sp.	Patógenos entéricos con distribución mundial
1980	Virus-1 linfotrópico de células T humanas (HTLV-I)	Linfoma-leucemia de células T
1982	<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	Colitis hemorrágica, síndrome hemolítico urémico
1982	HTLV-II	Leucemia de células peludas
1982	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Enfermedad de Lyme
1983	Virus de inmunodeficiencia humana	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)
1983	<i>Helicobacter pylori</i>	Úlceras gástricas
1986	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	Diarrea persistente
1988	Herpesvirus humano tipo 6 (HHV-6)	Roséola súbita
1988	Virus de la hepatitis E	Hepatitis NoA NoB transmitida parenteralmente
1989	<i>Ehrlichia chaffeensis</i>	Ehrlichiosis humana
1989	Virus de la hepatitis C	Hepatitis NoA NoB transmitida parenteralmente
1991	Virus de Guanarito	Fiebre hemorrágica venezolana
1992	<i>Vibrio cholerae</i> 0139	Nueva cepa asociada con cólera epidémico
1992	<i>Bartonella (Rochalimaea) henselae</i>	Enfermedad por rasguño de gato, angiomatosis bacilar
1993	Hantavirus	Síndrome pulmonar por Hantavirus
1994	<i>Morbillivirus</i> equino	Neumonía y encefalitis humana
1994	Virus Sabia	Fiebre hemorrágica brasileña
1994	Virus Hendra	Enfermedad respiratoria y neurológica
1995	Herpesvirus humano tipo 8 (HHV-8)	Asociado a sarcoma de Kaposi en enfermos de SIDA
1996	Nueva variante del agente de Creutzfeldt-Jakob	Enfermedad neurológica degenerativa, progresiva
1997	Cepa H5N1 del virus de la influenza	Influenza grave con frecuencia letal transmitida por aves
1999	Virus del Nipah	Encefalitis transmitida de los cerdos a los humanos
2001	Metapneumovirus humano	Enfermedad respiratoria aguda
2003	Coronavirus asociado al SARS	Síndrome agudo respiratorio grave
2003	<i>Clostridium difficile</i> , cepa NAP/027	Colitis pseudomembranosa
2004	Salmonella multidrogorresistente	Resistente a las fluoroquinolonas
2005	Bocavirus	Infección del tracto respiratorio inferior en niños
2007	Nueva (5ª) cepa del virus del Ebola	Fiebre hemorrágica aguda
2009	Influenza A(H1N1)	Influenza pandémica

Modificado de R. Khabbaz *et al.*, "Emerging and Reemerging Infectious Disease Threats", G. Mandell *et al.* (eds.), *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, Elsevier, Inc., Philadelphia, 2011.

PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO DE INFECCIONES EMERGENTES Y REEMERGENTES

De acuerdo con los informes de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2008, en países de bajos y medianos recursos, cuatro de cada diez muertes fueron causadas por enfermedades infecciosas. Este hecho contrasta con los países de altos recursos en donde nueve de cada diez muertes son debidas a enfermedades no transmisibles. Frente al avance tecnológico y de medicamentos se consideró posible la eliminación o el control de las enfermedades infecciosas, sin embargo, la carga global de enfermedades infecciosas ha aumentado en años recientes, pues ha ocurrido una reversión en los últimos veinte años en las tendencias de la incidencia de algunas infecciones, de un descenso constante a un incremento brusco. Esta clase de enfermedades infecciosas puede afectar de forma específica a regiones o a países; el mapa 3 ejemplifica este aspecto.

Mapa 3. Enfermedades infecciosas seleccionadas emergentes y reemergentes: 1996-2004



FUENTE: The World Health Report 2007 - A Safer Future: Global Public Health Security in the 21st Century. <http://www.who.int/whr/2007/en/index.html>.

VIH y SIDA

El VIH-1 es la principal causa del SIDA en el mundo; es un retrovirus de la familia de los lentivirus. Éstos generalmente producen un curso crónico de la enfermedad, con un periodo largo de latencia clínica, con replicación viral persistente y afección del sistema nervioso central. El VIH infecta a células de la respuesta inmune, en particular la subpoblación de linfocitos T CD4+ que son los linfocitos T cooperadores. En 1981 se notificaron los primeros casos de SIDA en el mundo y en 1983 en México. En la primera etapa (1981-1984), el propósito de la epidemiología se redujo a conocer la distribución y la frecuencia de los casos de SIDA. A partir de 1985 se iniciaron las encuestas serológicas, que se transformaron en encuestas centinelas para determinar seroprevalencia, factores de riesgo e incidencia en diferentes grupos poblacionales. Los datos descriptivos, la identificación de los factores de riesgo y las encuestas de comportamiento permitieron la elaboración del Programa Nacional de Prevención y Control del SIDA 1990-1994 y el diseño y la implementación de medidas de intervención. En 1987 hubo necesidad de formular predicciones del número de casos de personas infectadas para un futuro cercano. Sin embargo, las limitaciones del conocimiento de la historia natural y de los modelos epidemiológicos originaron sobreestimaciones. Desde la primera etapa de la epidemia fue indispensable considerar enfoques sociales, particularmente sobre comportamiento, y utilizar técnicas cualitativas para un mejor entendimiento de algunas variables socioepidemiológicas. Las diferentes etapas del abordaje de la epidemiología del VIH y SIDA se han ido agregando y en la actualidad permiten evaluar las intervenciones y medir las repercusiones de la epidemia. El desarrollo de la epidemiología del VIH y SIDA es el resultado del diseño de técnicas y de métodos cuantitativos y cualitativos que también depende de los avances en biomedicina, clínica y ciencias del comportamiento.

El Consejo Nacional para la Prevención y Control del SIDA (CONASIDA) inició sus funciones desde 1986, como la organización nacional responsable de coordinar los esfuerzos de organismos gubernamentales y no gubernamentales en educación, capacitación, epidemiología, atención médica, laboratorios de diagnóstico, bancos de sangre y otros aspectos relacionados con la prevención de la transmisión del VIH y SIDA. Este Consejo, basado en el Programa de Mediano Plazo para la Prevención y Control del SIDA en México, logró avances en la prevención de la transmisión sexual, por medio de la educación sobre SIDA y sexualidad al público en general y promoción del uso del condón en grupos con prácticas de riesgo, prevención de la transmisión sanguínea (por la detección

en donadores de sangre y la prohibición de la comercialización de sangre) y transmisión perinatal. A nivel nacional se creó la infraestructura básica y se desarrolló la experiencia en las áreas de educación, información, consejería, epidemiología, diagnóstico de laboratorio, investigación, aspectos clínicos, bancos de sangre, etcétera.

La evaluación rutinaria de la detección de anticuerpos antiVIH en los productos derivados de la sangre se inició en México en mayo de 1986 y resultó esencial para lograr el control de la transmisión por productos sanguíneos y para identificar los factores de riesgo asociados a la infección por VIH en los donadores de sangre. Esta evaluación documentó que la transmisión de este virus ocurría durante el proceso de toma de muestras sanguíneas, pues la tasa de seropositividad se incrementó con la frecuencia de donación y con la reutilización de materiales empleados para la toma de la sangre. En la actualidad se utiliza equipo desechable para la colección de la sangre. Por otra parte, se documentó que el factor de riesgo con mayor fuerza de asociación para la infección por VIH era la donación remunerada de sangre, por lo que este hallazgo aceleró la adopción de medidas de prevención para la transmisión sanguínea con la prohibición del comercio de la sangre.

El VIH y SIDA constituye un problema prioritario de salud pública en México y en el mundo, conforme lo demuestra el panorama mundial y regional de la epidemia. Por otro lado, desde el inicio de la epidemia y durante la evolución de la misma, la importancia de los casos de VIH y SIDA presentados en mujeres ha ido en aumento. Es también preocupante el número de infecciones en niños.

En el año 2000, la comunidad global adoptó como una de las Metas del Milenio revertir la epidemia. De acuerdo con ONUSIDA, desde ese año, se han logrado reducir las infecciones nuevas por VIH, así como aumentar el número de personas que reciben tratamiento antirretroviral con la consecuente disminución en el número de defunciones asociadas al SIDA. Globalmente, en 2012, se estimó que 35.3 (32.2-38.8) millones de personas vivían con VIH. Para ese año, ocurrieron 2.3 (1.9-2.7) millones de nuevas infecciones, lo cual significó una reducción de 33% desde 2001 y el número de defunciones asociadas al SIDA fue de 1.6 (1.4-1.9) millones en comparación con 2.3 (2.1-2.6) millones ocurridas en 2005.

Para el primer trimestre de 2014, de acuerdo con el Registro Nacional de Casos de SIDA, el número de casos de SIDA notificados entre 1983 y 2014 fue de 170 963 personas, entre quienes 30 687 (17.9%) fueron del sexo femenino. Las personas notificadas de VIH y SIDA que se encontraban vivos hasta esa fecha según el estado de evolución eran 65 365 casos de SIDA y 50 497 de VIH. La distribución de los casos de SIDA en los 121 334

en quienes se conoció la categoría de transmisión fue de la siguiente manera: 94.2% sexual, 2.4% sanguínea, 1.4% en usuarios de drogas intravenosas y 2.1% perinatal. Según la información proporcionada hasta marzo de 2014 por el Sistema de Administración, Logística y Vigilancia de Antirretrovirales, 58 520 pacientes se encontraban en tratamiento con antirretrovirales. La responsabilidad de la prevención y del control de esta enfermedad es del CONASIDA siendo su misión en 2014 la de ser una instancia rectora y de coordinación de la respuesta nacional al VIH e infecciones de transmisión sexual con base en evidencia científica y en apego a la normatividad, con respeto a los derechos humanos, la diversidad y la perspectiva de género. Su visión es la de lograr una tendencia sostenida en la disminución de la incidencia de infección por VIH y de infecciones de transmisión sexual, la eliminación de la transmisión vertical del VIH y sífilis; así como una óptima calidad de vida de las personas afectadas por el VIH e infecciones de transmisión sexual. No obstante el crecimiento sostenido del número de personas con VIH y SIDA a nivel mundial, el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) refiere que la epidemia tiende a la estabilización.

El gobierno mexicano firmó en junio de 2011 la “Declaración Política sobre el VIH/SIDA: intensificación de nuestro esfuerzo para eliminar el VIH/SIDA”, que tiene como propósito poner en práctica medidas enérgicas y decisivas en torno a los siguientes rubros:

1. Liderazgo: unirse para poner fin a la epidemia del VIH.
2. Prevención: ampliar la cobertura, diversificar los enfoques e intensificar los esfuerzos para poner fin a las nuevas infecciones por el VIH.
3. Tratamiento, atención y apoyo: eliminar las enfermedades y las muertes relacionadas con el SIDA.
4. Derechos humanos: fomentarlos para reducir el estigma, la discriminación y la violencia relacionados con el VIH.
5. Recursos destinados a la respuesta al SIDA.
6. Refuerzo de los sistemas de salud e incorporación del VIH y del SIDA en iniciativas más amplias de salud y de desarrollo.
7. Investigación y desarrollo: aspectos clave para la prevención, el tratamiento y la cura del VIH.
8. Coordinación, vigilancia y rendición de cuentas: maximización de la respuesta.
9. Seguimiento: mantener el progreso de los logros alcanzados.

Tuberculosis

La tuberculosis (TB) es una infección causada por el bacilo *Mycobacterium tuberculosis*, afecta con mayor frecuencia a los pulmones (TB pulmonar); aunque también hay TB extrapulmonar. Es una enfermedad que constituye un problema de salud pública en el mundo y, por supuesto, en México. La TB ha sido identificada como una emergencia global desde 1994 y ocupa el primer lugar entre las causas de muerte por enfermedades infecciosas curables. Los países pobres tienen la mayor carga de enfermedad: casi 80% de los pacientes con diagnóstico reciente residen en las regiones más pobladas del mundo. La nueva estrategia "Alto a la TB", formulada por la OMS, incluye entre sus prioridades tanto la investigación biomédica que conduzca al desarrollo de nuevas pruebas diagnósticas, medicamentos y vacunas, como a la investigación operacional que mejore el funcionamiento de los programas y el fortalecimiento de las infraestructuras existentes. Paulatinamente se ha ido reconociendo la necesidad de que los países y las comunidades que sobrellevan la mayor carga de la enfermedad demanden de manera activa nuevas herramientas, participen en la investigación y promuevan la implantación de las nuevas estrategias de control.

En el 2012, la OMS informó que globalmente hubo un estimado de 8.6 millones de casos incidentes de TB, y 1.3 millones de defunciones (incluyendo 320 000 defunciones en personas infectadas por VIH). La tasa de casos nuevos había venido disminuyendo aproximadamente por una década, lo cual significó que se logró uno de los objetivos del milenio en el ámbito global trazados para el 2015. Sin embargo, la meta en cuanto a disminuir en 50% la prevalencia para 2015 no se logrará ya que para el 2012 el nivel de TB activa en la población había bajado solamente 37% desde 1990. La meta de reducir en 50% la mortalidad para el 2015 parece ser factible ya que para el 2012 la tasa se había aminorado en 45%. De acuerdo con la OMS, las regiones de las Américas y del Pacífico Occidental lograrán la meta de disminuir la incidencia, la prevalencia y la mortalidad; no obstante, las regiones de África y Europa no lograrán la meta de reducción de prevalencia y mortalidad. La insuficiencia de recursos, los conflictos, la inestabilidad política y la epidemia de VIH constituyen los principales obstáculos para alcanzar estas metas. Por otro lado, el diagnóstico y el tratamiento de la TB multifármacorresistente constituye un grave problema, ya que se estima que solamente 25% de los pacientes que padecen este tipo de tuberculosis se ha diagnosticado. Si bien se han logrado avances para controlar la coinfección TB/VIH, no se han alcanzado las metas de detectar VIH en pacientes con TB o en proporcionar tratamiento antirretroviral a personas que padecen ambas enfermedades. Si

bien la mayoría de los casos y defunciones por TB ocurren en hombres, la tuberculosis representa una de las tres principales causas de muerte en las mujeres. Del total de los casos, 26% correspondió a India y a China; y 12% de los casos de TB concierne a personas que padecen VIH.

En el mundo, la tasa de éxito del tratamiento en los casos nuevos de TB pulmonar con baciloscopia positiva fue de 87% en 2009; no obstante, en 2010 el diagnóstico y el tratamiento apropiados para la TB multifármacorresistente (TBMFR) aún enfrentan grandes retos, pues a menos de 5% de los casos nuevos y previamente tratados de TB se les realizaron pruebas para TBMFR. El número de casos reclutados en México para el tratamiento ha llegado a 46 000, lo que equivale a sólo 16% de los 290 000 casos estimados de TBMFR en 2010.

Para junio de 2013, 88 de 145 países elegibles habían adquirido los reactivos a precios concesionados para utilizar un sistema moderno de biología molecular para el diagnóstico rápido y preciso de TB y de TBMFR, el Xpert MTB/RIF que ha demostrado excelentes resultados, por lo que ahora es una necesidad la expansión de este tipo de métodos de diagnóstico. En relación con la coinfección por el VIH, también ha habido progresos. En 2012 la prueba del VIH en los pacientes con TB se realizó de forma global en 40% y, a aproximadamente 80% de los pacientes con tuberculosis que viven con VIH, se les indicó tratamiento previo con cotrimoxazol y 57% está bajo tratamiento antirretroviral. Además, se ha incrementado la búsqueda de tuberculosis en los pacientes con VIH y la indicación de tratamiento preventivo con isoniacida para los casos que no tienen tuberculosis activa. Hay diez fármacos en estudio que tienen el potencial de disminuir el tiempo de tratamiento y mejorar la TBMFR. A fines de 2012 se aprobó la bedaquilina, primer medicamento nuevo aprobado desde 1940. Así mismo, se están haciendo ensayos clínicos sobre diez candidatos a vacunas, actualmente en fase I y II.

En México, la TB continúa representando un problema de salud pública, y aunque no ha alcanzado la magnitud que tiene en otras regiones, en 2012, la tasa estimada fue de 23 (intervalo de confianza 95% 19 a 28) casos por 100 000 habitantes. La notificación de casos nuevos y bajo retratamiento fue de 20 470, de los cuales 13 038 correspondieron a casos bacilíferos y 3 839 (18.75%) fueron extrapulmonares. La proporción de sujetos que terminaron el tratamiento para 2011 fue de 87% en los casos bacilíferos nuevos y 61% en los casos de retratamiento. Respecto a la coinfección por el VIH, en el periodo de 2003 a 2009, las coberturas en la administración de cotrimoxazol y antirretrovirales fueron respectivamente de 70% y 24% (véase gráfica).

