

Chlamydia y *Chlamydomydia*

La familia *Chlamydiaceae* comprende especies cuyas características comunes incluyen: 1) son patógenos intracelulares obligados por carecer de citocromos, por ende no pueden sintetizar ATP ni reoxidar el fosfato de nicotinamida-adenina-dinucleótido (NADPH), 2) poseen un ciclo de replicación con dos estadios. En esta familia los géneros *Chlamydia* y *Chlamydomydia* se encuentran especies de importancia clínica tales como *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydomydia pneumoniae* y *Chlamydomydia psittaci*.

1. Características estructurales y genómicas de la familia *Chlamydiaceae*

Para facilitar la descripción en este Capítulo nos referiremos a esta familia como clamidaceas. Los dos estadios presentes en el ciclo de replicación de las clamidaceas son la forma infectante denominada cuerpo elemental (CE) y la forma metabólicamente activa con capacidad de multiplicarse intracelularmente denominada cuerpo reticular (CR). Tanto el CE como el CR poseen una membrana citoplasmática y una membrana externa que contiene lipopolisacáridos (LPS). A pesar de la semejanza de ambas estructuras con las bacterias gram-negativas las especies de la familia carecen de peptidoglicano. Cabe remarcar que la acción de los antimicrobianos β -lactámicos sobre las especies de esta familia induciendo la inhibición de la multiplicación intracelular se debe a la reacción bacteriana frente una situación de estrés disminuyendo la expresión de genes relacionados con diferentes vías metabólicas en forma semejantes a las que describiremos en párrafos siguientes. Estos hechos no sugieren la presencia de peptidoglicano ya que el mecanismo es diferente al que pueden ocasionar tales antimicrobianos induciendo persistencia en otras bacterias, especialmente en cocos gram-positivos, actuando sobre la síntesis de la pared. En la membrana externa encontramos como principal proteína la denominada MOMP (Major Outer Membrane Protein) que al igual que el LPS es antigénica. La proteína MOMP está expuesta en la superficie extendiéndose al espacio periplásmico cumpliendo la función de porina para los ATP, NTPs y nutrientes. En la envoltura existen otras dos proteínas ricas en cisteína. Una de ellas la proteína OmcB forma una monocapa en el periplasma que en cierta forma reemplazaría la ausencia de peptidoglicano (Figura 1). La otra proteína es la OmcA ubicada en la membrana externa. Existe un entrecruzamiento entre MOMP, OmcB y OmcA formando el denominado complejo COMC (Figura 1). Las proteínas Omc son de expresión tardíamente cuando el CR se reorganiza en CE antes de dejar la célula eucariótica. El complejo COMC confiere al CE la rigidez necesaria para su vida extracelular. El alto entrecruzamiento presente en el CE hace que MOMP sea menos funcional, es decir su función de porina es mínima en CE y máxima en CR ya que esta última forma es metabólicamente más activa. La tabla 1 resume las características de CE y CR y la Figura 2 muestra la vida extracelular e intracelular de ellos. El genoma de estas bacterias es aproximadamente de 1042 Kpb representando una cuarta parte del genoma de *Escherichia coli* por lo tanto es uno de los más pequeños entre las células procariotas y apenas mayor que el de los micoplasmas.

1.1 Patogenia

Dependiendo de la especie la infección ocurre en las células epiteliales, endoteliales, del músculo liso y en monocitos o macrófagos. La unión del CE a la célula huésped es principalmente mediada por MOMP u OmcB, entre otras adhesinas y el LPS también puede colaborar. Las clamidaceas expresan una familia de proteínas (Tarp, Translocated Actin-recruiting Phosphoprotein) que inyectan en la célula

del huésped facilitando su endocitosis. Esta familia de proteínas contribuye al tropismo hacia las diferentes células cada especie y/o sus serovariedades. También las diferentes especies y/o serovariedades se diferencian en la portación de genes para la biosíntesis de triptófano. Una vez endocitado el CE se reorganiza a CR dentro de una vacuola de inclusión, derivada de la membrana del huésped. El CR crece y se replica por fisión binaria. A medida que el CR se divide y prolifera, la membrana de la vacuola de inclusión se expande de tal manera que ocupa casi todo el citoplasma de la célula huésped. Después de un período de aumento de la progenie en fase exponencial, el CR comienza a diferenciar a CE con la síntesis de las proteínas tardías incluyendo OmcB y OmcA y el compactamiento del cromosoma a las dimensiones que se encuentra en el CE. Los CE se liberan al exterior de la célula ya sea por extrusión, exocitosis o apoptosis. El ciclo completo se extiende de 48 a 72 hs.

Durante su ciclo en la vacuola de inclusión las clamidaceas anclan proteínas en la membrana de dicha vacuola o las inyectan al citosol mediante un sistema de secreción. Existe una cronología en la expresión bacteriana de estas proteínas. Las proteínas ancladas se denominan Inc. En la etapa temprana del ciclo de vida celular, determinadas Inc alteran la expresión de marcadores de los endosomas tempranos o tardíos de manera de evitar la fusión con los lisosomas (Figura 3). Otras Inc interactúan con proteínas de la célula huésped de manera de evitar la apoptosis temprana que interrumpiría su ciclo replicativo. Mientras tanto las vacuolas de inclusión se expanden por fusión con lípidos conteniendo esfingomielina derivados del aparato de Golgi durante la exocitosis de vesículas. Las proteínas bacterianas inyectadas en el citosol cumplen diferentes funciones, entre ellas la proteólisis de los factores de transcripción relacionados con la expresión de los antígenos de histocompatibilidad de clase I y II de forma de evadir el reconocimiento de las células infectadas por el sistema inmune. En la célula las clamidaceas limitan el reconocimiento de sus PAMP (patrones molecular asociado a patógenos) mediante el reordenamiento de actina en la periferia de la vacuola aumentando la estabilidad de la misma. También inhiben la activación NF- κ B mediante la proteólisis de sus subunidades. La salida de los CE de la célula huésped incluye mecanismos que evitan la necrosis celular para evadir la estimulación del sistema inmune. La exocitosis de los CE sería semejante a la utilizada por la célula eucariótica para liberar moléculas situadas en vesículas. La extrusión comprende la “compresión” de una parte de vacuola de inclusión dentro de un compartimento de la membrana plasmática dejando a la célula del huésped intacta aunque con residuos de inclusión (Figura 3). La célula con los restos de inclusión se reanuda el ciclo y permanecer infectadas al mismo tiempo que en nuevas células comienza la infección (Figura 3). A su vez la endocitosis de las “extrusiones” por los macrófagos facilita la diseminación a otros sitios anatómicos tales como a los ganglios linfáticos en las cepas de *Chlamydia trachomatis* que causan el linfogranuloma venéreo. La salida por apoptosis implica su inducción por proteínas inyectadas al citosol en la fase tardía del ciclo y no está totalmente demostrada.

1.1 Aspectos inmunológicos y Persistencia

Aunque la infección por estos patógenos es silenciosa, en cierta medida las células conteniéndolos se activan secretando citoquinas y quimioquinas que causan la infiltración primaria de las diferentes células inmunes al sitio de la infección. La inducción de INF γ es determinante para resolver la infección y también lo es en la inmunopatogenia de la misma (Figura 4). En las células infectadas la acción del INF γ es mediada por la inducción de laIDO (indolamina 2,3-dioxigenasa), de la oxidonítrico sintetasa (iNOS) y por la regulación decreciente de los receptores de transferrina. LaIDO cumple un papel importante en el desarrollo de infecciones crónicas o persistentes tanto de bacterias, virus, parásitos y

hongos (Figura 5). En el caso de las clamidaceas la depleción de triptófano en la célula del huésped inducida por la IDO produce modificaciones en las vías metabólicas de los CR de manera que se mantienen viables pero no se multiplican, es decir induce su persistencia. La microscopía electrónica (ME) evidencia la presencia de las vacuolas de inclusión con CR con morfología aberrantes en los tejidos infectados. Fisiológicamente la persistencia se define como una asociación a largo plazo entre las clamidaceas y el huésped. Cuando el efecto del $\text{INF}\gamma$ disminuye los CR vuelven a su estado normal se multiplican y el ciclo continúa. El estado de persistencia no induce la apoptosis de la célula, presumiblemente por los factores anti-apoptóticos bacterianos ya mencionados. En el caso de las cepas de *Chlamydia trachomatis* que causan infecciones urogenitales el desarrollo del estado de persistencia depende del sitio que alcance la infección. Estas clamidias poseen genes para la síntesis de su propio triptófano a partir del indol. En sitios donde tales cepas coexisten con bacterias de la flora normal (uretra, cérvix), estas últimas se lo provee y los CR cumplen su ciclo y las clamidias se diseminan a otras células y a otro huésped. En el sitio de infección puede haber inflamación, pero el salvataje de la flora normal representa uno de los mecanismos de evasión. Estas clamidias de acuerdo a factores del huésped pueden dar infecciones ascendentes y en el tracto genital superior femenino y masculino se pueden observar las vacuolas de persistencias por ME. En estos sitios anatómicos la inflamación crónica originada por los ciclos de persistencia-multiplicación da lugar a daño tisular y sucesivas fibrosis y cicatrizaciones (Figura 4). Respecto a *Chlamydia psittaci* en algunos casos se han descrito patologías relacionadas con la bacteria años después de haber padecido la infección primaria sintomática, indicando asociación a largo plazo bacteria-huésped. Esta especie carece de genes para la síntesis de triptófano. *Chlamydia pneumoniae*, no sólo no posee estos genes sino que también induce la persistencia por un camino adicional, indicando que es uno de los patógenos más evolucionados y adaptados a su nicho. También la inducción de iNOS y obviamente la depleción de hierro conducen a la persistencia pero la morfología de las aberraciones en los CR son diferentes. El óxido nítrico (NO) que se produce por acción de iNOS es a partir de la arginina de la célula huésped. *Chlamydia pneumoniae* es sensible a la arginina, determinadas concentraciones inhiben su desarrollo, por lo tanto naturalmente codifica distintos sistemas para eliminar la arginina de la célula huésped hecho que conlleva a una menor producción de NO. Fisiológicamente el exceso de NO inhibe la IDO y en tal caso se disminuye la depleción de triptófano y así la persistencia que la bacteria necesita para producir las patologías de lenta evolución, por lo tanto refuerza a la misma. Estas evidencias no hacen más que demostrar que el curso de las infecciones por clamidaceas es $\text{INF-}\gamma$ concentración-dependiente ya que los linfocitos T antígenos clamidaceas específicos generados por la respuesta adaptativa Th1 mediante su elevada producción podrían erradicar la infección por estas bacterias. Tal aparente protección no es a largo plazo, no evitan las re-infecciones. Sin embargo, en *C. pneumoniae* se ha observado que una segunda infección, que ocurre frecuentemente ya que es una bacteria ubicua, produce signos y síntomas más leves.