Epidemiología de los casos de tuberculosis en México

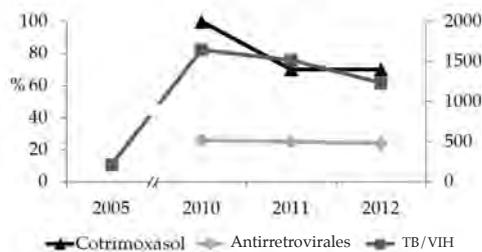
- Tasa estimada: 23 (19-28) casos por 100 000 habitantes
- Número de casos nuevos y retratados: 20 470
- Número de casos nuevos bacilíferos: 13 038
- Número de casos nuevos extrapulmonares: 3 839 (18.75%)



Tendencias en el número de casos con TB/VIH y en la proporción de ellos que reciben cotrimoxazol o antirretrovirales

Setenta por ciento de los pacientes con TB se evalúa para VIH, de ellos 8.2 resulta positivo

Tendencias de la tasa de terminación de tratamiento en México, 1985-2013 (OMS, 2013)



FUENTE: Organización Mundial de la Salud, Global Tuberculosis Control: WHO report 2013. Consultado en agosto de 2014, http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.

Los principales retos que ha afrontado México para el control de la TB han sido el fortalecimiento de la estrategia Tratamiento Acortado Estrictamente Supervisado, el diagnóstico oportuno y el tratamiento de pacientes portadores de cepas resistentes a fármacos, el manejo y el control de los pacientes infectados con VIH y que, a la vez, están infectados con *Mycobacterium tuberculosis* o que padecen la enfermedad activa y, recientemente, la emergencia de pacientes que sufren diabetes y que han sido diagnosticados con tuberculosis activa. Con el objeto de contribuir al enfrentamiento de estos retos, en 1995, varias instituciones, entre ellas el Instituto Nacional de Salud Pública, el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y de la Nutrición Salvador Zubirán y el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias se reunieron para crear el Consorcio Mexicano contra la Tuberculosis. Las aportaciones principales de los trabajos realizados son las siguientes:

1. Medición de la carga de la enfermedad, tendencias, factores de riesgo y grupos vulnerables.
2. Descripción de las consecuencias de la farmacoresistencia.
3. Identificación de la emergencia de la diabetes y de la TB.

4. Desarrollo de técnicas diagnósticas para farmacorresistencia y descripción de clonas circulantes en México, así como disponibilidad de técnicas sencillas para su uso en campo.
5. Identificación de factores que favorecen la transmisión nosocomial de la TB.
6. Descripción de factores asociados a la transmisión de la TB.
7. Utilidad de la evaluación de la reactividad a la tuberculina para el diagnóstico de la TB latente.
8. Evaluación de vacunas.
9. Evaluación del programa de control.
10. Documentación de la factibilidad y la efectividad del manejo conjunto de la asociación TB y diabetes.
11. Aspectos éticos de la investigación en tuberculosis.

Cólera

El cólera es una enfermedad infecciosa aguda que fue descrita en el siglo V a. C. por Hipócrates. En Asia ocurrieron varias epidemias en los siglos XV y XVIII, pero no fue sino hasta el siglo XIX cuando se describieron las medidas preventivas para la enfermedad, durante una epidemia en Londres. En 1883, Roberto Koch describió el agente causal, *Vibrio cholerae*, que es un bacilo curvo con gran movilidad. En el transcurso de los siglos XIX y XX ocurrieron siete pandemias de cólera, de las cuales la segunda, la tercera, la cuarta y la séptima se extendieron hasta el continente americano. La séptima inició en 1991. El cólera es una de las causas más importantes de morbilidad y de mortalidad en Asia y África y, a partir de 1991, es un problema de salud pública en América Latina. Esta enfermedad se caracteriza por una infección intestinal ocasionada por un bacilo toxigénico, el *Vibrio cholerae* 01. Las manifestaciones clínicas pueden ser graves y se caracterizan por evacuaciones diarreicas, vómito y deshidratación, acidosis metabólica y choque hipovolémico. Sin tratamiento, 50% de los casos es fatal, pero una adecuada hidratación disminuye a 1% la mortalidad.

En 1991, el cólera produjo en México una alerta inmediata y fue considerado como un asunto de seguridad nacional que conllevó a la implementación inmediata de medidas de prevención y de control que ayudaron a aminorar el costo político y económico asociado a la epidemia. A continuación se describen algunas de las medidas efectuadas:

1. Establecimiento de un sistema de vigilancia epidemiológica adecuado.

2. Aseguramiento de la atención del paciente en tiempo y forma.
3. Refuerzo y creación de la red nacional de laboratorios.
4. Estudio y control de los brotes.
5. Promoción de la educación para la salud en la población.
6. Capacitación del personal de salud.
7. Provisión de los suministros necesarios.
8. Establecimiento de un sistema básico de saneamiento del ambiente.
9. Cumplimiento de los lineamientos internacionales de sanidad.

Antes de la ocurrencia del primer caso, se entrenó a médicos rurales en el diagnóstico y en el tratamiento del cólera. Se abasteció del instrumental necesario en las clínicas locales como los hisopos rectales, medios para el transporte de muestras, así como rehidratación oral y administración de soluciones parenterales y antibióticos. Los laboratorios estatales estandarizaron técnicas para cultivo, aislamiento e identificación del *Vibrio cholerae*. Los casos de cólera se notificaron a los ámbitos estatal y nacional mediante un sistema de vigilancia epidemiológica, y las cepas de *Vibrio cholerae* aisladas se enviaron al Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (INDRE) para su tipificación.

La vigilancia epidemiológica se llevó a cabo en dos niveles: el primero se orientó hacia la detección de pacientes que llegaban al país con cólera y el segundo hacia la detección de casos autóctonos. Se establecieron controles en los puntos de entrada internacional al país como aeropuertos, puertos y fronteras; además, todos los viajeros y la tripulación fueron informados que, en el caso de presentar síntomas clínicos compatibles con cólera, deberían inmediatamente solicitar atención médica. En todos los casos sintomáticos se tomaron muestras biológicas para la identificación de *V. cholerae*; los alimentos, la basura y el agua de barcos provenientes de otros países se manejaron de una manera segura y adecuada. También se implementaron actividades de vigilancia ambiental en todo el país, como el monitoreo de enfermedades diarreicas, el estudio de nuevos brotes de forma periódica, la revisión de alimentos y la cloración del agua potable en las áreas urbanas. Una vez que las estrategias de prevención y de control se estandarizaron, éstas se publicaron en una Norma Oficial Mexicana para promover su difusión, aplicación y cumplimiento; los aspectos relevantes fueron: recomendar que todos los casos sospechosos de diarrea se estudiaran desde el punto de vista epidemiológico y microbiológico, y que todos los estados contaran con al menos cinco laboratorios con la infraestructura necesaria para el aislamiento y la identificación de *V. cholerae* 01.

Entre las múltiples actividades que se reforzaron para la preparación ante un brote epidémico de cólera, la más importante fue la provisión de agua potable (definida como la no detección de *Escherichia coli* en 100 ml de muestra de agua), que fue responsabilidad de la Comisión Nacional del Agua en el ámbito federal, y de las Comisiones Estatales de Agua en el estatal, municipal o local. Adicionalmente se promovió mejorar la calidad del agua domiciliaria mediante su cloración y hervor.

Para la atención médica se creó una comisión especial que atendiera los casos de cólera, la cual estableció y desarrolló guías de tratamiento para los enfermos. Adicionalmente, se lanzó una campaña educativa para información tanto al personal de salud como al público en general. A través de la radio y de la televisión se difundieron medidas de higiene básicas, la forma adecuada para la eliminación de excretas, cloración del agua y lavado frecuente de manos. Mediante videos y demás material audiovisual se enfatizó la importancia del saneamiento básico, incluyendo la construcción de letrinas y la cloración del agua. En estas actividades participaron maestros, profesionales de salud y personal de laboratorio.

El cólera reemergió en México en junio de 1991, con el caso de un hombre de 68 años, habitante de San Miguel Totolmaloya, comunidad localizada en la región montañosa del municipio de Sultepec, Estado de México. En diciembre del mismo año se registraron 2 381 casos adicionales, con una tasa de infección de 36 casos por millón de habitantes. La epidemia se caracterizó por algunos picos, aunque la tasa de fatalidad fue baja principalmente después de 1996. Entre los años 1991 y 2002, el total de casos fue de 45 977, con una tasa de fatalidad de 1.2%. La distribución de casos por sexo fue similar y una gran proporción de casos acontecieron en individuos de 25 a 44 años, aunque las tasas más altas sucedieron en sujetos mayores de 65 años. Esta distribución difiere de la observada en regiones endémicas, en donde la mayoría de los casos ocurre en niños menores de 5 años de edad y en mujeres en edad reproductiva. La transmisión de los casos sucedió principalmente en áreas rurales y suburbanas en las cuales no había infraestructura de saneamiento básico y, a pesar de que la transmisión intrafamiliar fue elevada, por fortuna la mortalidad y los casos graves fueron pocos. El número de casos en el continente americano ha disminuido de forma significativa: en 2003 se reportaron 25 casos en Ecuador, 7 en Canadá, 4 en Estados Unidos de América, 1 en Guatemala y ninguno en México, donde, sin embargo, se reportó un caso en 2008.

Influenza

Es una de las infecciones respiratorias más frecuentes en niños y en adultos; se asocia con un aumento en las hospitalizaciones, visitas a consulta externa y ausentismo escolar y laboral. La OMS estima que en el mundo ocurren anualmente mil millones de casos, de los cuales entre 3 a 5 millones corresponden a cuadros graves y 300 000 a 500 000 a defunciones. La mayoría de las infecciones es autolimitada, aunque puede ser grave en los extremos de la vida y en aquellos sujetos con enfermedades crónicas asociadas. El agente causal de la influenza es un virus que pertenece a la familia de los Orthomyxoviridae, la cual incluye a los virus A, B y C de la influenza. Los virus A y B son los que provocan la mayoría de las infecciones en seres humanos y ocurren como brotes estacionales y, aunque son brotes globales, rara vez ocasionan pandemias. La mayoría de las epidemias estacionales y todas las pandemias reconocidas en seres humanos son debidas al virus de la influenza A. Desde finales del siglo XIX se han descrito diversas pandemias asociadas a influenza A; la que causó el mayor número de muertes, incluyendo a México, fue la epidemia de influenza española a principios del siglo XX. A lo largo del tiempo, se han descrito diversos brotes con subtipos que son referidos en el cuadro 3.

CUADRO 3. Pandemias de influenza ocurridas desde fines del siglo XIX

<i>Años</i>	<i>Tipo del virus</i>	<i>Impacto clínico</i>
1889	H3N2	Grave
1900	H3N8	Moderada
De 1918 a 1922	H1N1 "española"	Muy grave, 50 millones de defunciones en el primer año
De 1957 a 1968	H2N2 "asiática"	Grave
1968	H3N2 "Hong Kong"	Moderada
1977	H1N1 "rusa"	Relativamente leve
De 2009 a 2011	H1N1 2009	Moderada

Adaptado de M. Steinhoff, "Epidemiology and Prevention of Influenza", K. Nelson y C. Williams (eds.), *Infectious Diseases Epidemiology. Theory and Practice*, 2a. ed., Jones and Bartlett Publishers, Inc., Sudbury, 2007: 577-600.

La medida de control más eficaz contra la influenza es la vacunación, ya que se ha demostrado en forma consistente que es segura y efectiva. Su efectividad depende de la similitud entre la cepa contenida en la

vacuna con la circulante. Las vacunas en contra de la influenza pueden ser de varios tipos de acuerdo con el tipo de virus que contienen (vivo o inactivado), número de cepas virales contra las que están dirigidas (monovalentes o trivalentes), vía de administración (nasal o intramuscular), situación epidemiológica que buscan controlar (pandemia o brote estacional), o cepa viral que contienen (A(H1N1), A(H5N1) otras). Las indicaciones de profilaxis antiviral posexposición se basan en la proximidad del contacto con un paciente con influenza confirmada, probable o sospechosa y deberá considerarse en los contactos cercanos que pertenecen a cualquiera de los grupos de riesgo. En la actualidad, los agentes antivirales son alternativas valiosas a las vacunas para aumentar la protección a individuos vulnerables, particularmente pacientes con influenza, adultos mayores que viven en asilos, personas con inmunodeficiencias, así como contactos intradomiciliarios.

En abril de 2009, la Secretaría de Salud de México informó de un incremento poco usual de pacientes con neumonía que requerían hospitalización, pues afectó sobre todo a adultos de 20 a 50 años de edad; igualmente se documentó un aumento en la identificación por laboratorio de casos de influenza estacional. Durante el mismo periodo y de forma concurrente, se identificó a un nuevo virus de influenza de origen porcino, el virus de la influenza A(H1N1). Poco tiempo después, la OMS anunció la expansión global de dicho virus y declaró una nueva pandemia. El estudio epidemiológico de los casos durante la primera fase de la epidemia demostró que sus características eran semejantes a las pandemias pasadas de influenza en las que la circulación de un nuevo virus se asoció a un incremento fuera de los periodos de influenza estacional y la población afectada era principalmente de adultos jóvenes.

La emergencia de esta nueva pandemia representó un gran reto para los médicos de todo el mundo, por un lado, la demanda excesiva de los servicios de salud y por el otro, la disponibilidad del tratamiento antiviral. Atendiendo a esta necesidad, un grupo de médicos mexicanos desarrolló y aplicó un sistema de *triage* durante la epidemia con el fin de apoyar la decisión del médico de indicar al paciente hospitalización y tratamiento antiviral, sólo tratamiento antiviral o egreso sin tratamiento antiviral. El sistema de *triage* consiste en una escala que va sumando o restando puntos de acuerdo con la sintomatología de los pacientes y según este puntaje se decidía cualquiera de las tres opciones mencionadas. El sistema de puntaje para el *triage* resultó con muy buen desempeño, ya que apoyó al médico como un complemento a su juicio clínico.

Durante la epidemia de influenza por el virus A(H1N1) en México surgió información científica, con base en un estudio de casos y controles realizado en un hospital de referencia de enfermedades respiratorias en la Ciudad de México, en el que se documentó evidencia que sugiere que la vacuna trivalente inactivada contra influenza 2008-2009 confiere protección contra la enfermedad y, en especial, contra las formas graves de la infección. Estudios posteriores han indicado que, efectivamente, pudiera existir protección cruzada principalmente en individuos que han tenido mayor probabilidad de haberse expuesto a diferentes cepas virales.

Durante esta misma epidemia se publicó información sobre las características clínicas y epidemiológicas de casos confirmados de influenza A(H1N1) hospitalizados por neumonía en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias en la Ciudad de México. Se estudiaron a 18 personas, más de la mitad de ellas tenían entre 13 y 47 años; todos los pacientes tenían fiebre, tos, disnea, insuficiencia respiratoria, aumento de los niveles séricos de deshidrogenasa láctica y opacidades bilaterales en la radiografía de tórax; el 61% tuvo linfopenia, 67% requirieron ventilación mecánica y 7 murieron. Otro grupo de investigadores mexicanos evaluó la resistencia a oseltamivir en 692 muestras de hisopados nasales en los que se aisló el virus, se documentó resistencia a zanamivir en un caso (0.14%), que está muy por debajo de lo informado en otras publicaciones. En el Hospital General Dr. Manuel Gea González se llevó a cabo un estudio de genética de poblaciones, basado en 4 689 secuencias de la hemaglutinina y de la neuraminidasa, donde se encontró, entre otros resultados, que las variantes de estas dos proteínas se dispersaron en pocos meses en casi todo el mundo, pero en México se contuvieron, probablemente debido a las medidas de control que se impusieron en el país.

Durante la pandemia, México reforzó la aplicación de las recomendaciones de la OMS que destacan la participación complementaria entre esta organización y los funcionarios de salud. Entre las indicaciones se incluye que todos los países establezcan comités de planeación multidisciplinaria con estrategias apropiadas de acuerdo con cada país, conforme al avance de la pandemia. Entre las tácticas está la organización para la preparación de la vacuna específica; para lograrlo, se ha establecido un mecanismo de transferencia tecnológica entre los Laboratorios de Biológicos y Reactivos de México SA de CV (Birmex) como propietario de la manufactura de la vacuna y Sanofi Pasteur como líder en el desarrollo de tecnología en vacunas. Con base en este acuerdo se ha logrado la producción de millones de dosis de vacunas para influenza tanto estacional como para la vacuna pandémica monovalente A(H1N1).

De acuerdo con los informes de las Naciones Unidas, en el año 2008, 50% de la población mundial vivía en áreas urbanas y para el 2025 se estima que esta proporción se extienda a 70%, además de que se incrementarán el número de ciudades con 1-5 millones de habitantes de 382 a 524 y el número de megaciudades (>10 millones de habitantes) de 19 a 27. Este crecimiento acelerado constituye un reto para la salud pública en términos de desarrollo de estrategias de vigilancia epidemiológica y de preparación y respuesta ante cualquier emergencia de salud pública.

La Ciudad de México es una megaciudad y la respuesta ante esta nueva pandemia se basó en un plan de preparación inicial y, a partir del 24 de abril de 2009, la Secretaría de Salud implementó medidas de mitigación comunitaria, contando con el apoyo de autoridades del gobierno federal y estatales. El objetivo de tales medidas fue disminuir la transmisión, para lo que se decidió mantener a la población informada respecto a la influenza, promover la higiene personal y ambiental, recomendar que las personas enfermas se quedaran en casa y tomar medidas de distancia social. Por otra parte, se fomentó que las personas con síntomas de infección respiratoria solicitaran atención médica, teniendo en cuenta que siempre hubo disponibilidad de fármacos antivirales.

Después, el programa de movilización social se apoyó en medidas masivas de comunicación apropiadas para cualquier tipo de ciudad o población, independientemente de su nivel de escolaridad. Se fomentó con ello el lavado de manos y la forma correcta de toser o estornudar (véase cartel) y de manera inmediata se distribuyeron gel alcohol y otros desinfectantes en lugares públicos y privados; en muchos sitios el reparto fue gratuito. La campaña promovió también guardar distancia entre las personas, evitando el saludo de beso o de mano.

El ejército mexicano distribuyó cubrebocas en lugares públicos, recomendando su uso principalmente para las personas enfermas, pero la población sana también los utilizó (véase foto).

El 27 de abril se estableció una de las principales medidas de control de la transmisión: suspender servicios de restaurantes; sólo se permitió despachar órdenes para llevar. Los supermercados permanecieron abiertos, pero se fomentó guardar distancia de al menos 2 metros entre persona y persona. Se cancelaron o pospusieron funciones de cine, teatro, competencias deportivas; así mismo se cerraron estadios, iglesias, templos de oración, lugares de trabajo y escuelas. Las medidas fueron aceptadas por la población en general, no obstante el elevado costo económico que implicaron.



Cartel informativo sobre la forma correcta de toser o estornudar y fomentar el lavado de manos durante la epidemia de influenza A(H1N1). Secretaría de Salud, México.

FUENTE: http://www.promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/influenza/mat/Triptico_Influenza_Oct09.pdf.



Aceptación de las medidas de mitigación de la epidemia por influenza A(H1N1) de la población. FUENTE: http://www.commons.wikimedia.org/wiki/File:Swine_Flu_Masked_Train_Passengers_in_Mexico_City.jpg.

Un estudio realizado durante la pandemia sobre el conocimiento y la adopción de medidas para la mitigación de la epidemia en la comunidad demostró que estas campañas comunitarias llegaron a la mayor parte de la población estudiada (90%) y se adoptaron uno o más de estos mensajes; sin embargo, una minoría reportó que los mensajes eran confusos y que algunas barreras económicas impidieron la adopción de las medidas de mitigación. Por otro lado, una encuesta en estudiantes de secundaria demostró que la mayoría de éstos obtuvo la información

de la televisión, la mitad de ellos de sus padres y sólo una quinta parte de sus maestros; 72% de los participantes tenían conocimientos favorables sobre la enfermedad y sobre las medidas para evitar infectarse, sin embargo, sólo 37% practicaban dichas medidas preventivas.

El secretario de salud de México, como vocero, tuvo un gran nivel de liderazgo al proporcionar información clara y transparente en todo momento. La reunión de la información fue inicialmente difícil, ya que la atención médica en México es proporcionada sobre todo por tres sistemas de salud, sin embargo, en pocos días se logró consolidar el proceso de notificación necesario para el seguimiento de la información. La capacidad de los laboratorios también fue insuficiente al principio, ya que el diagnóstico molecular se centró en el InDRE pero con rapidez se habilitaron 28 laboratorios (casi uno por cada entidad federativa) con capacidad para realizar el diagnóstico molecular.

Un informe muy reciente de un estudio nacional sobre la mortalidad en México durante la pandemia de influenza A(H1N1) con base en las estadísticas tradicionales de México documentó más de 12 000 fallecimientos debidos a todas las causas (tasa de 11.1 x 100 000 habitantes) y aproximadamente 445 000 años de vida perdidos durante la pandemia. Los adultos de 20 a 59 años fueron los más afectados de gravedad, seguidos de personas de 5 a 19 años. En contraste, las personas mayores de 60 años de edad y niños menores de 5 años de edad fueron los menos afectados. Se demostró también que México experimentó una mortalidad más elevada comparada con Estados Unidos, Europa o Australia. Finalmente, la Secretaría de Salud informó durante el 2013 que se presentaron 1 839 casos confirmados de influenza A(H1N1)pdm09 (como se ha convenido en denominar actualmente al virus causante de la epidemia de 2009) y 250 defunciones por esta causa. En la actualidad, la epidemia está controlada.

BIOTERRORISMO

Se puede definir como la utilización intencional de agentes biológicos como armas. Es sabido que las armas biológicas pueden producir un número de muertes comparable a las ocasionadas por las armas nucleares. Los ataques bioterroristas no sólo tienen el objetivo de causar la muerte sino también de maximizar el temor del oponente. El bioterrorismo constituye una de las principales amenazas del terrorismo y tiene el potencial de desestabilizar a la sociedad por las pérdidas humanas, alimentos, agricultura y economía; además, cualquier persona y cual-

quier lugar es vulnerable a sus efectos. Los agentes biológicos que se utilizan para la guerra se pueden producir fácilmente y su dispersión posibilita una elevada tasa de morbilidad y mortalidad y, en general, representan un reto para la detección, el diagnóstico y el tratamiento. Los agentes biológicos son múltiples y tienen la capacidad de contaminar el medio ambiente incluyendo aire, agua, alimentos y fómites. El reconocimiento temprano de un ataque bioterrorista es crucial para detener el daño que éste puede ocasionar.

El bioterrorismo no es nuevo ni reciente, como lo demuestra la historia de la guerra militar; esta amenaza latente ha generado estrategias por parte de los gobiernos para responder a un posible ataque terrorista. Por ello es de suma importancia entender las características biológicas de los posibles agentes, así como su viabilidad una vez que se diseminan en el medio ambiente. Mediante la liberación intencional de cualquiera de los agentes utilizados para el bioterrorismo, la exposición puede ocurrir por las mismas vías que el agente patógeno lo haría de forma natural. El potencial de transmisión está en función del transporte y la persistencia en el medio ambiente. Desafortunadamente y por razones obvias la información sobre la persistencia de estos agentes en el medio ambiente es limitada.

La lista potencial de agentes bioterroristas es extensa y, con base en el riesgo que implican para la seguridad nacional, los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de Atlanta, EUA (CDC por sus siglas en inglés) los han clasificado por prioridades en tres categorías. Vale la pena señalar que muchos agentes biológicos pueden causar enfermedad, no obstante, no todos son capaces de afectar la salud pública. Para establecer los criterios de clasificación de los agentes causantes de bioterrorismo se utilizan los siguientes indicadores (cuadro 4):

1. Impacto en salud pública basado en la capacidad de producir enfermedad y muerte.
2. Capacidad de diseminación potencial en la población de acuerdo con la estabilidad del agente, la capacidad de producción y distribución masiva de un agente virulento y la transmisión de persona a persona.
3. Percepción de la población respecto al miedo que puede ocasionar y su potencial como desestabilizador civil.
4. Preparación de la salud pública basada en la necesidad de medicamentos, la mejoría de la vigilancia epidemiológica y la capacidad de diagnóstico de laboratorio.

CUADRO 4. Categorías de los agentes causantes de bioterrorismo de acuerdo con las medidas de control de salud pública

<i>Agente biológico</i>	<i>Enfermedad</i>
Categoría A	
<i>Variola major</i>	Viruela
<i>Bacillus anthracis</i>	Ántrax
<i>Yersinia pestis</i>	Peste
<i>Clostridium botulinum</i>	Botulismo
<i>Francisella tularensis</i>	Tularemia
Virus del Ébola, virus Lassa	Fiebre hemorrágica viral
Categoría B	
<i>Coxiella burnetti</i>	Fiebre Q
<i>Brucella spp.</i>	Brucelosis
<i>Burkholderia mallei</i>	Muermo
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	Melioidosis
<i>Alphavirus</i>	Encefalitis
<i>Rickettsia prowazekii</i>	Tifo
Toxinas (ricina, enterotoxina B de <i>Staphylococcus</i>)	Síndromes tóxicos
<i>Chlamydia psittaci</i>	Psitacosis
Amenazas de la seguridad de alimentos (<i>Salmonella spp.</i> , <i>Escherichia coli</i> O157:H7)	Infecciones entéricas
Amenazas de la seguridad del agua (<i>Vibrio cholerae</i> , <i>Cryptosporidium parvum</i>)	Infecciones entéricas
Categoría C	
Agentes emergentes (Virus <i>Nipah</i> , hanta-virus)	Síndromes respiratorios graves, encefalitis

Modificado de L. D. Rotz *et al.*, "Public Health Assessment of Potential Biological Terrorism Agents", *Emerg. Infect. Dis.*, 2002, 8: 225-230.

Las características de las tres categorías de las enfermedades por bioterrorismo son:

- *Categoría A.* Los agentes de esta categoría incluyen a los que requieren de un esfuerzo intensivo de preparación de salud pública por los efectos potencialmente masivos sobre la enfermedad, la muerte, el pánico en la población y la gran desestabilización social. El potencial de diseminación es de alto a moderado, requiere intensificar la vigilancia epidemiológica, optimizar el diagnóstico de laboratorio y asegurar el abastecimiento de medicamentos.

- *Categoría B.* Los agentes de esta categoría tienen también potencial de diseminación a gran escala que produce enfermedad, pero generalmente causan menos enfermedad y muerte que los agentes de la categoría A, por lo tanto, su impacto es menor en el ámbito de la salud pública. Generan menos conciencia de su presencia en la población general que los de la categoría A y requieren menos esfuerzo de preparación a nivel de salud pública, aunque demandan mejoramiento de las medidas de salud pública, conciencia médica, vigilancia epidemiológica, capacidad para diagnóstico de laboratorio y de abasto de medicamentos. Los agentes que tienen un potencial de diseminarse, sin cumplir los criterios de categoría A, así como los agentes biológicos que pueden afectar la seguridad de los alimentos y el agua, se incluyen en esta categoría.
- *Categoría C.* Los agentes biológicos que actualmente se cree que no constituyen un riesgo a la salud pública, pero pueden emerger como amenazas futuras, se encuentran en esta categoría.

Considerando que los agentes biológicos que pertenecen a la categoría A son los que tienen mayor probabilidad de ser utilizados por los terroristas, aunque no son los únicos, se describirán a continuación ántrax, peste, botulismo, viruela, tularemia y fiebres hemorrágicas virales (cuadro 5).

Ántrax

En el año 2001, Estados Unidos sufrió un ataque de bioterrorismo mediante esporas de *Bacillus anthracis* que fueron depositados intencionalmente en el servicio postal de dicho país. La investigación de este ataque proporcionó información epidemiológica sobre las características del ántrax. Esta enfermedad puede ocurrir como resultado del contacto con ovejas o vacas infectadas y puede ser cutánea, respiratoria o gastrointestinal; la cutánea es la forma más común de la infección natural, mientras que la forma respiratoria se presenta cuando el ántrax es liberado en forma de aerosol y la gastrointestinal es poco frecuente. En los primeros 14 días, el ántrax cutáneo produce pápulas pruríticas no dolorosas en la piel expuesta, las que después se transforman en vesículas, cuya ruptura produce dolor, le sigue la formación de úlceras de color negro. El diagnóstico se puede establecer mediante hemocultivo, tinción de Gram o cultivo del líquido de las vesículas. Las esporas inhaladas de ántrax llegan a los alvéolos, ahí los macrófagos las fagocitan y las transportan a los ganglios linfáticos mediastinales, en donde pueden per-

manecer en estado latente hasta 60 días. En la fase inicial, los pacientes padecen síntomas inespecíficos como síndrome febril, fatiga, tos seca, disnea y vómito; la radiografía de tórax puede mostrar ensanchamiento mediastinal y crecimiento ganglionar hilar, derrame pleural y opacidades pulmonares. La fase inicial es seguida por fiebre más intensa, diaforesis, meningitis hemorrágica y choque. El diagnóstico de esta forma de ántrax puede demostrar al microorganismo en muestras pleurales (ya sea líquido o biopsia pleural), o bien biopsias de ganglios linfáticos mediastinales, en donde es posible evidenciar una elevada cantidad de bacilos y antígenos. El tratamiento debe incluir ciprofloxacino o doxiciclina más dos antibióticos de la siguiente lista: rifampicina, cloranfenicol, clindamicina, claritromicina, eritromicina, gentamicina, estreptomina o vancomicina. Se recomienda un total de 60 días de tratamiento y se puede cambiar a vía oral en cuanto las condiciones clínicas del paciente lo permitan. Los individuos que estuvieron expuestos al ántrax deben recibir profilaxis posexposición con ciprofloxacino o doxiciclina durante 60 días. La vacunación para el ántrax está disponible y se puede utilizar como un complemento al tratamiento antibiótico, es segura, no obstante su eficacia es menor al 100%, la duración de la protección es incierta y requiere varias aplicaciones de refuerzo.

Peste

También llamada muerte negra, es causada por el bacilo Gram negativo *Yersinia pestis*, que ha producido millones de muertes en el mundo. Se estima que en el siglo XIV una tercera parte de la población europea sucumbió a esta enfermedad. La peste se transmite mediante la picadura de pulgas infectadas con el bacilo. La peste tiene tres formas de presentación: la bubónica, la septicémica y la neumónica. La forma bubónica se desarrolla de 2 a 8 días después de la exposición y el cuadro clínico se caracteriza por fiebre de inicio súbito, diaforesis, debilidad y linfadenopatía en cuello, axila e ingle. Los ganglios son extremadamente dolorosos y rara vez fluctúan o supuran. Si no se presenta linfadenopatía, se denomina peste septicémica. No hay transmisión de persona a persona de la peste bubónica o septicémica, sin embargo, la neumónica es altamente contagiosa y la más mortal, y se puede desarrollar a partir de diseminación hematogena o linfática del cuadro clínico bubónico. La peste neumónica causa 100% de mortalidad si no se trata tempranamente con antibióticos. Los pacientes afectados presentan fiebre, diaforesis, malestar y tos con expectoración hemoptoica. El diagnóstico

se puede establecer mediante la demostración de *Yersinia pestis* en biopsias de ganglios linfáticos afectados y cultivo y a partir de muestras de origen pulmonar. El tratamiento con antibióticos es efectivo; éstos incluyen estreptomina, gentamicina, ciprofloxacino o doxiciclina. No hay vacuna disponible y los contactos deben recibir tratamiento profiláctico durante 7 días. *Yersinia pestis* aerolizada es un arma que produciría el desarrollo de múltiples casos de peste neumónica. La OMS refiere que 50 kg de esta bacteria aerosolizados en una población de 5 millones puede producir 36 000 muertes y de 80 000 a 100 000 hospitalizaciones.

Botulismo

El botulismo es causado por *Clostridium botulinum* que crece de forma natural en la tierra, es anaerobio esporulado y produce una toxina que tiene efectos neuropáticos. La mayoría de los casos de botulismo se producen por ingestión de alimentos contaminados y no cocidos lo suficiente; la toxina requiere de calentamiento a 85°C para inactivarse. La neurotoxina se absorbe muy bien por vía intestinal y esta vía es más común que la pulmonar o por heridas. La toxina una vez absorbida se fija de forma irreversible a la sinapsis colinérgica de nervios periféricos, produciendo liberación de acetilcolina. Al principio hay molestias gastrointestinales y rápidamente progresa el daño a nervios craneales produciendo diplopia, disfagia, disartria y en particular déficit bulbar. El daño causa parálisis progresiva bilateral descendente a la que le sigue insuficiencia respiratoria y muerte. El tratamiento se debe dar en una unidad de cuidados intensivos para tener soporte mecánico ventilatorio, prevenir infecciones secundarias y administrar antitoxina. El diagnóstico de botulismo es sobre todo clínico y es importante no retrasar el tratamiento. Hay vacuna disponible para personas con riesgo elevado de exposición aunque se requiere administrar varias dosis para el desarrollo de inmunidad protectora. El escenario más probable de bioterrorismo es por diseminación y contaminación de alimentos y aerolización.

Viruela

El virus de la viruela es uno de los principales agentes de bioterrorismo por la tasa elevada de mortalidad que produce. El virus de la viruela es altamente contagioso y su introducción deliberada mediante la aerolización o por acarreadores humanos en la población puede provocar una pandemia en pocas semanas. Esta enfermedad tiene un periodo de

incubación de 12 a 14 días, después se presenta fiebre elevada, cefalea y malestar general para más adelante desarrollar un *rash* maculopapular inicialmente en cara, brazos y membranas mucosas de orofaringe, y después se extiende a tronco y piernas; en 48 horas el *rash* se torna en vesículas. No hay disponibilidad de terapia posexposición, no obstante la vacuna profiláctica puede prevenir o aminorar la gravedad de las lesiones si se administra en los primeros cuatro días posteriores a la exposición. Las medidas de control incluyen detección temprana, aislamiento de personas infectadas y vigilancia epidemiológica de contactos.