Durante las infecciones por clamidaceas se liberan antígenos al entorno, entre ellos la proteína de choque térmico 60 (cla-Hsp60) en consecuencia el sistema inmune produce anticuerpos contra esta proteína. La proteína Hsp60 es una chaperonina ubicua y evolutivamente conservada, en la célula eucariótica está principalmente localizada en la mitocondria. Ante situaciones de estrés celular la chaperonina se expresa en la superficie celular (H-Hsp60). Los anticuerpos cla-Hsp60 podrían causar una agresión autoinmune contra las células eucarióticas que expresan H-Hsp60 (apoptosis, necrosis) sumándose al efecto de la inflamación crónica y la persistencia bacteriana en las patologías causadas por clamidiaceae (Figura 6).

2. *Chlamydia trachomatis*

Se describen 3 biovariedades: biovar neumonitis en ratón, biovar linfogranuloma venéreo y bio var tracoma. Las dos últimas poseen como único reservorio al hombre. Ambas se pueden subclasificar de acuerdo a la proteína MOMP en 20 serovariedades o serotipos que causan diferentes patologías infecciosas por tener diferentes tropismos hacia los tejidos (Tabla 2).

Aunque las biovariedades tracoma (A-K) y LGV (L1-L3) causan infecciones en las células epiteliales, la última origina infecciones más invasivas que incluyen el tejido linfoide.

2.1 *Chlamydia trachomatis* D-K

A nivel mundial, más de 100 millones de individuos por año adquieren infecciones por las serovariedades D-K, constituyendo una de las infecciones de transmisión sexual más prevalente. La infección por *C. trachomatis* D-K se adquiere por sexo oral, vaginal y rectal. La infección primaria es la **endocervicitis** en la mujer y la **uretritis** en el hombre. La mujer presentar también el **síndrome uretral agudo** que acompaña a la cervicitis en el 35% de los casos y se manifiesta con disuria con o sin piuria. En un bajo porcentaje, la disuria puede ser la única manifestación de la infección en la mujer. La endocervicitis es asintomática en el 70–90% de los casos con altas implicancias en la transmisión. En el resto las evidencias clínicas son poco específicas comprendiendo flujo genital mucopurulento, dolor abdominal o pélvico y/o sangrado. Existen evidencias que la endocervicitis puede resolverse sin tratamiento en un rango de 11%-44% de los casos. Sin embargo, la resolución es lenta con un promedio entre 1-4 años luego de la primo infección. Como ya se mencionó existen evidencias que **la respuesta adaptativa clamidia-específica** es la que induce **el daño tisular** cumpliendo un rol central los linfocitos T helper 1 (Th1) productores de INF- γ . Sin embargo, el exacto perfil de la respuesta inmune que conduce a la resolución de la infección más bien que al daño se desconoce. Aunque los TCD8 y las células dendríticas son reclutados en el sitio de la infección no existen evidencias que tengan un rol en eliminarla. Cuatro de cada 10 mujeres no tratadas desarrollan la enfermedad inflamatoria pélvica (EPI) que también puede ser asintomática. La EPI trae como consecuencias infertilidad de origen tubario, embarazos ectópicos, o el síndrome de dolor pélvico crónico. El riesgo de infertilidad aumenta con el número de EPI padecidas, alcanzando el 50% con 3 o más episodios. Existen evidencias que los procesos autoinmunes que clamidia induce también influyen en la infertilidad de origen tubario. Dentro de los factores del huésped asociados con mayor riesgo de infertilidad encontramos los alelos HLA*DQ y el polimorfismo en el promotor de IL-10. La presencia de tal polimorfismo conduce a menor expresión de IL-10 y mayor expresión de IFN γ y TNF- α cuando los leucocitos de las pacientes son estimulados “in vitro”. Un bajo recuento de linfocitos CD4 en mujeres HIV-positivas aumenta el riesgo de EPI.

Los **neonatos de madres infectadas** pueden adquirir la infección durante el parto por contacto con las secreciones cervico-vaginales (infección perinatal). La **conjuntivitis aguda** con secreciones copiosas, mucopurulentas es la infección más frecuente y ocurre entre los 2 y los 25 días del nacimiento. Los signos pueden desaparecer espontáneamente y la enfermedad puede pasar desapercibida sin dejar secuelas. Sin embargo, existe el riesgo de **neumonitis**. La neumonitis no se desarrolla en forma temprana, generalmente lo hace durante **el primer mes de vida**, y se han descrito casos dentro de los 6 meses de vida. La infección durante el embarazo se asocia con endometritis postparto.

En el hombre del **30%-50% de las uretritis no-gonococcicas** son producidas por *C. trachomatis* D-K. El 50% son asintomáticos y el resto presenta disuria y secreción uretral habitualmente blanquecina o

transparente a diferencia de la secreción de la gonorrea que es más purulenta. Puede ocurrir uretritis con la asociación *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis* D-K. Como una complicación de uretritis por clamidia puede ocurrir estenosis uretral debido a la cicatrización de tejido fibroso. En los individuos con uretritis asintomática el primer signo de la infección por los serotipos D-K puede ser la **epididimitis** o **epidídimo-orquitis**. La infección cíclica y recurrente progresa hacia los conductos deferentes y a las vesículas seminales. La asociación de las infecciones por clamidia y la infertilidad en el hombre es controvertida. La infección puede alcanzar la uretra prostática y saltar a la próstata y la vejiga causando los signos típicos de urgencia de orinar, aumento de la frecuencia, disuria y nocturia de la **prostatitis**. El progreso de la infección es de evolución tan rápida que los pacientes pueden referir a la cistitis como el primer síntoma de la misma. La **artritis de Reiter** es otra de las complicaciones que se observa principalmente en hombres de 20 a 40 años y generalmente va precedida de uretritis y conjuntivitis. La artritis puede ser el resultado de los procesos autoinmunes que acompañarían a las infecciones por clamidias.

Los adultos de ambos sexos pueden desarrollar conjuntivitis por contacto con personas con infecciones genitales.

2.2 *Chlamydia trachomatis* L1-L3 (LGV)

El **linfogranuloma venéreo (LGV)** es una enfermedad de transmisión sexual que comprende **tres fases**. El cuadro clínico de la **fase primaria** es una vesícula herpetiforme pequeña y no dolorosa o poco dolorosa, o una úlcera cutánea de base indurada y bordes elevados en los genitales masculinos (pene) o femeninos (labios, vulva, mucosa vaginal e inclusive en el cerviz). La lesión primaria suele curar espontáneamente en varios días y después de un periodo latente el paciente evoluciona hacia la fase secundaria. Un porcentaje elevado de pacientes no presentan evidencia de lesiones cutáneas y pasan directamente a la segunda fase. Del sitio primario de inoculación la infección se disemina a los ganglios linfáticos. Los primeros síntomas de la **fase secundaria se manifiestan entre los 10 y 30 días posteriores al contacto sexual**. La característica principal es la linfadenopatía supurativa, que involucra ganglios de la región donde se inició la infección. En los ganglios se produce una masa inflamada en el interior del tejido que va formando abscesos los cuales pueden romperse y formar fistulas (Bubón). El bubón puede ser bilateral en el 40% de los casos. Esta fase puede presentar también fiebre, dolores musculares y en el caso de proctitis pus o sangre en el recto, dolor durante las deposiciones, diarrea, etc. Puede ocurrir elefantiasis. Recientemente se ha evidenciado una recombinación entre *C. trachomatis* serovar D y C con *C. trachomatis* serovar L2 dando lugar a una serovar hipervirulenta que causa proctitis con hemorrágica severa. La **fase terciaria** o tardía se caracteriza por cambios fibróticos y anormalidades en drenaje linfático dando alteraciones funcionales. Estas complicaciones se observan en un porcentaje muy bajo de pacientes, siendo más frecuentemente en el sexo masculino. Tanto los **neonatos de madres infectadas como los adultos por auto-infección** pueden padecer de **conjuntivitis y/o de úlceras en la córnea** que se acompañan de linfadenopatías submaxilares, cervicales y pre-auriculares.

2.3 *Chlamydia trachomatis* A-C

Causan el tracoma una enfermedad endémica de determinadas áreas geográficas: África, Oriente Medio, determinadas regiones de India, Centro y Sudamérica y las Islas del Pacífico. De aproximadamente 600 millones de personas afectadas, 150 millones tienen déficits visuales y se prevé

que 12 millones serán ciegos en el año 2020. Su transmisión esta relacionada con las bajas condiciones higiénicas y ocurre por vía de contacto directo o con fomites o bien a través de moscas. A diferencia de *C. trachomatis* D-K y L1-L3, las cepas de las A-C carecen de los genes para la síntesis de triptófano por lo tanto dan infecciones crónicas a pesar de la presencia de flora normal acompañante. En zonas endémicas, los niños y en menor medida las mujeres son los principalmente afectados. La enfermedad puede dividirse en 2 etapas: tracoma activo que se caracteriza por una conjuntivitis folicular de la conjuntiva tarsal (párpado superior), acompañada de una descarga mucoide o acuosa. Esta etapa inicial puede resolverse espontáneamente, aunque son frecuentes las sobre-infecciones por *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella* spp, adenovirus o *Molluscum contagiosum*. El cuadro evoluciona hacia un incremento de la respuesta inflamatoria con formación de folículos linfoides que causa hinchazón y edema del párpado. Si no se trata la enfermedad evoluciona hacia la fase crónica, apareciendo cicatrices en la conjuntiva. Las cicatrices pueden deformar el párpado y las pestañas entran en contacto con el globo ocular (entropión), dando como resultado una abrasión en la conjuntiva y córnea (triquiasis). El daño continuo de la córnea genera disminución de visión y ceguera en último término.

2.4 Diagnóstico de *C. trachomatis*

El **cultivo** se realiza en las líneas celulares McCoy y HeLa-299. La sensibilidad varia entre 70-80% y la especificidad puede llegar a un 100% si se usan anticuerpos monoclonales específicos para identificar cada serovariedad. Además del cultivo, para ***C. trachomatis* D-K** se realiza la **detección de antígenos** en la muestra clínica mediante ELISA o por microinmunofluorescencia y la **detección de Ácidos nucleicos** por PCR. Existe una prueba rápida basada en inmunocromatografía que muestra una adecuada sensibilidad sólo en hisopados endocervicales y uretrales. Frente a las muestras conjuntivales, nasofaríngeas, anales, u orina los diferentes métodos de diagnóstico varían en sus sensibilidades para lograr el diagnóstico y existen recomendaciones al respecto (<http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/chlamydial-infections.htm>). No existe hasta el momento ninguna prueba suficientemente sensible y específica para ser empleada como tamizaje para investigar *C. trachomatis* D-K en individuos asintomáticos. Es un área en continua investigación. Para **el diagnóstico las infecciones por *C. trachomatis* D-K no se realizan pruebas serológicas**, a pesar de ello algunos estudios utilizan la determinación de anticuerpos IgA e IgG para rastrear la presencia poblacional de *C. trachomatis* D-K.