Tularemia

Es causada por el bacilo zoonótico *Francisella tularensis*. La tularemia también se le conoce como “peste leve” o “enfermedad del hombre del mercado”. La bacteria es altamente infectante y tiene múltiples reservorios naturales incluyendo conejos, ardillas y gatos, aunque los conejos domésticos son la fuente principal de infección para el ser humano. No ocurre transmisión de persona a persona. El periodo de incubación es de 1 a 14 días. Las formas clínicas de la tularemia dependen de la vía de entrada y son: úlcero-glandular, glandular, óculo-glandular, faríngea, tifoidal y neumónica, esta última es la más grave. Los síntomas incluyen fiebre de inicio rápido, cefalea, mialgias, particularmente espalda baja, odinofagia, náusea, vómito y diarrea. La tularemia tifoidal es sistémica con áreas focales de necrosis en los principales órganos y coagulación intravascular diseminada, sin afectar ganglios linfáticos. El diagnóstico se establece mediante estudio histopatológico y cultivo de las muestras de las partes afectadas. Las opciones de tratamiento incluyen aminoglucósidos, macrólidos, fluoroquinolonas y cloranfenicol. La dispersión aerolizada por el bioterrorismo produce casos de forma pleuro-neumónica; sin antibióticos muchos casos progresan a insuficiencia respiratoria y muerte.

Fiebres hemorrágicas virales

Los virus que pueden causar fiebres hemorrágicas virales, al igual que los patógenos descritos previamente, se consideran agentes de bioterrorismo categoría A y pertenecen a dos familias: Filoviridae (virus Ébola y Marburg) y Arenaviridae (virus Junin, Machupo, Garanito y Lassa). Los vectores incluyen roedores, mosquitos y garrapatas. El término *fiebre hemorrágica viral* se refiere a la enfermedad febril asociada a daño vascular. El periodo de incubación es de 2 a 21 días, seguido de fiebre de inicio

CUADRO 5. Características de los agentes usados para bioterrorismo

Enfermedad (patógeno)	Modo de transmisión y periodo de incubación	Método de diagnóstico	Tratamiento
Ántrax (<i>Bacillus anthracis</i>)	Cutánea e inhalada (principalmente) De 4 a 6 días	Cultivo de herida, hemocultivo, tinción de Gram, prueba rápida tipo ELISA	Ciprofloxacino 400 mg IV c/12 horas o 500 mg VO c/12 horas o Doxiciclina 200 mg IV dosis inicial seguida de 100 mg c/12 horas Duración 60 días
Peste (<i>Yersinia pestis</i>)	Aerolización y vector De 2 a 8 días	Tinción de Gram de expectoración, sangre o líquido cefalorraquídeo	Estreptomicina 30 mg/kg/día IM en dos dosis o Gentamicina 5 mg/kg IM o IV una dosis por día o Ciprofloxacino 400 mg IV c/24 horas hasta mejoría clínica, seguir con 750 mg VO c/12 horas Duración de 10 a 14 días
Botulismo (<i>Clostridium botulinum</i>)	Aerolización Contaminación de alimentos De horas a 8 días	Serología	Antitoxinas botulínicas
Viruela (<i>Variola</i>)	Aerolización, contacto directo y con fómites De 12 a 14 días	Presentación de las lesiones cutáneas, cultivo celular y microscopía electrónica del líquido de vesículas	Tratamiento de soporte
Tularemia (<i>Francisella tularensis</i>)	Aerolización y vector roedor De 1 a 14 días	Cultivo o fluorescencia directa de expectoración o sangre Inmunohistoquímica	Estreptomicina 7.5-10 mg/kg IM dos dosis o Gentamicina 3-5 mg/kg/día IV una dosis por día o Ciprofloxacino 400 mg IV c/12 horas hasta mejoría clínica, seguir con 500 mg VO c/12 horas Duración de 10 a 14 días
Fiebres hemorrágicas virales	Aerolización, vectores como roedores, mosquitos y garrapatas De 2 a 21 días	RT-PCR, Aislamiento viral, Anticuerpos IgM, ELISA	Ribavirina 30 mg/kg IV dosis inicial (dosis máxima 2 gr), seguido de 16 mg/kg (dosis máxima 1 gr) IV c/6 horas por 4 días, seguir 8 mg/kg (dosis máxima 500 mg) c/8 horas por 6 días

Modificado de K. K. O'Brien *et al.*, "Recognition and Management of Bioterrorism Infections", *Am. Fam. Physician*, 2003, mayo 1, 67(9): 1927-1934; y G. W. Waterer y H. Robertson, "Bioterrorism for the Respiratory Physician", *Respirology*, 2009, 14: 5-11.

súbito, mialgias, malestar general, cefalea, vómito, dolor abdominal y diarrea no sanguinolenta. En los primeros cinco días en la mayor parte de los casos se desarrolla un *rash* maculopapular en el tronco. Las manifestaciones tardías de la enfermedad incluyen insuficiencia hepática, renal, déficit neurológico, diátesis hemorrágica, choque y disfunción orgánica múltiple. Los indicadores de mal pronóstico son alteración de la función hepática, sangrado y déficit neurológico. El contacto directo con los fluidos del paciente y la reutilización de agujas no estériles es la causa de la mayoría de los casos. La aerolización es probablemente el modo de diseminación terrorista. Se ha utilizado ribavirina con resultados limitados, sin embargo los CDC recomiendan su utilización en los casos sospechosos. Es fundamental notificar y aislar los casos sospechosos. El tratamiento primario es de soporte. No se dispone de vacuna.

ESTRATEGIAS DE PREVENCIÓN Y CONTROL CONTRA AGENTES EMERGENTES, REEMERGENTES Y ASOCIADOS A BIOTERRORISMO

El SARS y la influenza pandémica subrayaron la importancia de la capacidad global para controlar las amenazas que implican los agentes infecciosos emergentes, reemergentes y los asociados a bioterrorismo ante los trabajadores de la salud pública, los tomadores de decisiones en los ámbitos nacional e internacional y la población en general. Un aspecto relevante es la necesidad de participación y de colaboración entre las diferentes instancias. La creación de estas alianzas facilita el establecimiento de sistemas de vigilancia epidemiológica, diagnóstico y comunicación que permitan reconocer la presentación de eventos poco habituales y el rápido intercambio de información que impida su mayor diseminación; la OMS ha tenido a su cargo establecer estas colaboraciones. Ejemplos de ello son la Red Global de Vigilancia de Influenza, creada hace más de medio siglo y que agrupa a más de 120 instituciones en más de 90 países, el Sistema Global de Vigilancia de Salmonela y el Proyecto Global de Vigilancia de Resistencia a Medicamentos contra la Tuberculosis. En el año 2000 se creó la Red Mundial de Alerta y Respuesta ante Brotes Epidémicos (GOARN, por sus siglas en inglés, *Global Outbreak Alert and Response Network*) como un mecanismo de colaboración técnica entre instituciones y redes ya existentes que unan sus recursos humanos y técnicos para identificar, confirmar y responder con rapidez a brotes epidémicos de importancia internacional. La red brinda un marco operacional para reunir esos conocimientos especializados con el propósito

de mantener a la comunidad internacional continuamente alerta ante la amenaza de brotes epidémicos y preparada para actuar. Sus objetivos son combatir la propagación internacional de brotes epidémicos, velar por asistencia técnica oportuna y apropiada y contribuir a la preparación contra las epidemias y el incremento de la capacidad a largo plazo.

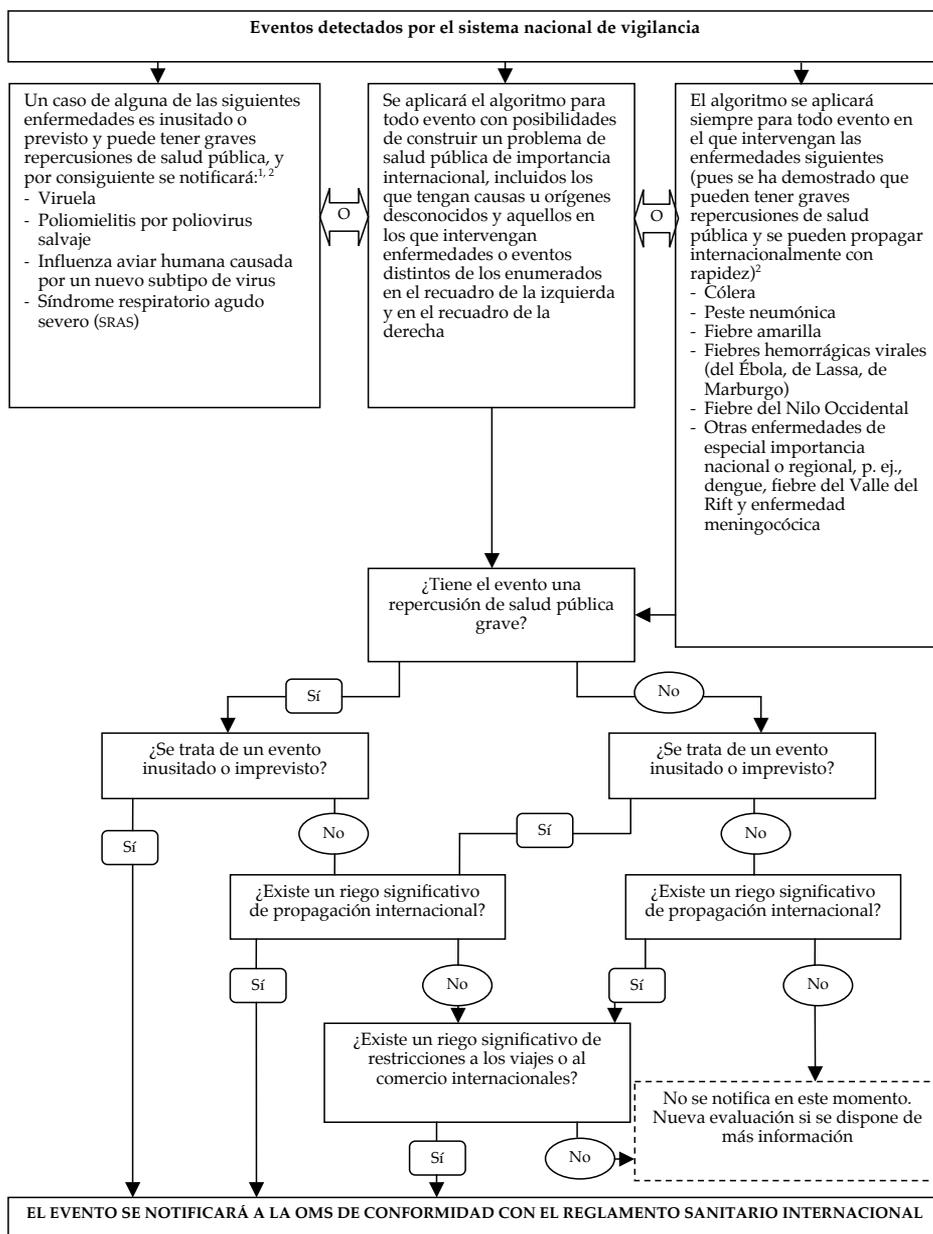
Estas redes internacionales buscan cumplir con el Reglamento Sanitario Internacional (RSI) que es un instrumento jurídico internacional de carácter vinculante para 194 países, entre ellos todos los estados miembros de la OMS. Tiene por objetivo ayudar a la comunidad internacional a prevenir y a afrontar riesgos agudos de salud pública susceptibles de atravesar fronteras y amenazar a poblaciones de todo el mundo. Después de su formulación inicial en 1969, en el 2005 se modificó dicho reglamento de manera sustancial entrando en vigor en 2007. Las diferencias importantes entre el RSI de 1969 y la revisión del 2005 estriban en considerar todos los eventos de salud pública en lugar de solamente tres enfermedades, pasar a la vigilancia activa utilizando evidencia en tiempo real en vez de realizar vigilancia pasiva, y tener como propósito la detección y la contención en la fuente en lugar de buscar el control en las fronteras. Su implementación esta íntimamente relacionada con diferentes políticas internacionales: la dignidad humana, la seguridad, el desarrollo y el poder económico.

El RSI se enfoca en los siguientes tipos de amenazas para la seguridad sanitaria mundial:

1. Las derivadas de acciones o de causas humanas.
2. Las provenientes de la interacción del hombre con el medio.
3. Las emanadas de eventos súbitos relacionados con productos químicos o materiales radiactivos, como accidentes industriales y fenómenos naturales.

El RSI revisado define una emergencia como un “evento extraordinario” que podría propagarse a otros países o exigir una respuesta internacional coordinada. Los incidentes que pueden constituir una emergencia de salud pública de importancia internacional son evaluados por los estados participantes mediante un instrumento de decisión que, si se cumplen determinados criterios, exige que se notifique la situación a la OMS (cuadro 6). La notificación es obligatoria desde que se presenta un solo caso de una enfermedad que pueda poner en peligro la seguridad sanitaria mundial: influenza humana causada por un nuevo subtipo de virus, poliomielitis provocada por un poliovirus de tipo salvaje, SARS y viruela.

CUADRO 6. Instrumento de decisión para la evaluación y la notificación de eventos que pueden constituir una emergencia de salud pública de importancia internacional



1 Según las definiciones de casos establecidas por la OMS.

2 Esta lista de enfermedades se utilizará exclusivamente para los fines del presente Reglamento.

FUENTE: Organización Mundial de la Salud, Reglamento Sanitario Internacional (2005). 2a. ed., Ginebra, 2008.

La amplitud de las definiciones de “emergencia de salud pública de importancia internacional” y de “enfermedad” permiten la inclusión en el RSI de amenazas distintas, como las provocadas por la liberación accidental o intencional de agentes patógenos o de material químico o nuclear. Ello amplía el alcance del reglamento con miras a proteger la seguridad sanitaria mundial de forma integral. El RSI (2005), en lugar de concentrarse casi exclusivamente en la adopción de medidas en los aeropuertos y en los puertos marítimos con el fin de bloquear la importación de casos, como exigía el RSI (1969), se inclina por la respuesta rápida en el origen mismo del brote e introduce un conjunto de requisitos mínimos en materia de “capacidad básica necesaria” que deben cumplir todos los países para detectar, evaluar, notificar y comunicar los eventos incluidos en el RSI (2005) y su finalidad es fortalecer la colaboración a escala mundial intentando mejorar la capacidad y demostrando a los países que el cumplimiento redundará en su beneficio. Así, el cumplimiento tiene tres incentivos importantes: reducir los trastornos graves que trae consigo un brote, acelerar la contención de éste y mantener el prestigio del país afectado ante la comunidad internacional. Una novedad revolucionaria respecto a tratados anteriores y reglamentos internacionales es el hecho de que el RSI reconoce explícitamente que las fuentes de información no oficiales sobre los brotes a menudo se adelantan a las notificaciones oficiales como ocurre, por ejemplo, cuando un país se resiste a revelar que se ha producido un incidente en su territorio. Ahora la OMS está autorizada, en virtud del RSI, a tener en cuenta fuentes de información distintas de las notificaciones oficiales. La OMS siempre intentará conseguir la verificación de esa información por el país afectado antes de adoptar medida alguna al respecto; esto refleja una nueva realidad en un mundo de comunicaciones instantáneas, pues para los gobiernos ya no es factible ocultar los brotes epidémicos. Por lo tanto, desde el punto de vista de la salud pública, ante la presencia de eventos que ponen en peligro a la población se debe establecer como finalidad limitar el daño, atender a los afectados y controlar la fuente de diseminación para reducir la enfermedad y la muerte.

Algunos autores consideran la clasificación de escenarios para responder ante un posible evento asociado a la liberación intencional por los agentes biológicos:

1. Ataque directo a un país o a una región: su atención y control dependerá de los riesgos y recursos.
2. Diseminación de un brote a través de las fronteras: considera las vías de comunicación por tierra, aire y agua.

Las unidades de salud pública tanto locales como estatales desempeñan un papel de suma importancia en los planes de preparación y respuesta para todo tipo de emergencias. Los profesionales de salud pública de estas unidades deben tener acceso inmediato a la información, a los procedimientos y a las recomendaciones que les ayuden a determinar prioridades con prontitud y a tomar las medidas necesarias durante la respuesta a una amenaza a la salud pública global (cuadro 7).

CUADRO 7. Medidas de planeación y vigilancia epidemiológica para el control en tiempo real en estados de emergencia

<i>Tipo de aplicación</i>	<i>Ejemplos</i>
Detección de eventos	Facilitar los expedientes detallados de los pacientes afectados
Estimación de la magnitud del evento	Aplicación de definiciones nuevas de enfermedad Impacto del monitoreo del sistema de cuidado de la salud
Determinación del agente causal	Identificación mediante técnicas de laboratorio
Descripción de la historia natural de la enfermedad	Establecer la definición de caso para enfermedades nuevas Seguimiento de cambios en la gravedad de la enfermedad
Evaluación de la respuesta del evento	Evaluación de cambios en la incidencia de la enfermedad Monitoreo de vacunación o efectividad de fármacos
Monitoreo de las prácticas de salud	Evaluación del manejo de los pacientes de acuerdo con la definición de caso Detección de prácticas terapéuticas inapropiadas
Facilitar la planeación	Establecimiento de recursos en el lugar apropiado Referencia adecuada de pacientes
Mejorar la comunicación del riesgo	Recomendaciones a tiempo a la población en riesgo Reducir el pánico y la exaltación

Adaptado de J.-P. Chretien *et al.*, "Real-Time Public Health Surveillance for Emergency Preparedness", *American Journal of Public Health*, 2009, 99: 1360-1363.

Las medidas de preparación y respuesta se han diseñado para asistir en las actividades de planeación, vigilancia epidemiológica y diagnóstico rápido de laboratorio, así como el aseguramiento del abastecimiento de medicamentos. Los planes de preparación de respuesta que se desarrollen en el país, en la región y en la localidad deberán incluir seis líneas de acción fundamentales, a saber:

1. *Vigilancia epidemiológica.* Es la piedra angular de respuesta ante eventos de este tipo; opera como sistema de alerta mediante redes establecidas de personas y actividades que funcionan desde el ámbito local hasta el internacional. Como sistema de alerta desarrolla actividades para caracterizar el brote, dar seguimiento al evento y proveer información para poder declarar finalizado dicho brote.
2. *Capacidad diagnóstica de laboratorio.* La participación del laboratorio es central pues los esfuerzos se orientan hacia la optimización de los procedimientos para el diagnóstico y de seguridad de los agentes causantes de amenazas para la seguridad sanitaria mundial como los define el RSI. Es fundamental para la confirmación de la enfermedad infecciosa y requiere contar con redes nacionales y estatales de laboratorios de salud pública con capacidad para desarrollar pruebas de aislamiento e identificación de agentes.
3. *Reserva estratégica de medicamentos, vacunas e insumos.* Una vez detectado y confirmado el brote se debe controlar en las etapas iniciales; para ello es indispensable contar con los recursos humanos y materiales para la atención de la población. También es necesario tener reservas de medicamentos, vacunas e insumos disponibles en todo momento.
4. *Atención médica.* Otorga atención médica a los casos y protege a la población susceptible sana. En el departamento de urgencias, las actividades de control se enfocan fundamentalmente al diagnóstico de la enfermedad, que incluye establecer la definición de caso y la implementación de las medidas de aislamiento apropiadas. Los principios básicos para el manejo de individuos afectados y sus contactos son evitar concentración de casos en hospitales para impedir la diseminación del padecimiento y, ante la posibilidad de que la demanda de atención rebase la capacidad de respuesta, es necesario proteger la integridad del personal de salud, enfermos, equipo e insumos. Para esto es indispensable coordinar las fuerzas armadas y las del orden público para apoyar a las auto-

ridades de salud, así como a las actividades de enfermería que se deben enfocar hacia los métodos de aislamiento y participación en los planes de contingencia. La política hospitalaria se orienta al desarrollo del plan de responsabilidad, como los primeros respondedores y proveedores de la evaluación de riesgo.

5. *Información y difusión.* El establecimiento de líneas de comunicación abierta, educación y vigilancia epidemiológica están a cargo del personal de salud pública, ya que participan en el plan de control sirviendo como intermediarios entre el médico, las unidades de emergencia y el laboratorio. La intervención de la comunidad también es importante.
6. *Coordinación.* Para que las acciones de control de un brote por enfermedad infecciosa o evento objeto de reporte se consoliden favorablemente, se requiere de una estrecha coordinación entre todos los participantes. Es necesario crear un comité que integre las acciones y lleve a cabo la coordinación entre autoridades nacionales, estatales y locales con base en los mecanismos existentes. Los planes de preparación y de respuesta especifican las acciones que corresponden a cada nivel de organización.

LECTURAS RECOMENDADAS

- BRADEN, C. R. *et al.* 2013. "Progress in Global Surveillance and Response Capacity 10 Years after Severe Acute Respiratory Syndrome", *Emerg. Infect. Dis.* 19(6): 864-869.
- CÓRDOBA VILLALOBOS, J. A. *et al.* (eds.). 2008. *25 años de SIDA en México. Logros, desaciertos y retos.* Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca, Mor.
- CÓRDOBA VILLALOBOS, J. A. *et al.* (eds.). 2010. *La epidemia de influenza A/H1N1 en México.* Editorial Médica Panamericana, Ciudad de México.
- HARDIMAN, M. C. y World Health Organization Department Of Global Capacities, Alert And Response. 2012. "World Health Organization Perspective on Implementation of International Health Regulations", *Emerg. Infect. Dis.* 18(7): 1041-1046.
- HOPEWELL, P. C. *et al.* 2014. "Updating the International Standards for Tuberculosis Care. Entering the Era of Molecular Diagnostics", *Annals of the American Thoracic Society.* 11(3): 277-285.
- KHABBAZ, R. *et al.* 2011. "Emerging and Reemerging Infectious Disease Threats", G. Mandell *et al.* (eds.), *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* Elsevier Inc., Philadelphia.
- LAWN, S. D. y A. I. Zumla. "Tuberculosis", *Lancet.* 2011. 378(9785): 57-72.

- LIN, L. *et al.* 2014. "What Have We Learned about Communication Inequalities during the H1N1 Pandemic: A Systematic Review of the Literature", *BMC Public Health*. 14: 484.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2008. *Reglamento Sanitario Internacional (2005)*. 2a. ed., Ginebra.
- SEPÚLVEDA, J. *et al.* 2006. "Cholera in Mexico: the Paradoxical Benefits of the Last Pandemic", *Int. J. Infect. Dis.* 10: 4-13.

ÉTICA MÉDICA Y BIOÉTICA

Simón Kawa y Samuel Weingerz***

ÉTICA MÉDICA

El conocimiento de la ética debería ser importante para el médico, sin embargo, es recurrente en el estudiante de medicina, y en general en los profesionales de la atención a la salud, preguntarse ¿por qué tengo que estudiar una materia como ética?, cuyas ideas preconcebidas son: “mientras el médico tenga conocimientos y experiencia, la ética no importa”, “la ética se aprende en la familia, no en la escuela de medicina”, “la ética médica se aprende observando cómo actúan los médicos mayores, no de los libros o de las conferencias”, “la ética es trascendental, pero nuestro plan de estudios ya está demasiado lleno y no hay lugar para la enseñanza de la misma”.

A lo largo de casi toda la historia y en casi todas partes del mundo, ser un médico ha significado algo especial. La gente acude a los médicos para ayudarse con sus necesidades más apremiantes –alivio del dolor y del sufrimiento–, así como para restaurar su salud y su bienestar. Esto último se ha comentado y analizado ampliamente como parte de los fines modernos de la medicina y no para evitar la muerte, situación analizada y enunciada por el Hastings Center, institución de investigación dedicada a la bioética y al bienestar público, y por Daniel Callahan desde 2004. Los pacientes permiten a los médicos ver, tocar y manipular todas las partes de sus cuerpos, incluso las más íntimas. Lo hacen porque confían en que sus médicos siempre van a actuar para cuidar el interés

* Dirección General de Coordinación de los Institutos Nacionales de Salud, simon.kawa.ccinshae@gmail.com.

** Hospital General Dr. Manuel Gea González, bioeticaweingerz@gmail.com.

superior del paciente. La ética es principalmente una cuestión *de saber* y la moralidad es una cuestión *de hacer*. Su estrecha relación consiste en la preocupación de la ética para proporcionar criterios racionales para que la gente decida cómo se comporta en estos aspectos.

Hoy, la ética médica se estudia de otra manera. Los avances de la segunda mitad del siglo XX, que podríamos llamar *la era biológica* debido a los grandes descubrimientos en este campo, permiten estudiar a nivel molecular el origen y el desenlace de muchas enfermedades, ya sean causadas por microorganismos o por una enfermedad genética. Se han tenido que agregar algunos principios éticos para lidiar con los dilemas a que estamos expuestos con este nuevo conocimiento; así los principios éticos como el respeto a las personas (autonomía), el consentimiento informado y la confidencialidad son básicos en la relación médico-paciente. Sin embargo, la aplicación de estos principios en circunstancias específicas es a menudo problemática, ya que los médicos, los pacientes, sus familiares y otros profesionales de la salud pueden estar en desacuerdo sobre cuál es la manera correcta de actuar en una situación. Ejemplo de ello es cuidar los datos genéticos en relación con terceros como aseguradoras, o utilizar muestras biológicas ya estudiadas con otro propósito para nuevos estudios sin consentimiento informado expreso, o la selección de pacientes para trasplantes; otro ejemplo es la guía para ingresar a diálisis o para ingresar a una clínica de técnicas de reproducción asistida. Estos sólo son algunos ejemplos con importante grado de complejidad en la toma de decisión y en la aplicación de estos principios para mejorar la relación médico-paciente. Es trascendental que los médicos conozcan y ejemplifiquen los valores fundamentales de la medicina, especialmente los que nos diferencian de otras profesiones que, si bien también requieren un comportamiento ético, es en la profesión médica que los siguientes valores nos deben distinguir: compasión, competencia y autonomía.

Compasión

El hecho de recordar que, además de los derechos humanos, el primero de los pilares que sostiene la ética médica es la compasión, entendida como la comprensión y la preocupación por la angustia de otra persona, es esencial para la práctica de la medicina, con el fin de hacer frente a los problemas integrales del paciente, y habrá que esforzarse por verlo como un todo, como una entidad bio-psico-social; el médico debe identificar los síntomas que el paciente está experimentando así como sus

causas subyacentes y mostrar claramente que quiere ayudar al paciente a lograr el alivio. Los pacientes responden mejor al tratamiento si perciben que el médico aprecia sus preocupaciones y los está tratando de manera integral y no sólo sus enfermedades.

Competencia

El segundo de los pilares que sustenta la ética médica es el conocimiento, ya que la falta de competencia puede ocasionar la muerte o la enfermedad grave para los pacientes. Los médicos se someten a un largo periodo de formación para asegurar la competencia, pero, teniendo en cuenta el rápido avance del conocimiento médico, es un continuo desafío para ellos mantener su competencia. Desde esta perspectiva, no sólo deben mantener sus conocimientos científicos y habilidades técnicas, sino también adquirir conocimientos, habilidades y actitudes éticas, ya que las nuevas cuestiones éticas surgen con los cambios en la práctica médica y en el entorno social y político, ejemplo de ello es adquirir habilidades en la comunicación para obtener el consentimiento informado o aprender cómo dar una mala noticia.

Autonomía

El tercer fundamento moderno de la ética médica lo tiene la autonomía que es el valor primordial de la medicina que más ha cambiado en los últimos años. Tradicionalmente los médicos han disfrutado como individuos un alto grado de autonomía clínica para decidir cómo tratar a sus pacientes, llamado principio de libertad terapéutico. A pesar de esta forma de ejercer su autonomía, los médicos se han moderado en muchos países por la imposición de controles ejercida por los gobiernos y otras autoridades. A pesar de estos desafíos, los médicos todavía valoran su autonomía clínica y profesional y tratan de preservarla lo más posible. Al mismo tiempo, ha habido una aceptación generalizada de los médicos en todo el mundo por respetar la autonomía del paciente, es decir que los pacientes deben ser los encargados de decidir, en última instancia, los asuntos de su salud que los afectan.

Estos valores, junto con el respeto a los derechos humanos fundamentales, sirven como base de la ética médica moderna y actual.

En los últimos tiempos, la ética médica se ha visto muy influida por la evolución en materia de derechos humanos en un mundo pluralista y multicultural, con muchas tradiciones morales distintas, para lo que

los principales acuerdos internacionales de derechos humanos pueden proporcionar una base para la ética médica que es aceptable a través de fronteras nacionales.

El arte de la medicina consiste en la aplicación de la ciencia médica y de la tecnología a los pacientes, observándola de manera individual, teniendo en cuenta siempre a sus familias y a sus comunidades; consecuentemente, visto de este modo, no hay dos casos en los cuales todas estas variables sean idénticas. Con mucho, la mayor parte de las diferencias entre los individuos, las familias y las comunidades no es fisiológica, por lo que es importante reconocer y hacer frente a las diferencias culturales de cada individuo para que de esta manera las artes, las humanidades y las ciencias sociales, junto con la ética, se enriquezcan con las ideas y los datos de estas y otras disciplinas.

Además de su adhesión a estos tres valores fundamentales, la ética médica se diferencia de la ética general aplicable a todo el mundo, por ser profesada públicamente en un juramento, como el que la Asociación Médica Mundial concibió en la Declaración de Ginebra en 1948. Los juramentos y los códigos varían de un país a otro e, incluso, dentro de los países, pero tienen muchas características comunes, en especial la mención respecto a los requisitos de que los médicos consideren los intereses de sus pacientes por encima de sí mismos, el no discriminar a los pacientes por raza, religión u otros motivos de derechos humanos, el de proteger la confidencialidad de la información del paciente y proporcionar atención de emergencia a cualquier persona necesitada. Existe una versión actualizada del antiguo juramento de Hipócrates, como un modelo para los médicos en todas partes; se ha revisado en varias ocasiones, la última en 2006. Estas declaraciones y códigos no siempre están vinculados a la ley, en cuyo caso sirven como guías o lineamientos generales que ayudan a normar la conducta y el acto médico. En muchos países, las organizaciones que establecen las normas para el comportamiento del médico y vigilan su cumplimiento tienen ahora un considerable número de miembros no médicos.

En la mayoría de los países, la ética médica está estrechamente relacionada con la ley; existen leyes que especifican cómo los médicos están obligados a hacer frente a problemas éticos en la atención al paciente. También existen leyes y normas para regular la investigación, en especial cuando se ven involucrados seres humanos, para la concesión de licencias médicas y para que los funcionarios públicos de cada país puedan amonestar a los médicos por violaciones éticas. Por lo general, los requisitos de la ética médica y del derecho son similares, sin embargo

la ética no debe confundirse con la ley. Una diferencia importante entre los dos es que las leyes difieren significativamente de un país a otro, mientras que la ética es aplicable a través de las fronteras nacionales sobre todo tomando en consideración a los derechos humanos. Además, la ética prescribe a menudo estándares más altos de comportamiento de lo que lo hace la ley y, en ocasiones, la ética permite que los médicos desobedezcan las leyes que exigen un comportamiento poco ético; debido a esto el Consejo de la Asociación Médica Mundial tomó una resolución en mayo de 2003, la cual deja en claro que

1. Valores éticos y principios jurídicos suelen estar estrechamente relacionados, pero las obligaciones éticas suelen superar los deberes legales. En algunos casos, la ley exige una conducta no ética. El hecho de que un médico ha cumplido con la ley no significa necesariamente que el médico actuó éticamente.
2. Cuando la ley está en conflicto con la ética médica, los médicos deben trabajar para cambiar la ley. En circunstancias de ese conflicto, las responsabilidades éticas sustituyen a las obligaciones legales.

Las directrices éticas de las asociaciones médicas son de carácter general; por lo tanto, no pueden hacer frente a todas las situaciones que los médicos podrían enfrentar en su práctica médica. En la mayoría de las situaciones, los médicos deben decidir por sí mismos cuál es la forma correcta de actuar, pero en la toma de decisiones es útil saber lo que otros médicos harían en casos similares. Los códigos de ética médica y las declaraciones políticas reflejan un consenso general sobre la manera en la que los médicos deben conducirse y deben ser seguidos, a menos que existan buenas razones para proceder de otra manera.

La versión de 2005 de la Declaración de la Asociación Médica Mundial sobre los derechos del paciente comienza con la siguiente declaración:

La relación entre los médicos, sus pacientes y la sociedad ha sufrido importantes cambios en los últimos tiempos. Aunque el médico siempre debe actuar de acuerdo con su conciencia, y siempre en el mejor interés del paciente, el mismo esfuerzo debe hacerse para garantizarle al paciente autonomía y justicia.