En el caso de LGV además del cultivo, la detección de títulos de anticuerpos mediante microinmunofluorescencia indirecta (MIFI) en una muestra de sangre puede ser útil frente a un cuadro clínico acompañante. Generalmente se obtienen títulos de IgG 1/128- 1/2000. La serología no ha sido validada para los casos de proctitis. La detección de *C. trachomatis* L1-L3 también se realiza mediante amplificación del gen *momp1* pero requiere secuenciación y se realiza en laboratorios de referencia. En muchos casos el diagnóstico es diferencial luego de obtener resultados negativos ante la investigación de sífilis, herpes genital y el chancro blando.

2. *Chlamydophila pneumnoniae*

Causa enfermedades **respiratorias agudas**, incluyendo **neumonía, bronquitis, sinusitis y faringitis**. La entrada al hombre es mediada por gotitas respiratorias e infecta la célula epitelial columnar o de transición. Inicialmente lo hace en las células respiratorias de las vías altas y se puede extender a las bajas. Tras la infección inicial del epitelio respiratorio el individuo puede quedar como portador en el 5% de los casos. La reinfección es frecuente a lo largo de la vida porque surgen variantes alélicas, debido a la presión inmunológica o recombinación genética en las infecciones mixta. La bacteria es capaz de originar infecciones asintomáticas principalmente en niños. Causa **el 6 al 15% de neumonías adquiridas en la comunidad** aunque la infección puede ocurrir en todas las edades generalmente a partir de los 5 años de edad, los grupos etáricos más afectados son 18-34 años y 65-79 años. La mayoría de las neumonías causadas por *C. pneumoniae* son leves, pueden ser autolimitadas y difíciles de diferenciar clínicamente de *Mycoplasma pneumoniae*. Generalmente, RX de tórax muestra infiltrados intersticiales, pero la consolidación lobular y el derrame pleural también pueden ocurrir. Ha sido aislada de empiemas pulmonares y puede ocasionar falla respiratoria. En niños mayores de 5 años, la infección ha sido asociada a la exacerbación del asma.

El diagnóstico principalmente es por métodos serológicos mediante MIFI que detecta anticuerpos IgM o IgG. En la primoinfección, el aumento de IgM ocurre alrededor de las 3 semanas de iniciados los síntomas y el de la IgG alrededor de las 6 a 8 semanas. Se considera infección aguda un aumento de más de 4 veces para IgG o títulos de IgM de 1/16.

En cuanto a las **infecciones respiratorias crónicas** puede causar la colonización persistente de las vías respiratorias bajas en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), así como las exacerbaciones.

Chlamydomphila pneumoniae ha sido relacionada con enfermedades crónicas como **arterioesclerosis, esclerosis múltiple y Alzheimer**.

La Figura 5 esquematiza el mecanismo propuesto por el cual la infección por *C. pneumoniae* **constituyen un factor de riesgo** en el desarrollo de la **arterioesclerosis**. Brevemente, la capacidad de infectar a los monocitos, permitiéndole su diseminación, así como la de infectar a las células endoteliales y a aquellas del músculo liso, y la inducción de una mayor oxidación e incorporación de colesterol LDL en las células espumosas aumenta el riesgo de la desestabilización de la placa arterioesclerótica. Lo anterior promueve la formación de trombos con el riesgo del infarto del miocardio.

La patogénesis de la esclerosis múltiple, enfermedad desmielinizante del sistema nervioso central, no está perfectamente definida, pero la hipótesis es que probablemente refleja un trasfondo autoinmune influido por un proceso infeccioso. Aparentemente la infección por *C. pneumoniae* está relacionada a un más rápido progreso de esta enfermedad.

El Alzheimer es una enfermedad neurodegenerativa progresiva. Existen varias hipótesis para explicar la enfermedad y una de ellas es la presencia de placas amiloideas en el tejido cerebral. *Chlamydomphila pneumoniae* aparentemente acelera la expresión de la proteína precursora amiloidea principal componente de tales placas. La manera que la bacteria alcanza el SNC es mediante los monocitos infectados a través del neuroepitelio olfatorio.

3. *Chlamydomphila psittaci*

El hombre generalmente adquiere la infección de pájaros sintomáticos o asintomáticos (loros, palomas, cotorras). Presenta 9 serovariedades siendo generalmente las serovar A, C y D las que afectan al hombre. Se adquiere por inhalación de polvo de la jaula contaminado con heces y

orina, o del polvo que se despiden del plumaje. También puede producirse por picaduras por los pájaros infectados. El contagio inter-humano es posible aunque muy poco frecuente. La psitacosis es una enfermedad esporádica o epidémica. Los síntomas clínicos principalmente son de infección respiratoria desde un cuadro leve seudogripal hasta una neumonía grave de comienzo insidioso o súbito, fiebre alta y escalofríos. La hepatoesplenomegalia generalmente está presente y la enfermedad también puede ir acompañada de meningoencefalitis. La mortalidad de la infección sin tratamiento es del 20 al 40% mientras que con el tratamiento adecuado disminuye al 1%.

Luego de su replicación inicial en las células epiteliales de las vías aéreas superiores y en los macrófagos la bacteria puede diseminarse mediante los monocitos afectando diferentes órganos (hígado, tracto gastrointestinal, etc) aunque muestra alto tropismo por los alvéolos pulmonares, explicando los signos y síntomas de la enfermedad.

El diagnóstico generalmente se realiza por MIFI que detecta anticuerpos IgM o IgG. El resultado se interpreta considerando la epidemiología y los signos y síntomas del paciente. **CASO CONFIRMADO:** epidemiología, clínica más aumento de 4 veces o más el título de IgG (seroconversión), o un título de IgM 1:16. **CASO PROBABLE:** clínica, epidemiología de contacto con caso confirmado y un título de IgG 1:32 en muestra aislada. Los laboratorios de referencia realizan Nested PCR en muestras de sangre e hisopado de fauces. La reacción consiste en amplificar el gen *momp1* y luego realizar una nueva PCR utilizando cebadores que amplifican una región del gen específica para *C. psittaci*, o directamente secuencian todo el gen. **El diagnóstico de psitacosis debe incluirse dentro de las neumonías adquiridas en la comunidad** De acuerdo a las leyes vigentes en Argentina, la aparición de un caso de psitacosis debe ser notificado de inmediato a la autoridad sanitaria y existe vigilancia tanto en humanos como animales, comunicando los períodos en los cuales se observa un mayor número de casos a los esperados.

Bibliografía Consultada

Hogan RJ, Mathews SA, Mukhopadhyay S, Summersgill JT, Timms P. *Chlamydial* persistence: beyond the biphasic paradigm. Infect Immun. 2004 72:1843-55.

Valdivia RH. *Chlamydia* effector proteins and new insights into chlamydial cellular microbiology. Curr Opin Microbiol. 2008 11:53-9. doi: 10.1016/j.mib.2008.01.003. Epub 2008.

Schmidt SV, Schultze JL. New Insights into IDO Biology in Bacterial and Viral Infections. Front Immunol. 2014 Aug 11;5:384. doi: 10.3389/fimmu.2014.00384.

Huston WM, Barker CJ, Chacko A, Timms P. Evolution to a chronic disease niche correlates with increased sensitivity to tryptophan availability for the obligate intracellular bacterium *Chlamydia pneumoniae*. J Bacteriol. 2014 196:1915-24. doi: 10.1128/JB.01476-14.

Redgrove KA, McLaughlin EA. The Role of the Immune Response in *Chlamydia trachomatis* Infection of the Male Genital Tract: A Double-Edged Sword. Front Immunol. 2014 Oct 27;5:534. doi: 10.3389/fimmu.2014.00534.

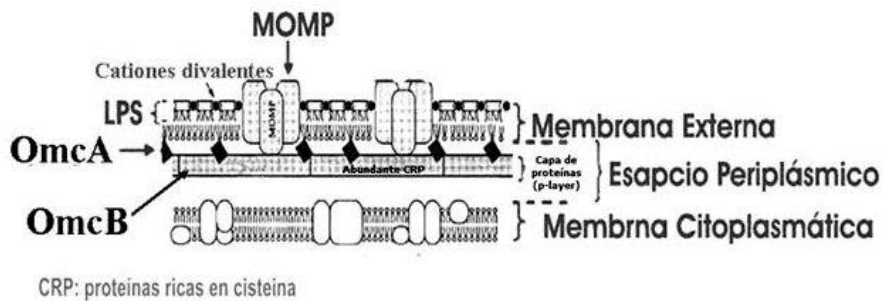


Figura1: Envoltura de las bacterias de los géneros *Chlamydia* y *Chlamydophila*. MOMP (Major Outer Membrane Protein) principal proteína de la membrana externa. OmcB presenta alto entrecruzamiento y forma una monocapa en el periplasma. OmcA es una proteína de la membrana externa. La interacción entre MOMP y las Omc forman el complejo COMC (Outer Membrane Complex) que principalmente mantiene la forma del CE.

Tabla 1. Diferencias entre el Cuerpo Elemental y Cuerpo Reticular

Características	Cuerpo Elemental	Cuerpo Reticular
Tamaño	0.3µm	0.5-1µm
Relación ARN/ADN	1/1	3/1
Metabólicamente	Inactivo	Activo
Adaptado para la vida	Extracelular	Intracelular
Endocitosis Celular	Induce	No induce
Etapas de la Infección	Infectante	Replicación Intracelular

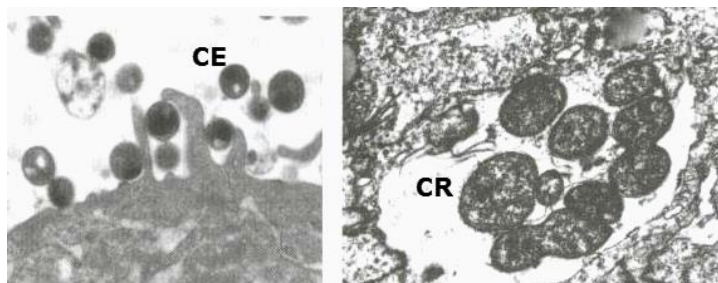


Figura 2. Infección de la célula del huésped. CE induciendo la endocitosis. CE replicando dentro de la vacuola de inclusión en la célula del huésped.