Los avances en la ciencia médica y la tecnología plantean nuevas cuestiones éticas que no pueden ser respondidas por la ética médica tradicional, por ejemplo la reproducción asistida, la genética médica, la informática de la salud y de la vida, así como el desarrollo, la innovación y el

mejoramiento de la tecnología, que requieren del entendimiento y de la participación de los médicos, pues, aunque tiene un gran potencial para beneficiar a los pacientes, también existe potencial de daño, dependiendo de cómo se pone en práctica el concepto y si es ético. Por lo mismo, las asociaciones médicas tienen necesidad de utilizar diferentes métodos de análisis y no simplemente confiar en los códigos actuales de ética. Aun así, la siguiente tarea fue la elaboración de directrices éticas para la investigación en seres humanos, lo cual tomó mucho más tiempo que los primeros documentos. No fue sino hasta 1964 que las directrices fueron adoptadas en la Declaración de Helsinki. Este documento también ha sido objeto de revisión periódica; la más reciente data de 2008.

Lo anterior explica por qué fue necesario implementar una transición de la ética médica a la bioética.

LA BIOÉTICA

Surge como una respuesta primordial a los conflictos suscitados por el rápido avance de los conocimientos científicos y técnicos en las diferentes áreas de la medicina y la biología, sumados a la identificación de los efectos nocivos en el medio ambiente como consecuencia de la contaminación indiscriminada del planeta. Hoy en día, esta ciencia interdisciplinaria se centra especialmente en el análisis de desafíos morales que surgen en las investigaciones constantes y en los incesantes progresos en el campo de las ciencias de la salud y de la vida.

La bioética como disciplina constituye un campo anticipatorio, ya que su temática se dirige no sólo a mejorar la calidad de vida de la gente en el presente sino, además, a mejorar las condiciones para las generaciones que aún están por nacer. Una de las características más peculiares de la bioética es que constituye un campo interdisciplinario, ya que no sólo los médicos y los biólogos forman parte de la red de profesionales interesados en la bioética, pues el análisis y las discusiones involucran a abogados, trabajadores sociales, psicólogos, administradores, legisladores, antropólogos y, en general, a todos los profesionales que participan en el estudio de alguna disciplina que tenga relación directa con la vida del hombre. Por lo tanto, la bioética permite abarcar temas que van más allá de los aspectos meramente médicos para ocuparse de conflictos éticos muy amplios, ya que las discusiones bioéticas se renuevan con constancia.

El término bioética fue creado por Fritz Jahr, un pastor protestante, teólogo, filósofo y educador alemán, quien presentó el término *Bio-Ethik* en 1927 en el artículo "Bioética: una panorámica sobre la relación ética

del hombre con los animales y las plantas” (“Bio-Ethik. Eine Umschau über die ethischen Beziehungen des Menschen zu Tier und Pflanze”), aunque se atribuye a Van Rensselaer Potter la acuñación del vocablo en 1970, aplicado en el contexto de la biología humana. El concepto sugerido por Jahr presenta una acepción más amplia de relación moral entre el ser humano y el resto de los seres vivos. Propone como “imperativo bioético” una ética sobre los animales de experimentación con una deliberación necesaria en cuanto a las intenciones de la investigación científica y diversos aspectos sobre la difusión de la ciencia entre la población general, para hacerla partícipe. Si bien no tuvo repercusión en las circunstancias políticas y morales de su tiempo, los argumentos de Jahr de que una nueva ciencia y tecnología requieren nuevas reflexiones éticas y filosóficas que pueden contribuir a la aclaración de la terminología y a proporcionar una visión práctica de la bioética en su conjunto, lo erigen “pionero”. Posteriormente, el término bioética fue utilizado por Van Rensselaer Potter hace poco más de treinta años. Con este término señala los problemas que el desarrollo de la tecnología plantea a un mundo en busca de nuevos valores. Propone superar la ruptura que existía entre la ciencia y la tecnología por una parte y las humanidades por otra.

La bioética surge, por lo tanto, como un intento de establecer un puente entre ciencia y humanidades. De ella se espera una formulación de principios generales que permitan afrontar con responsabilidad los retos que presenta el avance de la tecnología biomédica. Alrededor de 1971 se funda en la Universidad de Georgetown, en Washington, el Joseph and Rose Kennedy Institute for the Study of Human Reproduction and Bioethics, que luego se transformaría en el Kennedy Institute of Ethics. La bioética, como campo de estudio del comportamiento humano en el ámbito de la atención para la salud entre otros, no intenta desplazar a la ética médica, disciplina que históricamente ha venido guiando al personal de la salud con base en pautas y normas de conducta; por el contrario, la ética médica deberá permanecer como eje fundamental para el establecimiento de códigos deontológicos y, a la vez, es parte principal de la bioética en el espacio de la relación médico-paciente.

Por lo tanto, la definición de bioética según la *Encyclopedia of Bioethics* es: “El estudio sistemático de la conducta humana en el ámbito de las ciencias de la vida y de la salud, analizada a la luz de los valores y principios morales”. La ética médica no es sólo una parte de la bioética sino que goza, además, de relevancia en el conjunto de esta nueva disciplina por la riqueza de su tradición científica y humana, ya que posee un valor

histórico especial que no puede ser ignorado. Por el contrario, la bioética y la ética médica, esta última como parte fundamental de aquélla, enfrentan hoy nuevos dilemas, pero cuentan con los mismos medios de siempre para resolverlos: el uso juicioso de la razón para analizar, dialogar y lograr consensos a la luz de principios universales. Los cuatro principios fundamentales de la bioética enunciados por Tom L. Beauchamp y James F. Childress a través de su obra *Principles of Biomedical Ethics*, publicada en 1979, son autonomía, no maleficencia, beneficencia y justicia.

Autonomía

Según este principio se admite la libertad que tienen las personas para tomar decisiones que afectan a su cuerpo. Una persona actúa con autonomía cuando tiene independencia de controles externos y capacidad para obrar de acuerdo con su propia elección. Normalmente lo que se juzga al considerar la autonomía es el grado de intencionalidad de los actos, la comprensión que de ellos tiene la gente y la ausencia de coerciones o limitaciones. No es correcto confundir la autonomía con el individualismo. Beauchamp y Childress formulan el principio en forma negativa: “las acciones autónomas no deben estar sometidas a limitaciones controladas por otros”. En un primer momento, definieron que estos principios son *prima facie*, esto es, que vinculan siempre que no colisionen entre ellos, en cuyo caso habrá que dar prioridad a uno u otro, dependiendo del caso. Sin embargo, en 2003, Beauchamp considera que los principios deben ser especificados para aplicarlos a los análisis de los casos concretos, o sea, deben ser discutidos y determinados por el caso concreto a nivel casuístico.

Todas las teorías sobre autonomía están de acuerdo con que deben existir dos condiciones esenciales para que ésta se presente: en primer lugar, libertad e independencia de influencias controladoras y, en segundo, capacidad para llevar a cabo una acción intencionada. Así, la persona autónoma es capaz de autogobernarse con base en las siguientes habilidades: entendimiento, razonamiento, capacidad de libre acción y de elegir de manera independiente. Sin embargo, existe la “decisión autónoma”, enunciado sumamente importante para la bioética, ya que muchas veces individuos autónomos capaces de autogobernarse, cuando están en situaciones particulares como enfermedad, depresión, falta de información, coerción, presión de género, mala situación socioeconómica, etc., pierden la capacidad de tomar decisiones por sí mismos, por lo que se debe considerar su situación de vulnerabilidad. Es por esto que todos los pacientes tienen más o menos dependencia

del médico, desconocen muchos aspectos científicos y técnicos de su enfermedad y posibles tratamientos, además de que cuando participan en una investigación clínica, el investigador tiene poder que le permite manipular o presionar a sus pacientes. Muchos estudiosos de la bioética sostienen que la autonomía es el concepto ético central para justificar decisiones médicas. Según este principio se debe respetar la privacidad, aportar información fidedigna cuando se solicita y pedir permiso para intervenir sobre el cuerpo de las personas. Todo esto da lugar al llamado *derecho al consentimiento informado*.

En el ámbito médico, el consentimiento informado es la máxima expresión de autonomía, constituyendo un derecho del paciente y un deber del médico, pues las preferencias y los valores del enfermo son primordiales desde el punto de vista ético y estiman que el objetivo del médico es respetar esta autonomía porque se trata de la salud del paciente. En casi todas las instituciones de atención médica y de investigación existen reglamentos que establecen que los médicos e investigadores deben obtener el consentimiento informado de sus pacientes antes de practicar cualquier intervención de importancia. Por lo tanto, el consentimiento informado es el proceso por el cual un paciente, comprendiendo lo que significa para él someterse a un procedimiento, ya sea diagnóstico o terapéutico, y de forma libre, lo acepta. Se debe obtener este consentimiento en forma expresa, ya que atañe al paradigma básico en la atención médica y en la investigación. Los elementos del consentimiento informado se han tratado de definir durante mucho tiempo y se llegó a establecer sus tres componentes: la información, la comprensión y el consentimiento.

La información

Se refiere a los datos que son dados por el médico acerca de la enfermedad, el diagnóstico, las posibilidades terapéuticas, los procedimientos, los posibles riesgos y los posibles beneficios. Es responsabilidad del médico proporcionar toda la información pertinente para que el paciente cuente con los elementos que le permitan tomar una decisión autónoma. Un punto muy importante es que la información que se presenta debe incluir recomendaciones, alternativas y diferentes planes para que el sujeto pueda elegir el que más le convenga. Dado que la decisión autónoma se basa en la elección de un plan de acuerdo con las características particulares de la persona, si no hay alternativas ni planes, no hay decisión autónoma, más bien se está consintiendo una única opción.

La comprensión

Implica que el médico debe verificar que la información otorgada haya sido entendida, que todas las dudas hayan sido atendidas y que el paciente ha discernido lo que significa el acceder o no a un procedimiento. La comprensión es responsabilidad del médico, pues la experiencia clínica y los datos empíricos indican que los pacientes presentan una gran diversidad en cuanto a su capacidad para entender información referente a diagnósticos, procedimientos, riesgos, pronósticos, etc. Algunos pacientes son reflexivos, atentos y están abiertos al diálogo, mientras que otros son más nerviosos, distraídos y no quieren mantener una conversación con el médico. Además, existen muchos otros factores que limitan el entendimiento, incluyendo enfermedad, inmadurez, escolaridad, entre otros. Es responsabilidad del médico identificar los aspectos que pudieran estar interfiriendo con este proceso de entendimiento y modificar, si es necesario, el lenguaje y la forma en la cual se proporciona la información para asegurar que ésta haya sido comprendida.

El consentimiento

Se refiere a una decisión voluntaria y a la autorización para llevar a cabo la intervención. El concepto de consentimiento se encuentra asociado a la decisión basada en alguno de los planes de acción recomendados, después de que el médico otorgara la información pertinente y el paciente diera autorización para proceder con el plan seleccionado. En cuanto a la forma en que se debe obtener el consentimiento informado, es conveniente que el médico se tome el tiempo necesario para explicar de manera adecuada la información pertinente, utilizando un lenguaje comprensible, con una actitud que no signifique alguna forma de presión. Se debe garantizar que el paciente cuente con todo el tiempo necesario para que se le explique y pueda leer y analizar el documento, y que se resuelvan todas sus dudas. En caso de menores de edad o de individuos incompetentes, el consentimiento informado se deberá solicitar a los tutores o a los representantes legales.

No maleficencia

Este principio impone al médico la obligación primaria y prioritaria de no perjudicar al enfermo ni dañarlo intencionalmente. Es el principio básico y fundamental de la ética médica. El concepto de daño o mal cubre muchas esferas de la vida y alude a diversos cuerpos de creencia

y doctrina. Para la medicina griega era malo todo lo que fuera contra el orden de la naturaleza; para los romanos, poseedores de tradiciones impregnadas de juridicidad, era malo lo que contradecía la ley, mientras que en el contexto religioso medieval, malo era lo que contravenía el orden divino. Una de las versiones más antiguas se encuentra en el precepto hipocrático "*Primum non nocere*", "Lo primero es no hacer daño" y otros preceptos que tienen siempre vigencia como: "no mataras", "no causar sufrimientos a otros", "no ofender". Estos son preceptos absolutos que se pueden especificar de acuerdo con el contexto.

Beneficencia

Establece la obligación del médico de procurar el máximo beneficio al enfermo, ya que el principio de beneficencia impone la obligación moral de actuar en beneficio de otros. Además, es necesario tener en cuenta que el enfermo puede valorar su propio beneficio. Este principio considera la utilidad de hacer un balance óptimo entre lo negativo y lo positivo, tomados en conjunto; por ejemplo, una persona se beneficia si al recibir algo da algo en retribución. La utilidad es la diferencia a favor del que recibe. Este concepto alude a actos mas no a actitudes. Cuando una actitud es positiva se le da el término de benevolencia. Entre las reglas de conducta derivadas de un principio de beneficencia general están: "proteger y defender los derechos de otros", "ayudar a quienes están discapacitados" y "colaborar para alejar peligros que amenazan a otros". La medicina busca el bien del que sufre, sea quien fuere y en cualquier circunstancia.

Justicia

La justicia obliga a distribuir los recursos sanitarios, los beneficios y las cargas en forma equitativa entre todos los miembros de la sociedad. Este principio obliga a los administradores y a los responsables de las decisiones macroeconómicas, pero también obliga, en alguna medida, a los médicos clínicos. Uno de los factores que son materia de preocupación en la actualidad y que interfieren de modo directo con este principio son los costos sanitarios constantemente crecientes. Se dice que un trato es justo cuando es equitativo y merecido. Si esta reflexión la ampliamos a toda la sociedad, se refiere al concepto de justicia distributiva que es la distribución ponderada, equilibrada y apropiada de los bienes y las cargas sociales, basada en normas que detallan el sentido y el fin de la

cooperación social. Como señala Peter Singer: la única igualdad posible debe proceder del respeto a los intereses de cada uno más que de una compensación arbitraria de las diferencias iniciales. Los seres humanos si bien no somos iguales, poseemos igual valor.

Estos principios fundamentales de la bioética presentan ciertas dificultades cuando son aplicados a los casos concretos, debido a que no pueden considerarse absolutos y siempre pueden encontrarse excepciones; son orientativos, a veces resultan insuficientes para tomar decisiones en los casos más difíciles y pueden suscitar problemas de interpretación; en ocasiones entran en conflicto entre ellos. Para resolver este problema, Diego Gracia ha jerarquizado los principios en dos niveles: en el primero, de carácter más absoluto, se hallan los principios de no maleficencia y de justicia, y en el segundo se encuentran los principios de beneficencia y autonomía. Esta segunda categoría indica las obligaciones que deben respetarse después de haber atendido a los principios anteriores.

La bioética puede aportar métodos de análisis y procedimientos de toma de decisiones frente a conflictos mediante instrumentos como protocolos, directrices éticas, directivas anticipadas confeccionadas por el paciente y comités de ética. Además, la bioética como disciplina debe ayudar a los profesionales de la salud a identificar y a responder a los dilemas morales en su trabajo cotidiano, pero también juega un papel preponderante en el análisis y en el establecimiento de políticas públicas, las cuales se deben instaurar teniendo en cuenta los principios fundamentales de la bioética, reconociendo y respetando la autonomía de los ciudadanos, imperando el bien común sobre el individual, evitando causar daño y, sobre todo, aplicando normas justas que promuevan el cierre de las brechas que existen entre los diferentes sectores de la sociedad. En la implantación de políticas públicas es fundamental utilizar un marco de trabajo bioético para generar normas que guíen a los funcionarios públicos y garantizar que se respeten los derechos que la *Constitución* garantiza a todos los ciudadanos.

La metodología usada para el establecimiento de políticas públicas y la revisión de las ya existentes requiere, en primer lugar, definir de manera muy clara cuáles son los objetivos; después, analizar, desde una perspectiva bioética, estos objetivos en función de su interacción con principios bioéticos universales; posteriormente, determinar las acciones a implementar, las que de forma explícita cumplan con los objetivos señalados. Estas acciones deben considerar la distribución adecuada de los beneficios y las cargas sociales que conllevan, con

base en el principio de justicia distributiva. Respecto a las cuestiones éticas que surgen en el ámbito de la práctica médica, es necesario definir previamente algunas precisiones en relación con el marco conceptual, que parte de la base de que el respeto a la dignidad de la persona, a los derechos humanos y a las libertades fundamentales constituye el soporte de cualquier planteamiento ético; por lo tanto, en los dilemas que derivan en la práctica médica, nunca debe perderse de vista la dignidad humana.

Los dilemas éticos que se presentan en el campo de la atención médica son complejos porque dependen de las relaciones entre las personas y de la aplicación de la tecnología. Un dilema ético no es otra cosa que el planteamiento de una situación posible en el ámbito de la realidad, pero conflictivo en el orden moral y en las decisiones razonadas que deben tomarse en un determinado momento. Lo anterior implica que las interrogantes que plantean los dilemas éticos y bioéticos tienen relación no sólo con la libertad de la ciencia sino, sobre todo, con un problema de conciencia. La bioética, como disciplina surgida de la ética, exige nuestra reflexión permanente sobre los problemas morales derivados de las prácticas biomédicas y de las innovaciones en las ciencias de la salud.