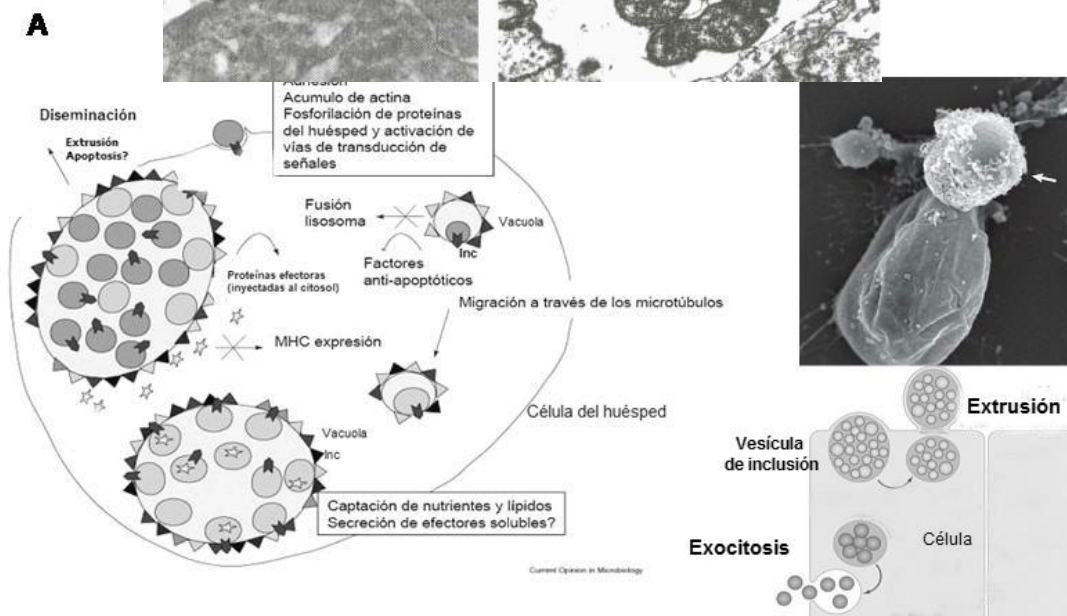


Figura 3. A Ciclo intracelular de las bacterias de la familia *Chlamydiaceae*. Adaptado de B. salida de la célula

huésped por extrusión o exocitosis. La flecha indica la extrusión de la célula (microscopía de barrido electrónico)

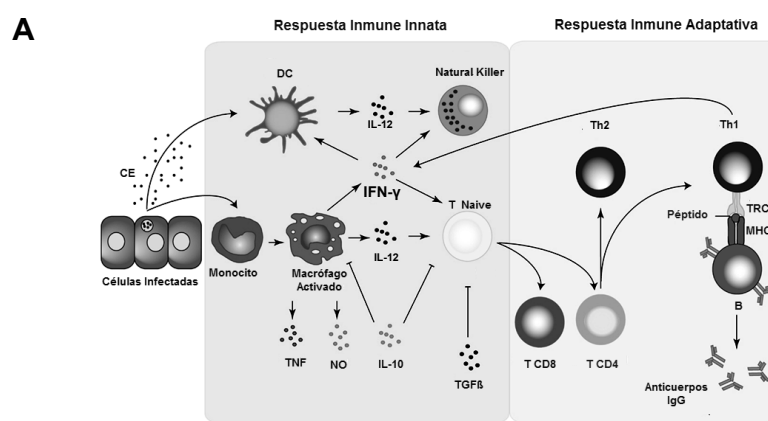


Figura 4. A Respuesta Inmune Innata y Adaptativa frente a las células infectadas por especies de la familia *Chlamydiae*. Rol central del IFN- γ en tratar de limitar la infección. Los linfocitos T antígenos-clamídicos específicos, generados por la respuesta adaptativa Th1 podrían limitar o resolver la infección ya se observa el tráfico de los CD4T que producen IFN- γ y TNF- α hacia el sitio de la infección pudiendo inhibir la replicación bacteriana intracelular, así como están presentes los anticuerpos IgG en el mismo sitio para neutralizar los CE antes de ser endocitados. B. La respuesta generada contra estas bacterias que persisten a pesar de la inflamación induce la estimulación de fibroblastos que conlleva a la síntesis de colágeno y liberación de metaloproteasas, entre otros factores, con el resultado de fibrosis y cicatrizaciones características de las patologías generadas por las especies de la familia *Chlamydiae*.

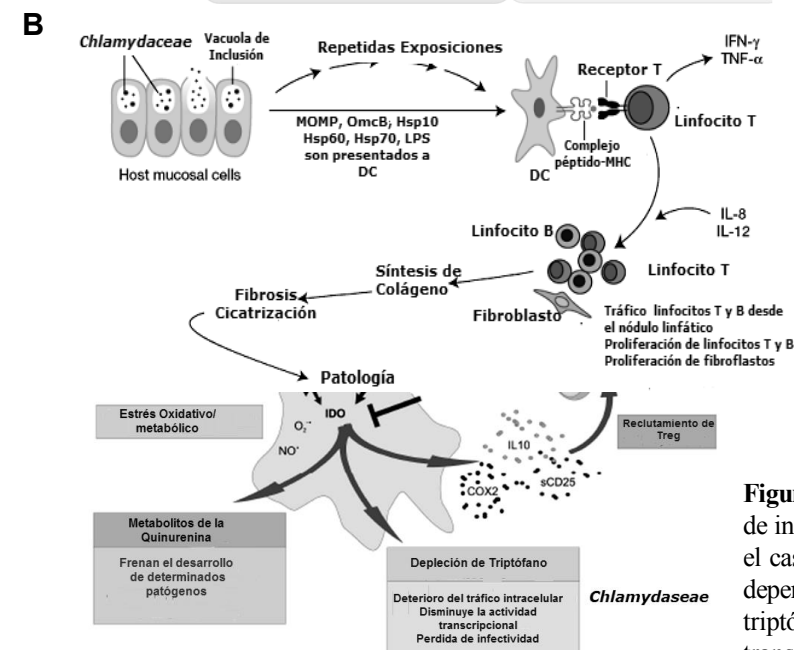


Figura 5: La activación de laIDO. Su está asociada a la inducción de infecciones persistentes y crónicas por diferentes mecanismo. En el caso de la familia *Chlamydiae* el principal mecanismo IDO-dependiente es la depleción de triptófano. Estas bacterias son triptófano-auxótrofas y ante la depleción disminuyen la actividad transcripcional de genes de manera de mantener la viabilidad pero

no la multiplicación y el tráfico de las vesículas dentro de la célula huésped. En la vesícula de inclusión los CR muestran aberrantes. El reclutamiento de células Treg, entre otros factores, disminuye la respuesta inflamatoria y las bacterias vuelven a multiplicarse y a ser infectivas.

Tabla 2. Biovariedades y serovariedades de *Chlamydia trachomatis*

Biovariedades	Serovariedades	Enfermedad
Tracoma	A,B,Ba,C	Tracoma.
	D, Da, E, F, G, Ga, H, I, Ia, J, Ja K	* Uretritis no gonocócica y epididimitis. * Cervicitis, endometritis, salpin y proctitis. * Conjuntivitis de inclusión del recién nacido. * Síndrome neumónico infantil, neumonía.
Lifogranuloma venéreo (LGV)	L ₁ ,L ₂ , L _{2a} , L ₃	Linfogranuloma venéreo

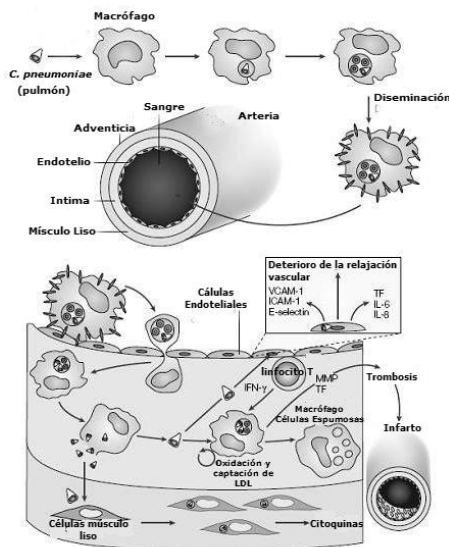


Figura 6. *Chlamydia pneumoniae* como factor de riesgo de la injuria vascular en la arterioesclerosis. Los CE son endocitados por los macrófagos alveolares en donde se diferencian a CR y se multiplican. La presencia de las vacuolas de inclusión en los monocitos infectados aumenta la expresión de ligandos de adhesión que facilita su adherencia a los endotelios arteriales. Los macrófagos adheridos migran a la túnica íntima de los vasos donde pueden infectar a los macrófagos residentes los cuales comienzan a oxidar y captar LDL tomando el típico aspecto de las células espumosas. Apparently el LPS aumenta la entrada del colesterol y disminuye su eflujo, mientras que la proteína cla-Hsp60 induce la oxidación en los monocitos y macrófagos. La liberación de citoquinas por la infección de las células del músculo liso y las endoteliales y las metaloproteasas principalmente secretadas por los macrófagos desestabilizan la placa arterioesclerótica promoviendo la formación de trombos con el riesgo del infarto del miocardio.

Mycoplasma y Ureaplasma

La clase Mollicutes está formada por las bacterias más pequeñas de vida libre. En esta clase encontramos la familia *Mycoplasmataceae* formada por 8 géneros de los cuales *Mycoplasma* y *Ureaplasma* poseen especies que colonizan y/o causan patologías en el hombre (Tabla 1). El género *Mycoplasma* cuenta con más de 190 especies, de las cuales 12 son los más frecuentemente encontradas dentro de la flora normal del hombre y 2 causan patologías: *M. pneumoniae* y *M. genitalium*. *Mycoplasma hominis* se comporta como patógeno oportunista. En el género *Ureaplasma*, 2 de sus 6 especies forman parte de la flora genitourinaria y también se comportan como patógenos oportunistas: *U. urealyticum* y *U. parvum*.

1. Características genómicas, metabólicas, estructurales y morfológicas

El tamaño de los genomas secuenciados de los Mollicutes relacionados al hombre oscila entre 580-820 Kpb, siendo el más pequeño *M. genitalium*. Tales dimensiones representan un tamaño aproximadamente 5 veces menores que el genoma de *Escherichia coli*. Debido al tamaño reducido del genoma, estas bacterias poseen restringidas vías metabólicas, sin embargo presentan las esenciales para la adaptación a su nicho. En otras palabras son más simples pero "saben" capitalizar su genética. Como toda bacteria con genoma reducido, los Mollicutes posee un tiempo de duplicación lento y aunque con requerimientos nutricionales crecen en medios axénicos. El diámetro de los Mollicutes es tan pequeño que pueden atravesar filtros con poros que evitan el pasaje de la mayoría de los otros procariotes. La envoltura celular esta formada por una membrana trilaminar. La parte interna es una bicapa de fosfolípidos conteniendo en ambas mitades colesterol y la parte externa es una capa de lipoproteínas. Los esteroides son de vital importancia para mantener la estabilidad y fluidez de la membrana y son derivados del colesterol del huésped. Carecen de pared celular, por lo tanto son resistentes a los antimicrobianos β -lactámicos. Morfológicamente pueden presentar forma redondeada o en huso (Figura 1). La clave para mantener la morfología es la presencia de un fibroso citoesqueleto debajo de la membrana plasmática (Figura 1). El citoesqueleto está compuesto por una intrincada red de diferentes proteínas con diversas funciones: aquellas relacionadas con el soporte de la forma celular, otras relacionadas a la motilidad y a la traslación, otras al metabolismo energético y aquellas que están vinculadas a la adherencia a las células del huésped (Figura 1). Bajo la forma de huso podemos describir en estas bacterias la cola, el cuerpo y el "tip" u organela de adherencia. Tal organela esta formada por las proteínas directamente relacionadas con la adherencia a la célula del huésped y proteínas accesorias que confieren la estructura del "tip". Así, a modo de ejemplo en *M. pneumoniae* las proteínas P1, P30 y P116 son las adhesinas y otras 8 las accesorias (HMW1–HMW5, P30, P56, y P90). En el caso de *M. genitalium*, la organela de adherencia se denomina MgPa en la cual las proteínas P140 y P110 son las adhesinas. Como se mencionó varias de las proteínas del citoesqueleto están relacionadas con la motilidad. La motilidad es esencial para la colonización y se denomina "gliding" ya que implica un deslizamiento reptante (Figura 1). Las contracciones y extensiones del citoesqueleto bacteriano necesarias para el deslizamiento dependen de fosforilaciones y desfosforilaciones de proteínas que lo componen.

2. Patogenesis

Mycoplasma pneumoniae y *M. genitalium* poseen similares mecanismos de patogenicidad. Mediante el “tip” se adhieren al epitelio ciliado del tracto respiratorio (alto o bajo) o al genitourinario, respectivamente. Se los puede observar por microcopia electrónica en forma de huso entre las microvellosidades y las ciliadas. (Figura 2). La ausencia de la pared bacteriana permite un contacto íntimo con la membrana de la célula del huésped. La adecuada interacción conduce a la fusión de membranas y la “fusogenicidad” está relacionada al contenido de colesterol no esterificado en la membrana de la bacteria. Además, *M. genitalium* expresa una gliceril-deshidrogenasa que reconoce a receptores de mucina y fibronectina presentes en la vagina y el cérvix. A pesar que en un principio se los consideraba patógenos exclusivamente extracelulares, existen evidencia que tanto *M. pneumoniae* y *M. genitalium* están presentes en el interior de las células no fagocíticas del huésped con ubicación perinuclear al igual que otros micoplasmas (*M. fermentans*, *M. hominis* y *M. penetrans*). El contacto íntimo entre las membranas patógeno-huésped induce la remodelación de los filamentos de actina que causa la internalización. Desde el punto de vista de las patologías que causan diremos que poseen la capacidad de mantenerse viables intra y extracelularmente. El daño en la célula huésped se puede producir por varios mecanismos. Tanto las especies de *Mycoplasma* como *Ureaplasma* han perdido los genes involucrados en la biosíntesis de aminoácidos, nucleótidos y de ácidos grasos, por ende dependen del huésped para que les provea de un amplio espectro de precursores de la biosíntesis de macromoléculas. La **competición entre la bacteria y la célula del huésped por los precursores de macromoléculas** puede llegar a afectar la integridad de la última y alterar su función. Así, por ejemplo, los micoplasmas que utilizan la vía de la arginina-dehidrolasa para generar ATP, rápidamente agota las reservas de arginina de la célula del huésped, afectando la síntesis de proteínas, la división y el crecimiento de la misma. La fusión también permite la **liberación de enzimas hidrolíticas bacterianas** en la **célula del huésped**. Entre estas se encuentra una potente nucleasa con el fin de adquirir precursores de los ácidos nucleicos a partir de la degradación del ADN del huésped. También las células del huésped son vulnerables a **sustancias tóxicas** que estas bacterias liberan como resultantes de sus procesos metabólicos. Uno de estos es la obtención de glicerol de la célula del huésped generando **peróxido de hidrógeno y anión superóxido**. Las sustancias tóxicas bacterianas se suman a las especies reactivas de oxígeno endógenas del huésped generadas por la citoaderencia e inducen el estrés oxidativos. La alta concentración del anión superóxido inhibe la catalasa de la célula huésped y la concentración de H_2O_2 inhibe a la superóxido dismutasa celular. Los micoplasmas expresan una enzima antioxidante que protege o repara sus proteínas del daño oxidativo que ellos inducen.

Durante 50 años se creyó que los molicutes no poseían citotoxinas. En el año 2005 se describe en *M. pneumoniae* una proteína con capacidad simultánea de ADP-ribosiltransferasa (semejante a la subunidad S1 de la toxina pertussis) y actividad vacuolizante. Esta proteína fue identificada en una cepa que causaba una neumonía muy severa en el paciente y se denominó toxina del Síndrome de Distrés Respiratorio Adquirido en la Comunidad (en inglés CARDS toxin). Aunque aún no se conocen con exactitud la(s) proteína(s) de la célula huésped que ADP-ribosila, se ha demostrado que posee alta afinidad por la proteína surfactante A (SP-A) con alta prevalencia en el pulmón. Tal habilidad permite una mayor colonización facilitando el desarrollo de la infección y ha abierto las puertas para el desarrollo de vacunas dirigidas contra *M. pneumoniae*. Aún no ha sido descrita una citotoxina homóloga en *M. genitalium*. Los efectos citopáticos de la infección por los molicutes en las células del huésped incluyen la pérdida de las ciliadas del epitelio, vacuolización

celular, reducción del consumo de oxígeno, de la utilización de la glucosa, de la absorción de aminoácidos y de la síntesis de macromolecular, todos estos eventos conducen a la exfoliación del epitelio. El daño tisular también es incrementado por la respuesta inmune del huésped. Los micoplasmas poseen diferentes mecanismos para evadirla. En la inmunodolulución de la respuesta intervienen principalmente las lipoproteínas de la capa más externa de su membrana. Estas realizan variación antigénica por diferentes mecanismos inclusive un enmascaramiento diferencial de la superficie de los epitopes antígenos por parte de la porción lipídica de las lipoproteínas. Otro mecanismo de evasión es el mimetismo molecular de epitopes antigénicos con aquellos del huésped que la bacteria puede expresar modificando la composición de su membrana externa. Así, pacientes con infecciones respiratorias por *M. pneumoniae* muestran seroconversión contra proteínas del huésped estando relacionada con manifestaciones extrapulmonares como exantema, anomalías cardíacas y complicaciones neurológicas. El tercer mecanismo de evasión es su localización intracelular.

3. *Mycoplasma pneumoniae*

Su único reservorio es el hombre, se transmite por aerosoles respiratorios y ocasiona infecciones respiratorias agudas y crónicas. El Centro de Control de Infecciones (CDC, Atlanta Georgia, USA) ha estimado que, en ausencia de epidemias, 2 millones de personas por año muestran nuevas infectadas por *Mycoplasma pneumoniae* de las cuales menos de 100.000 requieren hospitalización. Generalmente las infecciones son autolimitadas y en muy poco casos fatales. Las manifestaciones clínicas de las infecciones varían con el grupo etario. En los niños **menores de 2 años** causa principalmente infecciones respiratorias altas, en las cuales predomina la **faringitis**, que sin tratamiento puede ser recurrente. También en este grupo etario se han observado manifestaciones semejantes al resfrío común y **traqueobronquitis o bronquiolitis**. Aparentemente, *M. pneumoniae* **no** estaría relacionado con la **otitis media aguda** (OMA). Mediante PCR su presencia en el oído medios fue detectada en el 0-4% de los niños con OMA. La infección predominante en el grupo etario de **6-19 años** es la **neumonía**. **Es el principal patógeno relacionado con las neumonías en la edad escolar**. A pesar del importante pico en el mencionado grupo etario esta patología se ha descrito hasta en individuos **menores de 60 años**. Representan del 5-15% de las neumonías adquiridas en la comunidad. Generalmente las infecciones son endémicas. Sin embargo si considerando los dos subtipos de adhesina P1 descritos, uno de ellos se relaciona más frecuentemente con epidemias. La patología causada por *M. pneumoniae* se la conoce como “neumonía deambulante” por las leves manifestaciones clínicas que causa. Se caracteriza por un período de incubación prolongado (2-4 semanas). Los síntomas y signos más comunes son: **tos seca, ausencia de expectoraciones, fiebre no muy alta, dolor de cabeza, malestar general y un recuento de leucocitos relativamente bajo (menos de 10.000/ml), en comparación con las neumonías de la comunidad ocasionada por otros patógenos bacterianos**. La leucopenia y linfopenia también pueden acompañar a la neumonía. Puede observarse anergia transitoria a la tuberculina en la fase aguda de la infección por *M. pneumoniae*. Esta observación puede deberse a la depresión de la función linfocitaria.

Las manifestaciones extrapulmonares ocurren en el 25% de los pacientes y son generalmente las complicaciones que requieren hospitalización. Estas se pueden presentar 3 días después del inicio del cuadro respiratorio y hasta tres semanas posteriores a la resolución del mismo. Las más frecuentes son las neurológicas: encefalitis y el síndrome de parálisis ascendente de Guillain-Barré.

El síndrome de Stevens Johnson se presenta como mucositis/ gingivostomatitis y lesiones en la piel (eritema multiforme). También se describen artritis, miocarditis y arritmia cardíaca.

La neumonía fulminante inóculo-dependiente sólo se observa en 3-4% de los casos y comprende fallas respiratorias y el síndrome agudo de distrés respiratorio (un proceso inflamatorio difuso del pulmón con edema pulmonar agudo por aumento de la permeabilidad alvéolo-capilar).

Mycoplasma pneumoniae **puede** causar infecciones **respiratorias latentes o portación asintomática**. Esta portación es mayor en niños que en adultos siendo más frecuente en individuos asmáticos, por lo cual se lo asocia con esta patología o su exacerbación. Los mecanismos del **asma** o su exacerbación implican la estimulación de citoquinas Th2, células inmunes y la producción de IgE dando cambios fisiológicos tales como la obstrucción bronquial, la angiogénesis, edema y engrosamiento de la pared celular en las vías respiratorias. En el adulto la eventual portación puede conducir a la exacerbación de la EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica).

3.1 Aspectos inmunológicos.

Inmunidad celular: En el sitio primario de la infección en las vías aéreas altas o en los bronquios *M. pneumoniae* induce la inmunidad mediada por células que ocurre durante el período de incubación. Así se ha observado que las lipoproteínas, especialmente la lipoproteína-2-activadora-de macrófagos, inducen citoquinas y quimioquinas vía TLR2/TLR6. La respuesta adaptativa aparentemente depende de las características del huésped, dando origen a citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias, siendo poco conocida la inmunotapogénesis exacta y la forma de resolución. Esta respuesta dependerá tanto de la dosis infectante así como de la exposición previa a infecciones clínicas o subclínicas. La inmunidad protectora que deja la infección es incompleta y la reinfección con *M. pneumoniae* es frecuente. Dado que la enfermedad clínica parece menos severa en niños de corta edad, se ha sugerido que muchas de las manifestaciones clínicas de la enfermedad en niños en edad escolar se deberían a fenómenos relacionados con una reacción inmunopatológica mediada por una respuesta inmune celular secundaria en huéspedes que han sido sensibilizados por una infección previa. A su vez, la severidad de la neumonía parece depender de la respuesta inmune del huésped que incluyen varios mecanismos como la reacción alérgica a la bacteria y el predominio de la polarización hacia Th1 y Th2.