Este campo interdisciplinario es una reflexión crítica sobre dilemas que se presentan bajo la forma de casos. Con la discusión de casos se desarrolla la capacidad para el pensamiento crítico, liberado de prejuicios y supersticiones. Discutir sobre temas de bioética constituye, fundamentalmente, un ejercicio de tolerancia: a medida que se aprenden estrategias para identificar y analizar dilemas éticos, se gana en la experiencia de defender las propias razones y escuchar ajenas, aun cuando las otras expresen puntos en desacuerdo con los propios. Es en este sentido que la bioética nos obliga a reflexionar en la necesidad primordial de rescatar los aspectos inherentes a la relación médico-paciente.

Para que el médico pueda aplicar sus conocimientos teóricos y técnicos al diagnóstico y al tratamiento, necesita establecer un diálogo con el paciente, del que depende en gran parte el éxito de los procedimientos clínicos. Por "relación médico-paciente" se entiende como la interacción que se da del médico al paciente con el fin de devolverle a éste la salud, aliviar su padecimiento y prevenir la enfermedad. La relación médico-paciente sigue siendo, por encima de los avances tecnológicos, extremadamente importante para la práctica médica e imprescindible en la formación integral del médico. Algunos de los

aspectos éticos centrales de la relación médico-paciente pueden ser analizados en función de los principios bioéticos antes mencionados (autonomía, no maleficencia, beneficencia y justicia) y los principios básicos en la práctica médica, como el respeto a las personas, el consentimiento informado, la confidencialidad y la veracidad en la relación médico-paciente.

El principio del paternalismo

Es la limitación intencionada de la autonomía de una persona por parte de otra cuando la persona que limita la autonomía apela exclusivamente a motivos de beneficencia hacia el individuo cuya autonomía está restringida; así, el paternalismo médico supone que el galeno posee formación y conocimientos de los que el paciente carece, por lo que aquél sabe (y por tanto, decide) lo más conveniente para éste, es decir, “todo para el paciente pero sin contar con él”. *Esto debe evitarse, ya que atenta contra la autonomía del paciente.*

El principio de veracidad

Establece el derecho del paciente a conocer la verdad, por lo cual tiene el derecho de obtener de su médico la información actualizada completa sobre su diagnóstico, tratamiento y pronóstico, en términos razonables para que el paciente comprenda. Este principio de veracidad está muy relacionado con el de autonomía, pues para que el paciente pueda tomar una decisión válida es necesario que el médico le proporcione toda la información pertinente.

El principio de la confidencialidad

Se refiere a una norma moral que se debe cumplir pues, al hacerlo, se respeta un principio moral jerárquicamente superior, que es el de autonomía. La confidencialidad es parte integral de la buena conducta moral de la especie humana y de su comportamiento ético positivo como persona. El médico que viola el secreto profesional no lo quebranta por ser mal médico sino porque es indiscreto e irresponsable; su conducta es inmoral al margen de la medicina. Sin embargo, debemos reconocer que la confianza es un elemento fundamental de la relación médico-paciente y aquel médico que transgrede el secreto profesional rompe el vínculo de confianza con su paciente.

CONCLUSIONES

Las principales son:

1. Todo el personal de salud debe estar actualizado, tanto en los conocimientos teóricos como en el desarrollo de sus habilidades técnicas, con el propósito de mantener una competencia clínica adecuada.
2. El respeto a las decisiones de los pacientes en cuanto al cuidado de su salud es hoy en día uno de los pilares fundamentales de la ética médica, al igual que la salvaguarda de las distintas necesidades de los pacientes, no solamente las biológicas sino también las sociales, económicas, etcétera.
3. El médico debe conocer en forma integral a su paciente, esforzándose por sentir empatía con él, sin importar qué tan difícil sea su personalidad ni qué tan impactante sea su enfermedad; debe ser un maestro del enfermo, orientándolo y ayudándole a tomar las decisiones por sí mismo, pero, por sobre todo, deberá sentir una profunda compasión por el ser que sufre, agobiado por una enfermedad a veces sin remedio y ante la cual el médico siempre deberá ofrecer algún tipo de apoyo, especialmente cuando no existe esperanza.

BIBLIOGRAFÍA

- BEAUCHAMP, T. L. y J. F. Childress. 2001. *Principles of Biomedical Ethics*. Oxford University Press, Nueva York.
- BEAUCHAMP, T. L. 2003. "Methods and Principles in Biomedical Ethics", *J. Med. Ethics*. 29: 269-274.
- GRACIA, D. 2001. "Trasplante de órganos: medio siglo de reflexión ética", *Nefrología*. XXI, Suplemento 4.
- HASTINGS CENTER. 2004. "Los fines de la medicina. El establecimiento de unas prioridades nuevas", *Cuadernos de la Fundación Víctor Grífols i Lucas*. 11. <http://www.thehastingscenter.org>.
- KOTTOW, M. 1995. *Introducción a la bioética*. Sudamericana, Santiago de Chile.
- LOLAS, F. 1998. *Bioética: el diálogo moral en las ciencias de la vida*. Editorial Universitaria, Santiago de Chile.
- _____. 2002. *Bioética y medicina. Aspectos de una relación*. Biblioteca Americana, Santiago de Chile.

- PATRÃO, N. y M. do Céu. 1992. "Fundamentación antropológica de la bioética: expresión de un nuevo humanismo contemporáneo", *Bioética*. Universidad Dos Asores, Departamento de Filosofía, Asores, Portugal.
- POTTER, V. R. 1970. "Bioethics: The Science of Survival", V. R. Potter, *Perspectives in Biology and Medicine*. 14 (1), Zygon, Nueva York.
- _____. 1971. *Bioethics. Bridge to the Future*. Prentice-Hall Pub., Englewood Cliffs, NJ.
- REICH, W. T. 1995. *Encyclopedia of Bioethic*. 2a. ed., Macmillan, Nueva York.
- ROYES, A. 2003. "Comentarios al libro *Los Fundamentos de la Bioética de Hugo Tristán Engelhardt*", *Revista de Calidad Asistencial*. 18(7).
- SÁNCHEZ-GONZÁLEZ, M. A. 1998. *Historia, teoría y método de la medicina: introducción al pensamiento médico*. Masson, Barcelona.
- SASS, H. M. 2007. "Fritz Jahr's 1927 Concept of Bioethics", *Kennedy Inst. of Ethics J.* 17 (4): 279-295.
- SINGER, P. et al. 1990. "Research in Clinical Ethics", *Journal of Clinical Ethics*. 2: 95-99.
- SINGER, P. 1995. *Ética práctica*. 2a. ed., Cambridge University Press, Cambridge.
- VARGAS-PARADA, L. et al. 2006. "Informed Consent in Clinical Research at a General Hospital in Mexico: Opinions of the Investigators", *Developing World Bioethics*. 6: 41-51.

LA RESPONSABILIDAD SOCIAL Y LA CIENCIA

*Gina Martínez-Flisser**

INTRODUCCIÓN

La ciencia impacta a la sociedad ya que el conocimiento es traducido en avances tecnológicos, médicos, medioambientales, de comunicación, calidad de vida, etc. En las últimas décadas, la aplicación de la ciencia en el quehacer cotidiano ha sido más evidente. Es por esto que un aspecto que ha sido analizado, discutido y criticado por diversas corrientes de la filosofía de la ciencia es la responsabilidad social de los científicos en cuanto a los efectos negativos que puede generar el conocimiento científico en la sociedad. Un ejemplo claro de esto es la utilización del conocimiento científico para la construcción de la bomba atómica y el armamento biológico. Varios académicos han discutido el control que debe existir en la ciencia y el grado de responsabilidad que los científicos deben tener en cuanto a las aplicaciones del conocimiento generado. Una corriente teórica argumenta que el financiamiento para la ciencia proviene principalmente de fondos públicos que existen gracias a las aportaciones que la sociedad proporciona; sin embargo, el beneficio de los descubrimientos no siempre es claro para la población, lo que conlleva a un cuestionamiento profundo sobre las rutas, los fines y las consecuencias del conocimiento científico. Esta corriente asegura que los científicos son mayormente responsables de las aplicaciones del conocimiento y deben ser los líderes en la discusión y en el control de estas aplicaciones. Por otro lado, la perspectiva contraria asegura que existe

* Instituto Nacional de Perinatología, ginamartinezf@gmail.com.

una división sustantiva entre ciencia y tecnología, siendo la segunda la aplicación práctica de la primera y la que debe responsabilizarse de los efectos que el conocimiento genera. Ambas tendencias contienen fragmentos de verdad; lo importante de esta confrontación ideológica es que la sociedad está despertando, en gran parte, debido al acceso a la información científica y a las consecuencias que la ciencia tiene en el quehacer cotidiano del individuo.

La finalidad de este capítulo es ofrecer una visión diferente a la discusión de la responsabilidad social en la ciencia, con base en la perspectiva de la organización, no así del individuo, al presentar la ideología empleada en el sector privado como una herramienta teórica para evaluar los impactos que las instituciones podrían tener y favorecer un marco conceptual para la toma de decisiones y la evaluación de las acciones de individuos y de organizaciones en la sustentabilidad de la ciencia, la que se explica como algo más que solamente el enfoque ambiental. El primer concepto de sustentabilidad se refiere a que la organización debe asegurar las necesidades de los grupos de interés (definidos como todos los grupos o los individuos que tienen una relación con la organización) directos e indirectos sin poner en riesgo los requerimientos de los futuros grupos de interés. Sin embargo, este concepto se ha ampliado al integrar la triple línea base (social, ambiental y económica) al tiempo que se integran los aspectos de corto y mediano alcance.

RESPONSABILIDAD SOCIAL EMPRESARIAL

La historia de la humanidad se ha visto impregnada por confrontaciones cuyo fin es lograr una relación armónica entre empresas, gobierno, academia y sociedad; continuamente se intenta lograr la sustentabilidad, al tiempo que se alivia la pobreza. En este contexto es importante juzgar la capacidad de los gobiernos, las empresas, los académicos y la sociedad civil para llevar a cabo reformas efectivas y divisiones claras de obligaciones para conseguir los objetivos sociales que permitan el bien común y limiten la irresponsabilidad de los diversos actores (Newell, 2008). La sociedad actual es de riesgo, ya que se dedica a discutir, a trabajar y a contrarrestar los peligros creados por las prácticas humanas. Algunos de los nuevos conflictos que enfrentamos se transmiten con rapidez en un mundo que parece ya no tener limitaciones geográficas, las consecuencias son incalculables y no podemos compensar los daños que ocasionan. El efecto de vivir en una sociedad que se percibe de alto riesgo es

la transición de considerar al coetáneo como un sospechoso en lugar de un ser confiable; esto conlleva, a su vez, a una sociedad cada vez más individualista (Beck, 2006). La responsabilidad social empresarial (RSE) es una respuesta a los problemas existentes en la relación entre organizaciones y sociedad como parte de la evolución del contrato social, de los valores y las expectativas de la sociedad. Existen varias definiciones de la RSE. El espectro es tan amplio que incluye la perspectiva en la que se asegura que la única responsabilidad de las empresas es la creación de riqueza, hasta la que incluye la visión de integración de preocupaciones ambientales y sociales en la operación de la organización, así como en la interacción con los grupos de interés; esta última es la que más comúnmente se cita en la literatura científica y fue generada por la Comisión de Comunidades Europeas (2001). Para la aplicación de la RSE en el proceso científico es importante identificar los alcances de las dimensiones que la integran y que en general se determinan como ambiental, social, económica, ética y grupos de interés.

Dimensión ambiental

Una herramienta que ha probado su utilidad en el sector privado es la administración verde, vinculada al desarrollo sustentable, que se entiende como el cumplimiento de las necesidades actuales de la sociedad sin poner en riesgo la obtención de satisfactores en generaciones futuras. La gestión verde es una herramienta muy útil para la administración ética de los recursos que se utilizan en ciencia, ya que replantea la manera en que se operan en relación con el medio ambiente y consiste en la gestión de tres componentes:

1. Construcción verde se refiere a la mejora de la eficiencia en el uso de recursos y en los edificios, al tiempo que se limitan el impacto de externalidades negativas en la salud y el medio ambiente. Las ventajas de este tipo de administración son: *a)* la disminución de costos al aumentar la productividad y reducir el uso de recursos, *b)* la mejora de la salud de los ocupantes de las instalaciones y *c)* el control de impactos ambientales.
2. Energía verde se relaciona con el uso eficiente de energía y de fuentes de energía alternativas.
3. Desperdicio verde se refiere al ciclo de vida de los productos que se producen y utilizan en la organización, así como los desechos que en el proceso se generan.

La administración verde puede ser una nueva revolución en la manera en que se manejan los recursos en ciencia; sin embargo, se requieren seis factores para llevarla a cabo de manera exitosa: *a)* liderazgo y compromiso de los tomadores de decisión, *b)* definición de estrategias ambientales, *c)* delimitación de metas ambientales, *e)* participación activa de los grupos de interés, *f)* auditorías ambientales y *g)* comunicación y evaluación.

Los líderes de grupo deben considerar en su protocolo de investigación los siguientes puntos:

1. La utilización racional de recursos.
2. La protección y el impacto de las actividades en el ambiente.
3. La disminución de la cantidad de materiales y de recursos que se utilizan.
4. El reciclaje y la reutilización de recursos.
5. El respeto a la naturaleza.
6. La eliminación de toxinas, desechos orgánicos, radioactivo, material infeccioso, contaminante, etcétera.
7. La reducción de emisiones de gases como el CO₂.

Las organizaciones, incluyendo al sector académico, están siendo presionadas por grupos interesados en cambiar la manera en que se administran sus recursos; las fuerzas que impulsan a organizaciones para operar con una administración verde son:

1. Demandas regulatorias tomando en consideración el incremento de legislación, la fuerza con que los gobiernos aplican controles y mecanismos de regulación y responsabilidades legales o administrativas.
2. Factores relacionados con los costos teniendo en cuenta la contaminación generada, nuevas tecnologías y ahorros en la disminución de desperdicio.
3. Presiones de grupos de interés que van desde las demandas ambientales hasta el rechazo social, debido a los riesgos ambientales que genera la empresa.
4. Requisitos de competitividad en los que se puede incluir nuevas oportunidades de negocio, acuerdos con sectores comerciales y prácticas de calidad.

Existe un imperativo moral para implementar prácticas verdes, ya sea que generen o no un incremento en utilidades, pues es simplemente

una cuestión de crear las competencias dentro de la organización para asegurar un resultado de ganar-ganar para la sociedad y para el conocimiento científico. La eficiencia de las organizaciones científicas y su rentabilidad deben incluirse en la toma de decisiones para asegurar su sustentabilidad y eficiencia operativa. Aunado a esto, los beneficios generados por la administración verde son:

1. Al operar en un modelo ecocéntrico, las instituciones aumentan la armonía entre lo social y lo ambiental.
2. La pertenencia y la lealtad de los grupos de interés aumentan en organizaciones que aplican sistemas de administración verde.
3. Existe un vínculo positivo entre la rentabilidad financiera y los resultados ambientales.

Existen barreras importantes para la aplicación de la administración, entre las más esenciales se encuentran:

1. Pensamiento estático de los tomadores de decisiones que lleva al incremento de regulación y eleva los costos estimados de aplicación de políticas verdes.
2. La regulación existente limita las posibilidades de innovación en materia ambiental y la manera en que esta regulación se administra (Tran, 2010).

Dimensión social

Uno de los aspectos a analizar es el rol del poder en la relación entre el científico y la sociedad, así como la manera en que el impacto de este poder se ha modificado sustantivamente en las últimas décadas; los científicos cada día tienen una mayor influencia en el desarrollo de políticas públicas y de acuerdos internacionales. Este poder conlleva a un incremento en la responsabilidad, ya que la responsabilidad social del científico está directamente relacionada con el poder social que éste ostente y el científico que no utilice su poder social de manera responsable lo perderá en el mediano plazo, pues los grupos no confiarán en el líder y sus teorías carecerán de legitimidad.

Es en el aspecto social donde se deben analizar los impactos sociales generados por la aplicación tecnológica de los descubrimientos científicos y el rol social que debe jugar la ciencia en la creación de política pública de modo imparcial. Es primordial incluir en el protocolo de

investigación los problemas sociales que puede generar el mal manejo de información y asegurar la participación de organizaciones de la sociedad civil cuando se requiera una visión alterna de los problemas sociales con los que se trata. Los científicos deben ser conscientes de las causas sociales que el conocimiento genera y estar dispuestos a entrar en una discusión abierta sobre éstos. Es fundamental que hoy en día el científico se involucre en la esfera pública y promueva un diálogo que lleve a la aplicación ética de los conocimientos y a la distribución justificada de recursos.