Inmunidad humoral: En la neumonía pueden detectarse anticuerpos IgA-secretores en el tracto respiratorio, pero éstos desaparecen hacia las 2 a 4 semanas del inicio de la infección. Los anticuerpos circulantes fijadores de complemento alcanzan un pico entre las 2 y 4 semanas y tienden a desaparecer hacia las 6 a 12 semanas. También se producen respuestas de baja especificidad contra glicolípidos de membrana de *M. pneumoniae*, especialmente contra las proteínas P, que con frecuencia resultan en la aparición de crioaglutininas. Estas son anticuerpos IgM con actividad dirigida hacia el antígeno I de hematíes humanos y causan hemaglutinación a temperaturas de 0 a 4°C.

3.2 Diagnóstico

Mycoplasma pneumoniae puede aislarse de muestras respiratorias tanto en medios líquidos como sólidos específicos. Ya que la bacteria se aísla de muestras clínicas no estériles (hisopado de fauces, aspirado nasofaríngeo, esputo, lavados broncoalveolares), los medios de aislamiento poseen el agregado de compuestos que inhiben la flora acompañante (β -lactámicos o acetato de talio ya que los micoplasmas son resistentes a sus acciones) y un indicador de pH para revelar el

desarrollo. Entre los medios de cultivo más utilizados se destaca el caldo y el agar SP4. También se recomienda el uso de medios bifásicos, en donde los tubos contienen una fase sólida de agar y una fase líquida o caldo con una composición similar al agar, que aumentan la recuperación de los micoplasmas en comparación con los medios de cultivos sólidos. Los medios de cultivo se incuban a 37°C en microaerofilia por un período de tiempo máximo de 4 semanas antes de darlos por negativos. En el caldo, un cambio gradual y leve del indicador del pH en 8-15 días, sin turbidez macroscópica sugiere un cultivo verdaderamente positivo. Cuando los cambios de color son evidentes, el caldo debe subcultivarse rápidamente en un medio con agar, ya que a medida que se acumula más ácido los micoplasmas rápidamente se tornan no viables. Debido al pequeño tamaño las colonias en el agar no pueden ser visualizadas a simple vista, solo mediante el uso de un microscopio estereoscópico (objetivo de 20X o 60X) (Figura 3). Por lo tanto, el tiempo de crecimiento impide realizar un diagnóstico rápido o en la fase aguda de la enfermedad. En la actualidad la detección genómica en las muestras clínicas se realiza mediante Nested-PCR, dirigida a amplificar regiones del gen 16S-rARN. Existen equipos comerciales. También se utiliza la técnica de PCR en tiempo real que permite informar el número de copias presentes. Es importante remarcar que la persistencia de *M. pneumoniae* durante periodos variables de tiempo después de una infección aguda, dificulta el establecimiento de la significación de su aislamiento o su detección por PCR. Por tal razón, el diagnóstico debe siempre acompañarse de la realización de pruebas serológicas. La detección serológica de *M. pneumoniae* se realiza principalmente mediante la determinación de los títulos de IgM e IgG por enzoinmunoensayo (ELISA). La respuesta de IgM es importante en la población infantil pero puede no estar presente en la población adulta, que generalmente ha sido expuesta repetidamente a *M. pneumoniae*. Es decir, en esta población, la ausencia de IgM no descarta la infección, ni tampoco su presencia la confirma dado que puede persistir meses o incluso años. Los anticuerpos IgG específicos pueden permanecer elevados durante un tiempo prolongado de hasta cuatro años, por lo tanto un solo título no diferencia infección reciente de una previa. Frente a esta situación se recomienda en adultos determinar seroconversión de IgG que ocurre en el 82% de los casos. Algunos autores recomiendan la determinación de los títulos de IgA, sosteniendo que títulos altos de IgA son marcadores de infecciones por *M. pneumoniae*, especialmente en niños. Sin embargo, se ha evidenciado que pueden presentar títulos elevados individuos sanos. Respecto a la técnica de fijación de complemento que determina indistintamente la presencia de anticuerpos IgG e IgM, el prolongado periodo de incubación tras la infección por *M. pneumoniae*, permite, a menudo, demostrar un título significativo ($>1/32$) de anticuerpos. Los principales inconvenientes de la técnica de fijación de complemento son su laboriosidad, su difícil estandarización (reacción cruzada con otros micoplasmas, virus influenza, adenovirus) y el requerir de personal muy entrenado y cualificado. Tras la infección por *M. pneumoniae* entre un 30 y un 70% de los pacientes presentan crioglobulinas a títulos $\geq 1/32$. Sin embargo, también estas pueden ser generadas por virus como Epstein-Barr o citomegalovirus, algunas bacterias como *Klebsiella pneumoniae*, o enfermedades del colágeno y enfermedades neoplásicas. Dada su baja sensibilidad y limitada especificidad, no se considera, actualmente una técnica útil para el diagnóstico de la infección por *M. pneumoniae*. Por todo lo dicho, no se cuenta con un método diagnóstico “gold standard”.

3. 2 Tratamiento.

El tratamiento de elección para la infección por *M. pneumoniae* implica el uso de macrólidos que acortan la duración de la enfermedad pero que no reducen el tiempo que se necesita para la erradicación de la bacteria de la nasofaringe, que puede ser bastante prolongado. En la actualidad se recomienda utilizar los nuevos macrólidos (azitromicina, claritromicina, roxitromicina) que además reducen la duración de la terapia para la neumonía atípica causada por *M. pneumoniae*.

3.3 Prevención.

No existe un método efectivo para prevenir la infección por *M. pneumoniae*. Se han hecho estudios con diversas vacunas, tanto inactivadas como preparadas con cepas vivas atenuadas, pero los resultados no favorecen su uso generalizado. Sólo ha podido generarse un cierto nivel de inmunidad protectora de corta duración por vacunación y existen dudas acerca de la inducción de inmunidad, debido a los riesgos de fenómenos de autoinmunidad que pueden aparecer durante la infección natural en pacientes inmunizados.

4. *Mycoplasma genitalium*

Es uno de los agentes etiológicos de uretritis no gonocócicas. En hombres sintomáticos (con signos y síntomas de uretritis), causa el 15-35% de las uretritis no gonococcicas no causadas por *Chlamydia trachomatis* D-K. *Mycoplasma genitalium* también presenta una asociación significativa con la balanitis y/o postitis (inflamación del prepucio). Generalmente la cervicitis es asintomática así como la infección anal. En mujeres con signos y síntomas de cervicitis el 70% de las no causada por *N. gonorrhoeae* o por *Chlamydia trachomatis* D-K se deben a *M. genitalium*. Esta bacteria ha sido diagnosticada en el 4,5% de mujeres con signos de inflamación uretral. Aparentemente, las mujeres infectadas con *M. genitalium* poseen dos veces mayor riesgo de sufrir enfermedad inflamatoria pélvica con la consecuencia de infertilidad. También la infección *M. genitalium* ha sido relacionada a nacimientos pretérmino y abortos.

Una forma de analizar la prevalencia en la población asintomática es realizar la detección genómica en el primer chorro de orina y en hisopados rectales. Mediante esta metodología se demostró que la prevalencia de *M. genitalium* está en aumento. Luego de aproximadamente 28 años de su identificación, este patógeno toma importancia como re-emergente debido a la descripción de cepas resistentes a los macrólidos.

El diagnóstico se realiza exclusivamente mediante la detección genómica, ya sea por PCR amplificando regiones del gen de la adhesina o por PCR en tiempo real dirigida a regiones del gen 16S-rARN. En la actualidad existe un equipo comercial de PCR en tiempo real que es multiplex, o sea detecta *C. trachomatis* D-K, *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, *M. hominis* y *U. urealyticum*, *U. parvum*.

5. *Mycoplasma hominis*

Es un comensal que se aísla de la microbiota del tracto urogenital en el 20% de los hombres y el 40% de las mujeres. Es naturalmente resistente a los macrólidos por lo cual dificulta su tratamiento cuando se comporta como patógeno oportunista. Como ya se describió en el capítulo de *Gardnerella vaginalis*, *M. hominis* forma parte del complejo bacteriano que ocasiona vaginosis bacteriana (VB). La VB tiene una incidencia del 20% en las mujeres sanas, embarazadas y no embarazadas. Se ha demostrado, que las mujeres embarazadas con VB tienen una probabilidad significativamente mayor de presentar aborto o parto pretérmino y que la presencia de VB se asocia con el aislamiento los microorganismos que la causan de las membranas de la placenta.

Como complicaciones de la VB durante el embarazo se han descrito parto pretérmino, corioamnionitis, ruptura prematura de membranas y endometritis postparto. La colonización por *M. hominis* en la VB, alcanza recuentos de hasta 10.000 veces mayores que en mujeres sin VB y algunos autores consideran que después de las 24 semanas de gestación, la colonización por *M. hominis* constituye un factor de riesgo del parto pretérmino. Es probable, que *M. hominis* encuentre las condiciones adecuadas para su crecimiento en el medio creado por las otras bacterias, y que cuando estas últimas sean erradicadas, él también lo sea. En consecuencia, es difícil saber si es un patógeno “per se”, si es co-factor de la VB o, simplemente, un acompañante. Además de su simbiosis principalmente con *G. vaginalis* y las bacterias anaerobias se ha observado su asociación con el protozoo *Trichomonas vaginalis*. Debido a su tamaño *M. hominis* puede infectar y replicarse en el protozoo. Se ha evidenciado que la presencia de *T. vaginalis* convierte un exudado con presencia de *M. hominis* en un exudado libre de esta bacteria. Tanto *T. vaginalis* como *M. hominis* poseen vías metabólicas comunes, entre ellas la vía de la arginina dehidrolasa (ADH) que es esencial para la vida de la bacteria. En anaerobiosis, la simbiosis hace que *T. vaginalis* utilice la vía ADH para obtener el 10% de sus requerimientos energéticos. Además, *M. hominis* tiene acceso a moléculas como putresina que es incapaz de sintetizar. La interacción *T. vaginalis* y *M. hominis* aparentemente posee un rol clave en la inflamación durante la tricomoniasis, aumentando la respuesta proinflamatoria de los macrófagos. A pesar que *T. vaginalis* puede desarrollar resistencia a metronidazol por sí sola, la presencia de *M. hominis* aumenta la misma por transferencia horizontal de genes. Así mismo, la transmisión de *T. vaginalis* colabora en la transmisión de *M. hominis*. Tal asociación también estaría relacionada a las complicaciones que pueden aparecer durante el embarazo en la tricomoniasis.

Mycoplasma hominis no causa generalmente uretritis o cervicitis.

Dada la presencia de *M. hominis* en el tracto genitourinario, el diagnóstico microbiológico de su posible asociación con una patología se realiza en base a cultivos cuantitativos. Los medios específicos para su desarrollo contienen arginina y un indicador de pH que facilitan la detección de colonias que utilizan este sustrato. Se considera un cultivo positivo cuando el recuento de colonias es mayor a 10^4 unidades cambiadoras de color/ml (UCC/ml). El aislamiento de *M. hominis* en cualquier cantidad de un líquido o tejido normalmente estéril se asocia significativamente con enfermedad. Este mollicute desarrolla más rápidamente que *M. pneumoniae* (aproximadamente 5 días), aunque más lentamente que *Ureaplasma* spp. Existen medios selectivos comerciales que permiten diferenciar las dos últimas especies.

6. *Ureaplasma* spp

Inicialmente *Ureaplasma urealyticum* fue descrita como única especie con 14 serovariedades. A partir del año 2002 se diferencian dos especies *U. parvum* (serovariedades 1, 3, 6 y 14) y *U. urealyticum* (las serovariedades restantes). Ambas especies sólo pueden ser diferenciadas por técnicas genotípicas. Los ureaplasma son comensales del tracto genitourinario del hombre y de la mujer. Colonizan las mucosas mediante las citoadhesinas. *Ureaplasma parvum* codifica IgA proteasa al igual que *M. hominis* favoreciendo la colonización. Los ureaplasmas expresan en su superficie una lipoproteína conocida como MBA (multiple banded antigen) que está sujeto a variación de fase y de tamaño. Este antígeno es reconocido por los receptores TLR1, TLR2 y TLR6 mediante los cuales induce NF- κ B. La variable expresión de MBA permite a los ureaplasmas evadir la respuesta inmune del huésped. La persistencia de los ureaplasma en el huésped también ha sido relacionada con la vida en biopelículas. Ambas especies codifican ureasa.

La actividad de la ureasa de *Ureaplasma* spp se ha relacionado con la producción de cálculos urinarios. La ureasa induce la cristalización de fosfato de estruvita y calcio.

La infección urinaria por ureaplasmas ha sido principalmente evaluada en la mujer embarazada y su aislamiento en el primer trimestre del embarazo está asociada con el desarrollo de preeclampsia en el tercer trimestre. *Ureaplasma* spp puede estar presente en la VB, aunque en un número de casos significativamente menores que *M. hominis*. *Ureaplasma* spp causa uretritis y prostatitis crónicas en porcentajes aún no claramente determinados. A diferencia de *M. genitalium* aparentemente no existe una fuerte asociación entre *Ureaplasma* spp con la cervicitis, endometritis y enfermedad inflamatoria pélvica.

Ureaplasma spp se asocian con una serie de condiciones que pueden afectar a la mujer embarazada, al feto en desarrollo y al neonato. La corioamnionitis (CA) o infección intrauterina es una infección de las membranas y el corion de la placenta que se adquiere generalmente por vía ascendente en el marco de la rotura prematura de membranas. Sin embargo, puede desarrollarse con las membranas intactas, siendo este hecho más frecuente en el caso de infección por los mollicutes genitales. La CA subclínica es el eje de la patología materno-fetal. Se asocia a aborto y a complicaciones fetales y neonatales como parto pretérmino, neumonía congénita y displasia broncopulmonar. Se debe aclarar que el parto pretérmino que ocurre en la semana 30 o menos de gestación presenta una asociación directa con infección, mientras que el parto pretérmino espontáneo que ocurre entre las semanas 34 a 36 de gestación usualmente ocurre sin asociación con infección. Dentro de los mollicutes *Ureaplasma* spp fue identificado en el 22-28% de las pacientes con CA mientras que *M. hominis* en sólo 2-4%. Se ha demostrado clínica y experimentalmente que *Ureaplasma* spp puede invadir el saco amniótico desde la vagina (vía ascendente) e inducir en las membranas una respuesta inflamatoria mediada por citoquinas que da lugar al parto pretérmino. La Figura 4 resume la cascada inflamatoria implicada en el inicio del parto pretérmino y la morbilidad neonatal más frecuente. La asociación de *Ureaplasma* spp. (en especial *U. parvum*) con la displasia broncopulmonar del recién nacido de bajo peso es indiscutible. *Ureaplasma* spp induce lesiones en el pulmón y el cerebro pretérmino mediadas por la respuesta inflamatoria de la placenta en las que, el momento, la duración y la intensidad de la misma son los principales determinantes del tipo de desenlace. La exposición prolongada del feto a las citoquinas inflamatorias inhibe el desarrollo alveolar, contribuyendo a la septación anormal del pulmón pretérmino y a la fibrosis pulmonar. Es controvertida la asociación de *Ureaplasma* spp y la meningitis neonatal.

Tanto *M. hominis* como *Ureaplasma* spp pueden causar infecciones sistémicas como bacteriemia postaborto y posparto en la madre y endometritis posparto.

El diagnóstico de *Ureaplasma* spp es por cultivo. Los medios para su aislamiento, generalmente el agar A8, contiene urea, cuya hidrólisis permite la identificación de las colonias. Estas son visibles luego de 2-3 días de incubación. Los cultivos también se realizan en forma cuantitativa al igual que *M. hominis*. La detección genómica es útil para la investigación de *Ureaplasma* spp en líquido amniótico. Tanto la PCR como la PCR en tiempo real dirigidas a regiones del gen 16S-rARN o regiones de gen de la ureasa o el que codifica el antígeno MBA.

7. *Mycoplasma fermentans* y artritis reumatoidea

Mycoplasma fermentans se asocia a enfermedad grave, tanto en individuos inmunocompetentes como en pacientes con SIDA. La enfermedad es generalizada y provoca lesiones en hígado, cerebro, bazo,

ganglios linfáticos y timo. Una de las complicaciones de las enfermedades causadas por micoplasmas es la artritis, con desarrollo de la bacteria en la articulación afectada. Además de este mecanismo de enfermedad se demostró la intervención de fenómenos de autoinmunidad en la patogénesis de la enfermedad articular. Recientemente se ha reportado el aislamiento de *M. fermentans* de articulaciones de pacientes con artritis reumatoidea, sin que exista un foco primario de infección por micoplasmas. Se ha postulado que la bacteria jugaría un rol principal en esta patología y que algunos componentes de la bacteria se comportarían como superantígenos. Esta hipótesis de relación causa-efecto aún no está completamente comprobada, pero la información de que se dispone definitivamente demuestra una asociación entre *M. fermentans* y artritis reumatoidea.

Bibliografía consultada

Baum SG. *Mycoplasma pneumoniae* and atypical pneumonia. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Churchill Livingstone; 2009: capítulo 184.

Fiori PL, Diaz N, Cocco AR, Rappelli P, Dessì D. Association of *Trichomonas vaginalis* with its symbiont *Mycoplasma hominis* synergistically upregulates the in vitro proinflammatory response of human monocytes. Sex Transm Infect. 2013 89:449-54. doi: 10.1136/sextrans-2012-051006.

Viscardi RM. *Ureaplasma* species: role in diseases of prematurity. Clin Perinatol. 2010 37:393–409.

Waites KB, Talkington DF. *Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen. Clin Microbiol Rev. 2004 17:697–728.

Weinstein SA, Stiles BG. A review of the epidemiology, diagnosis and evidence-based management of *Mycoplasma genitalium*. Sex Health. 2011;8:143–58.

Zhang N, Wang R, Li X, Liu X, Tang Z, Liu Y. Are *Ureaplasma* spp. a cause of nongonococcal urethritis? A systematic review and meta-analysis. PLoS One. 2014 9(12):e113771. doi: 10.1371/journal.pone.0113771.

Tabla 1. Especies de los Géneros *Mycoplasma* y *Ureaplasma* presentes en el hombre

Genero/especie	Sitio de Colonización		Patogenicidad
	Orofaringe	Tracto Genitourinario	
<i>Mycoplasma salivarium</i>	+	-	-
<i>M. amphoriforme</i>	+	-	-
<i>M. orale</i>	+	-	-
<i>M. buccale</i>	+	-	-
<i>M. faucim</i>	+	-	-
<i>M. lipophilum</i>	+	-	-
<i>M. pneumoniae</i>	+	-	+
<i>M. hominis</i>	+	+	-/+
<i>M. genitalium</i>	γ ^a	+	+
<i>M. fermentans</i>	+	+	+
<i>M. primatum</i>	-	+	-
<i>M. spermatophilum</i>	-	+	-
<i>M. pirum</i>	γ ^b	γ ^b	?
<i>M. penetrans</i>	-	+	γ ^c
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	-	+	-/+
<i>U. parvum</i>	-	+	-/+

a Se aísla pero se desconoce su rol en tal sitio anatómico. b Se detecta por PCR en orina de pacientes VIH positivos. c Desconocido

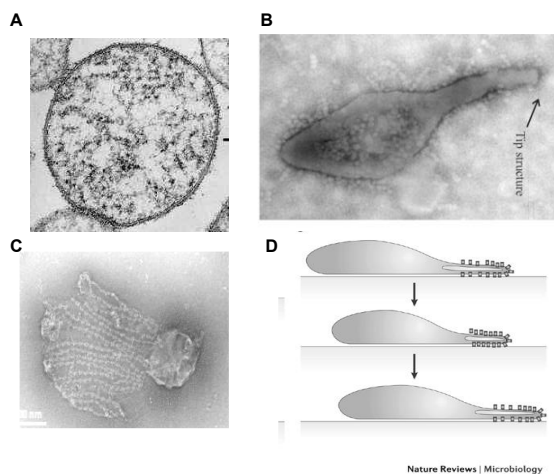


Figura 1. A Morfología redondeada. B Morfología en forma de huso. C. Ciroesqueleto. D. Motilidad.



Figura 2. Micoplasma colonizando el epitelio ciliado. M: micoplasma. C: cilias. m: microvellicidades.