La formación de jóvenes científicos es una pieza clave para el desarrollo de conocimiento ético y responsable; por ello, se deben incluir ejemplos históricos de las consecuencias del manejo carente de ética del conocimiento científico y la discusión abierta de estos casos. Más aún, la inclusión de jóvenes científicos en actividades sociales, tales como el trabajo en comunidades o con grupos vulnerables, debe ser, en su formación, un requerimiento para la obtención del grado. Prepararlos para observar de manera crítica las implicaciones sociales de sus descubrimientos debe ser un requisito para la formación de una nueva generación de científicos con un mayor poder e impacto social (Beckwith y Huang, 2005).

En el protocolo de investigación se deben tener en cuenta los resultados sociales inesperados a los que pueden conllevar las intervenciones de campo; es importante establecer mecanismos que den respuesta a necesidades sociales que no estaban previstas como parte de la investigación inicial y establecer de antemano los lineamientos para determinar a cuáles se va a dar atención directa y cuáles deberán ser canalizadas a otras instancias. El consentimiento informado y la declaración de derechos humanos son documentos indispensables de revisar en cuanto a la inclusión de sujetos humanos, así mismo las leyes relacionadas con el manejo humanitario de seres vivos y la evaluación de la pertinencia de inclusión de este tipo de sujetos en el diseño experimental; estas son discusiones que se deben efectuar previamente al sometimiento del protocolo a un proceso de evaluación.

Dimensión económica

Los recursos económicos derivados a la ciencia generalmente provienen del erario público, lo cual implica que los científicos tienen la obligación de generar conocimiento relevante y utilizar los recursos de manera efectiva. La RSE asegura que uno de los pilares de las organizaciones es

certificar la sostenibilidad y la rentabilidad económica a largo plazo; en el ámbito científico este es un tema de alta relevancia, ya que generalmente la investigación depende de financiamientos externos que cada día requieren más del cumplimiento de lineamientos estrictos para la asignación de recursos que aseguren la rentabilidad del conocimiento y la pertinencia de la investigación. Estos lineamientos se pueden resumir en los siguientes incisos:

1. La originalidad y la relevancia del protocolo para la solución de problemas sociales, ambientales y económicos que se enfrentan en la actualidad.
2. La presentación de una hipótesis interesante que tenga objetivos válidos (lógicos, racionales, viables) que se expresen con claridad.
3. Una metodología bien escrita que contenga una justificación en la cual se precise por qué es importante invertir en la generación de este tipo de conocimiento con una visión a corto, mediano y largo plazo.
4. Una descripción clara de la infraestructura existente, el presupuesto solicitado y las colaboraciones establecidas para evaluar el costo/beneficio de la investigación realizada.

Dimensión ética

La integración de factores éticos y legales que permitan evaluar el deber ser social desde una perspectiva pragmática permitirán diseñar esquemas de control, evaluación y mejora que faciliten la introducción de nuevas prácticas al sector académico e incentiven liderazgos responsables y éticos. Se han observado fallas graves en los liderazgos empresariales, sociales, académicos y público; la transparencia, en un esquema de responsabilidad social, puede impulsar liderazgos más éticos y sostenibles que aseguren el futuro del planeta, transformando las organizaciones de impacto global y local en promotoras de una cultura colaborativa que asegure la viabilidad de generaciones futuras.

El liderazgo que considere la inclusión de la ciudadanía y de las organizaciones de la sociedad civil en la toma de decisiones dentro de un marco ético, vislumbrando la sostenibilidad ambiental, económica y social del contexto en el que se mueve el cometido político, permitirá asegurar un futuro pleno para las generaciones venideras. La carencia de un modelo ético para enmarcar las acciones de los tomadores de decisiones del país conlleva al crecimiento caótico, al desarrollo desen-

frenado y a la destrucción de las redes que protegen a la sociedad de sí misma. Los científicos son un pilar en la agregación de visiones diversas en la configuración de un modelo ético que permita el crecimiento sostenible de una sociedad productiva.

Es importante que los investigadores funjan como divulgadores éticos del conocimiento y como líderes sociales que promuevan el cuestionamiento y el conocimiento a través del método científico. Los códigos de ética son una de las herramientas utilizadas para limitar y guiar a los líderes en la toma de decisiones, así como en la implementación de políticas de responsabilidad social. Los códigos son esenciales para establecer parámetros para el comportamiento y el manejo adecuado de la responsabilidad social, ya que presentan una oportunidad para contextualizar la ética en la red social en la que nos movemos y pueden funcionar como parámetros para la acción regulada por los integrantes que la componen, asegurando así el bienestar social y el desarrollo equitativo. La promoción de organizaciones éticas a través de un modelo socialmente responsable para el sector académico, cimentadas en herramientas como los códigos de ética que enmarcan la conducta de los científicos, puede ser el impulsor que se requiere para asegurar el bien común.

La ética tiene que ver con el comportamiento. La persona que cumple con los estándares éticos establecidos en los códigos, en las leyes, en las normas y en la cultura es considerada como un miembro ético de la organización. La pregunta obligada es si los líderes científicos deben asumir una responsabilidad ética como agentes del beneficio global con el fin de generar cambios positivos en la sociedad al potencializar su liderazgo. Los líderes responsables deben trabajar para generar bien social (*doing good*) al tiempo que incrementan la rentabilidad de las organizaciones (*doing well*). Sin embargo, en las situaciones donde la organización daña a la sociedad siempre hay que poner a la sociedad por encima de la rentabilidad. Los líderes académicos tienen mucho que aprender en el campo de la injerencia en el bien social. Las lecciones principales son:

1. No todas las comunidades aprecian la intromisión de agentes externos para el desarrollo local.
2. Las soluciones útiles en países desarrollados no necesariamente lo son en las comunidades en las que se quiere intervenir.
3. Hay que trabajar con tolerancia a la ideología local para que a través de la negociación se puedan poner en práctica soluciones reales (Pless y Maak, 2008).

El mito de Sísifo (Albert Camus) nos habla del absurdo de la vida humana y de cómo hay que aceptar una vida sin sentido para poder así construir un sentido personal a la vida; la creatividad humana nos da la pauta para construir un sentido ético, subsidiario y de prevención del daño, en el que las libertades nos permitan edificar un sistema social que no limite, sino que promueva y sea sostenible, en el que el bienestar del planeta y todos sus integrantes (incluyendo los futuros) estén asegurados. La ética no es una discusión de grupos de teóricos, es un modo de vida social que asegura el futuro.

Vale la pena señalar que la importancia de la toma de decisiones cotidianas por personas con una carga de valores e ideales específica afecta la formulación y la implementación de políticas en la administración de entidades académicas, públicas y privadas. La cultura de responsabilidad social que se establezca en una organización va a estar determinada en gran manera por las posturas éticas de sus líderes (Duarte, 2010).

Las organizaciones que dependen del financiamiento social deben establecer estrategias socialmente responsables por una obligación ética frente a la sociedad. Entre las líneas de pensamiento más determinantes en esta categoría se encuentra:

1. Las teorías de la normatividad relacionadas con los grupos de interés, ya que al establecer una relación basada en la confianza se forja un vínculo ético que debe ser resguardado.
2. Los derechos universales son una de las bases de la RSE y deben ser incorporados al quehacer de la organización por razones éticas.
3. El desarrollo sostenible es una responsabilidad ética ante las generaciones futuras y ante el planeta.
4. El bien común es un principio ético que deben sostener los líderes a los que la sociedad ha dado el poder.

Grupos de interés

Uno de los antecedentes importantes de la responsabilidad social es la teoría de grupos de interés (*stakeholder model*) propuesta por Fassin y Freeman, quienes analizan la relación de las empresas con sus grupos de interés y el porqué deben atender las necesidades de todos los grupos que se relacionan con su negocio y no sólo los intereses de los accionistas. Freeman (2010) examinó cómo las presiones del mercado han puesto a los tomadores de decisiones en una situación crítica; durante muchos años no se consideraron a los grupos que afectan la operación,

pero no son accionistas. Freeman argumenta que estos grupos son indispensables para la sostenibilidad de las organizaciones. Pensar en todos los grupos de interés promueve que los administradores piensen en el futuro y no sólo en el presente, así mismo los obliga a considerar una serie nueva de factores que influyen en la rentabilidad social, ambiental y económica de la organización.

Fassin (2008) describió por medio de un modelo gráfico esta idea y permite expresar las mejores prácticas e interacciones entre los grupos. El autor menciona que las fallas del análisis de este modelo son, en parte, debidas a que se basa puramente en la discusión filosófica y teórica. Una manera para resarcir esta problemática es analizar el modelo desde la perspectiva gráfica. Entre las variables que se pueden analizar con mayor facilidad desde esta perspectiva es la intensidad de las relaciones de los grupos de interés y el impacto que éstos tienen. El autor propone un sistema integrado del modelo de grupos de interés que permite analizar las relaciones y limitar los problemas que se han tenido en su aplicación. En el ámbito científico es prioritario establecer un sistema que deje evaluar el impacto de la experimentación en los grupos de interés que afecta, incluyendo proveedores, técnicos, sujetos y población en general así como la participación de cada uno de estos grupos en el establecimiento de estándares, lineamientos, normas y limitantes.

La transparencia organizacional es clave para la integración de grupos de interés de manera democrática y responsable en el proceso científico por el que se ven afectados de manera directa o indirecta sus intereses. El riesgo de la transparencia es que grupos con una agenda politizada utilicen negativamente la información que revelan las organizaciones; esto ha llevado a las empresas a generar y a difundir sólo cierto tipo de datos que benefician la imagen y no pongan en riesgo la credibilidad de la misma. La efectividad de las auditorías sociales se ha visto disminuida, ya que su fin debería ser proveer herramientas a los grupos de interés para coadyuvar en la mejora de las organizaciones y la sociedad; sin embargo, la mala utilización que se ha dado a la comunicación ha generado una resistencia por parte de las empresas a rendir cuentas completas (Hess, 2007).

CONCLUSIONES

Es recomendable que el grupo de investigadores realice una junta de evaluación para asegurar que el beneficio de la información obtenida sea mayor a los costos sociales, ambientales y económicos que genera.

Se sugiere que el grupo desarrolle y discuta diversos aspectos de los temas presentados en este ensayo para que las implicaciones de la ciencia coadyuven en la configuración de una sociedad más justa, armónica y responsable.

Las externalidades sociales, ambientales y económicas que las organizaciones generan han creado un riesgo que debe ser enfrentado al forjar la confianza en sus grupos de interés (Lamberti y Lettieri, 2009). Este riesgo se puede controlar a través de una estrategia de RSE, ya que la sociedad percibe a las organizaciones empresariales, gubernamentales y académicas como fuente principal de problemas sociales, económicos y ambientales, lo que representa implicaciones en el desarrollo del bien común. Las implicaciones se agrupan en las siguientes frases: 1) los consumidores buscan tanto o más bienestar del que tienen, 2) las empresas son conceptualizadas como egoístas (malas) ya que no comparten sus utilidades con la comunidad y 3) el gobierno por sí solo no puede crear bienestar. Es por esto que es indispensable cambiar el paradigma de que la sociedad y las organizaciones son incompatibles, hacia un prototipo en que se complementan.

La nueva era de corresponsabilidad exige que el científico integre a sus prácticas no sólo la búsqueda del conocimiento sino la visión de los diversos grupos sociales, las prácticas que limiten el daño (externalidades) que sus acciones generan y el manejo ético de la información que utilizan e innovan. Uno de los mecanismos es la integración del método Midstream Modulation to Enhance Critical Reflection que permite el cuestionamiento del grupo de investigación (Schuurbiens, 2011).

La angustia de ser uno mismo y nada más que uno mismo y caminar inexorablemente hacia el no ser reclama liderazgos con una visión integradora que contengan al individuo para que encuentre el sentido de su transitar por el mundo. Las obligaciones morales son los mecanismos que al ser internalizados nos permiten vivir y convivir en sociedad de manera armónica; estas deben ser retomadas y consideradas por los líderes científicos que dan visión a nuestro contexto social.

BIBLIOGRAFÍA

- BECK, U. 2006. "Living in the World Risk Society", *Economy and Society*. 35: 329-345.
- BECKWITH, J. y F. Huang. 2005. "Should We Make a Fuss? A Case for Social Responsibility in Science", *Nature Biotechnology*. 23: 1479-1480.

- BRIDGMAN, P. W. 1948. "Scientists and Social Responsibility", *Bulletin of the Atomic Scientists*. 3-4: 69-75.
- BRUNNER, R. D. y W. Ascher. 1992. "Science and Social Responsibility", *Policy Sciences*. 25: 295-331.
- DUARTE, F. 2010. "Working with Corporate Social Responsibility in Brazilian Companies: The Role of Managers' Values in the Maintenance of CSR Cultures", *Journal of Business Ethics*. 96: 355-368.
- FASSIN, Y. 2008. "Imperfections and Shortcomings of the Stakeholder Model's Graphical Representation", *Journal of Business Ethics*. 80: 879-888.
- FREEMAN, R. E. 2010. *Strategic Management. A Stakeholder Approach*. Cambridge University Press, pp. 52-81.
- HESS, D. 2007. "Social Reporting and New Governance Regulation: The Prospects of Achieving Corporate Accountability through Transparency", *Business Ethics Quarterly*. 17: 453-476.
- LAMBERTI, L. y E. Lettierii. 2009. "CSR Practices and Corporate Strategy: Evidence from a Longitudinal Case Study", *Journal of Business Ethics*. 87: 153-168.
- NEWELL, P. 2008. "CSR and the Limits of Capital", *Development and Change*. 39: 1063-1078.
- PLESS, N. y T. Maak. 2009. "Responsible Leaders as Agents of World Benefit: Learnings from 'Project Ulysses'", *Journal of Business Ethics*. 85: 59-71.
- SCHUURBIERS, D. 2011. "What Happens in the Lab: Applying Midstream Modulation to Enhance Critical Reflection in the Laboratory", *Science and Engineering Ethics*. 17: 769-788.
- TRAN, B. 2010. "Green Management: The Reality of Being Green in the Public Sector", *FMI-IGF J*. 21: 23-26.

Siendo rectora de la Universidad Veracruzana
la doctora Sara Ladrón de Guevara,
TEMAS SELECTOS DE MICROBIOLOGÍA MÉDICA E INFECTOLOGÍA,
de Ana Flisser (coordinadora),
se terminó de imprimir en abril de 2015
en los talleres de Proagraf S.A. de C.V., av. 20 de Noviembre núm. 649,
col. Badillo, CP 91190, Xalapa, Veracruz, tel. 01(228)8906204.
La edición fue impresa en papel bond de 90 g
y los forros en cartulina sulfatada de 14 pts.
En su composición se usaron tipos Palatino.
Cuidado de la edición: Angélica María Guerra Dauzón.
Maquetación: Aída Pozos Villanueva.

▶ La presente obra ofrece los cimientos necesarios para que el lector adquiriera una visión actualizada de biomedicina, microbiología, parasitología, infectología y salud. Los autores, especialistas en las materias, abordan temas de biología y de salud humanas, tales como el origen y la evolución de las especies, con hincapié en las bacterias, que por su diversidad genética, funcional y abundancia han moldeado a la biosfera; así como aspectos modernos de la flora intestinal bacteriana, cuya relación con el hospedero no necesariamente causa enfermedad sino, en muchos casos, beneficio; además, hoy en día se ha visto que los gusanos que parasitan al intestino desvían la respuesta inmune hacia la inmunomodulación, mecanismo que permite controlar a las enfermedades inflamatorias. Los capítulos relacionados con las aplicaciones del conocimiento biomédico en el diagnóstico, en el manejo clínico y en el tratamiento de las enfermedades infecciosas permitirán al lector conocer las técnicas de laboratorio y de imagen para identificar a estos padecimientos, así como entender los síntomas y los signos que generan diversos agentes patógenos que los causan y aprender sobre farmacología terapéutica. También se incluyen temas novedosos del conocimiento biomédico que tienen gran alcance en la actualidad como las enfermedades emergentes, las reemergentes y el bioterrorismo, los cuales provocan gran preocupación en la población general; así como dos temas muy poco tratados pero de gran trascendencia en la vida humana: la ética médica y la responsabilidad social en la investigación científica.

Ana Flisser (México, DF, 1944) es bióloga por la UNAM y doctora en Ciencias por el IPN. Es investigadora en el Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina y docente en la Facultad de Ciencias, ambas de la UNAM. A partir de 2011 es coordinadora del Plan de Estudios Combinados en Medicina (PECEM). Ha publicado 11 libros, 64 capítulos de libros y 215 artículos internacionales y nacionales. Es investigadora del SNI (nivel 3) y pertenece al PRIDE (nivel D). Ha recibido los premios Universidad Nacional en Ciencias Naturales en 2011, Ciudad Capital: Heberto Castillo Martínez en Salud y Medio Ambiente José María Cantú Garza en 2008 y el de Administración otorgado por la Organización Panamericana de la Salud (OPS) en 1999.



Universidad Veracruzana
Dirección Editorial