Figura 3 Colonias de *Mycoplasma pneumoniae* en agar SP4

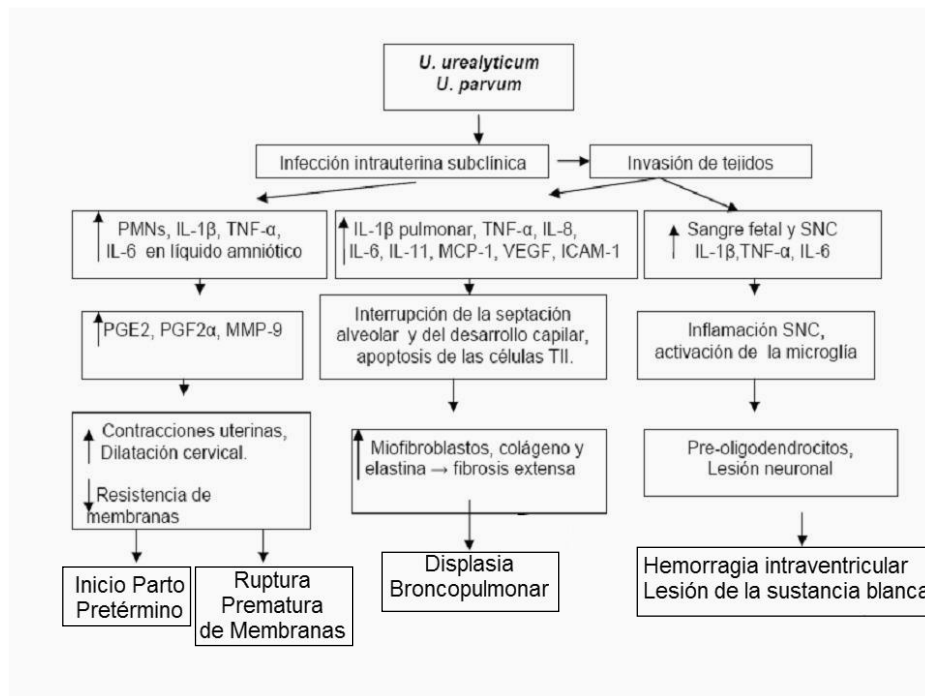


Figura 4. Cascada inflamatoria inducida por la infección intrauterina por *Ureaplasma* spp. MCP-1: Proteína-1 para la quimiotaxis de monocitos; VEGF: Factor de crecimiento del endotelio vascular; ICAM-1: Molécula-1 de adhesión intercelular; MMP: metaloproteínas de la matriz; células TII: células alveolares tipo II. Modificado de Viscardi, 2010.

Tabla 2. Resumen de las Patologías causadas por *Mycoplasma* y *Ureaplasma*

Bacteria	Enfermedad que causa más frecuentemente
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Neumonía atípica primaria Faringitis Bronquitis
<i>Mycoplasma hominis</i>	Vaginosis Bacteriana Enfermedad inflamatoria pélvica Fiebre puerperal
<i>Ureaplasma urealyticum</i> y <i>Ureaplasma parvum</i>	Uretritis no-gonocócica Corioamnionitis Infecciones urinarias Cálculos urinarios
<i>Mycoplasma genitalium</i>	Uretritis y cervicitis no-gonocócica Enfermedad inflamatoria
<i>Mycoplasma fermentans</i>	Asociado a artritis reumatoidea

Bordetella pertussis

1. Género *Bordetella*

Comprende 9 especies de las cuales *B. pertussis* es la de mayor importancia clínica. Esta especie causa la enfermedad conocida como coqueluche, tos convulsa, tos ferina o pertussis. Otras tres especies de este género, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica* y *B. holmesii* causan el síndrome denominado coqueluchoide similar al originado por *B. pertussis* pero con manifestaciones clínicas más leves.

1.1 *Bordetella pertussis*

Es una bacteria aerobia estricta, inmóvil, que oxida aminoácidos pero que no fermenta hidratos de carbono. Morfológicamente es un cocobacilo gram-negativo.

1.2 Factores de virulencia y su regulación

Tal como muestra la Figura 1, *B. pertussis* posee varios factores relacionados con la adherencia, principalmente la hemaglutinina filamentosa A (HAF), la pertactina y las fimbria Fim2 y Fim3. Una parte de HAF se libera al entorno extracelular. La bacteria elabora varias toxinas. La toxina pertussis (PT) es un complejo de 5 subunidades con la estructura AB. La parte A de la toxina es la que posee la actividad citotóxica la cual está en la subunidad S1. La parte B es la que reconoce receptores en las células del huésped y está conformada por las subunidades S2, S3, 2 subunidades S4 y la S5. Principalmente PT actúa como exotoxinas, pero una parte del complejo queda sobre la superficie celular y actúa como adhesina. Otra exotoxina es la adenilato ciclasa (TAC) que es bifuncional. La toxina dermonecrótica (DNT) no es liberada al medio sino que permanece en el citoplasma bacteriano. Una cuarta toxina es la citotoxina traqueal (CTT) que está compuesta por fragmentos del peptidoglicano. Dentro de los factores de virulencia se encuentran las proteínas inyectadas directamente en la célula huésped por un sistema de secreción tipo III que en su conjunto se denominan “proteínas

efectoras” con un rol directo en la evasión de la respuesta inmune innata y adaptativa. En su membrana externa la bacteria posee lipooligosacáridos (LOS). *Bordetella pertussis* puede expresar una cápsula pero su papel en la patogenia de la enfermedad es nula o incierta. Al igual que otros patógenos posee sistemas de captación de hierro que le permiten sobrevivir en el huésped entre los cuales encontramos sideróforos y un sistema de captura de grupo Hemo. *Bordetella pertussis* excreta el exopolisacárido β -1,6-N-acetilglucosamina (PNAG).

Uno de los sistemas de regulación de expresión de genes que la bacteria posee es el de dos componentes sensor/activador denominado BvgAS (Bordetella virulence gene activador / sensor). BvgAS es el regulador transcripcional de los genes de virulencia, BvgA es un sensor presente en la membrana externa. Este sistema regula la expresión de las adhesinas y de las toxinas con la obvia excepción de CTT. La regulación que obedece a cambios en el entorno da lugar al fenómeno denominado “modulación de fases” originando 3 estadios fenotípicos: i) La fase virulenta o Bvg⁺, ii) la fase avirulenta o Bvg⁻ y iii) la fase intermedia o Bvgⁱ, etapa de transición entre las fases Bvg⁺ y Bvg⁻. Se postula que durante la transmisión de persona a persona los factores ambientales podrían determinar que *B. pertussis* se encuentre en fase Bvg⁻. En el inicio de colonización del huésped podría prevalecer la fase Bvgⁱ que favorece la adherencia y/o la internalización de la bacteria, mientras que posteriormente estaría presente la fase Bvg⁺ que favorece la expresión de las toxinas que este sistema regula alterando los mecanismos de defensa del huésped.

1.2.1 Acción de las toxinas.

La PT es internalizada por la célula del huésped con sus 5 subunidades y la S1 hidroliza el NAD intracelular con posterior transferencia de un residuo de ADP-ribosa principalmente a las proteínas G_{i/o}. Estas proteínas son las responsables de la inhibición de varias adenilato ciclasas celulares. La ADP-ribosilación de G_{i/o} resulta en una acumulación de AMP cíclico que altera procesos metabólicos y de señalización (Figura 2). El mecanismo G_{i/o} dependiente es responsable de los efectos sistémicos de la toxina tales como incremento de insulina, hipoglucemia, hipersensibilidad a la histamina, de los efectos neurológicos; a nivel de la mucosa respiratoria este mecanismo disminuye las funciones quimiotácticas de los macrófagos. Otro mecanismo de la PT es G_{i/o} independiente y se debe a la interacción de la parte B de la toxina principalmente con los receptores TLR4 induciendo la maduración de las células dendríticas y modulando la respuesta inmune.

La TAC produce aumento del cAMP en la célula huésped luego de ser internalizada y activada mediante la calmodulina y el ión Ca²⁺ intracelular (Figura 2). Como hemolisina induce la entrada de Ca²⁺ a la célula por la formación de poros en la membrana. Ambos mecanismos de esta toxina bifuncional pueden estar asociados.

Como se mencionó la CTT es un monómero del peptidoglicano que se libera durante la remodelación de la pared celular y generalmente las bacterias gram-negativas lo reciclan. *Bordetella pertussis* no realiza efectivamente tal reciclaje por carecer de la enzima requerida. El efecto de CTT sobre las células epiteliales ciliadas se debe a la acumulación de óxido nítrico que causa la citotoxicidad.

La DNT produce la activación constitutiva de GTPasas Rho, con la consiguiente reorganización del citoesqueleto de la célula huésped, entre otros efectos.

1.3 Patogenia

La adquisición es mediante la inhalación de los aerosoles originados por el estornudo o el tosido de una persona infectada. Durante su establecimiento la bacteria se adhiere a las células epiteliales ciliadas tanto

de la nasofaringe como del árbol traqueobronquial mediante sus adhesinas y la colaboración de PT. HAF sería la adhesina más importante mediando también la internalización bacteriana en las células epiteliales. De esta manera la bacteria permanece al resguardo del sistema inmune. La pertactina colaboraría en la adhesión y en la internalización. HAF promueve la adherencia e internalización también en macrófagos mediante su unión a los receptores CR3. En estas células la bacteria puede sobrevivir y multiplicarse. La HAF secretada al entorno actúa como inmunomodulador induciendo la liberación de IL-6 y IL-10 de macrófagos y de células dendríticas y por lo tanto promoviendo la inducción de células Treg. La secreción de la IL-10 en la etapa temprana de la infección también es inducida por la interacción de PT con el TLR4 y HAF y TAC con el receptor CR3 de las células dendríticas. La evasión de la fagocitosis se debe principalmente a la acción de PT y TAC sobre los macrófagos inhibiendo la expresión de quimioquinas que resulta en la disminución del influjo de neutrófilos en las vías aéreas. La TAC posee también acción directa sobre los neutrófilos inhibiendo la fagocitosis y sus mecanismos oxidativos. Es decir que durante el establecimiento la bacteria evade la inmunidad innata induciendo mecanismos anti-inflamatorios y anti-fagocíticos. A lo anterior se suma la actividad anti-complementaria de algunas proteínas de su membrana externa. La alta concentración de CTT que se libera durante el desarrollo bacteriano produce la extrusión de las células ciliadas. Este evento conduce a la acumulación de moco hecho que origina los paroxismos de tos. Existen evidencias que en la destrucción de las células ciliadas también intervienen los LOS y posiblemente DNT. Como complicaciones del coqueluche la bacteria puede llegar al pulmón. En este caso sus LOS también actúa evadiendo la respuesta inmune ya que no son reconocidos por las proteínas surfactantes SP-A y SP-D y por lo tanto previenen la fagocitosis de la bacteria.

Los factores de virulencia y otros antígenos de *B. pertussis* también inducen una respuesta Th1//Th17 que es protectora contra la infección. Esta respuesta protectora causa el reclutamiento y activación de los macrófagos y los neutrófilos. Las bacterias opsonizadas o no opsonizadas son fagocitadas por neutrófilos y macrófagos induciendo su muerte. El IFN- γ secretado en la fase temprana de la infección por las células NK, entre otras, y luego por las células Th1 actúa sobre los linfocitos B estimulándolos a secretar anticuerpos opsonizantes y fijadores de complemento. Los anticuerpos contra ciertos antígenos de *B. pertussis* presentan la capacidad de evitar la adhesión a las células epiteliales mediante el bloqueo de adhesinas, la neutralización de toxinas bacterianas y la opsonofagocitosis. La inmunidad natural contra una infección dura aproximadamente 10-15 años.

Existen evidencias que *B. pertussis* es capaz de formar biopelículas en la nasofaringe contribuyendo a su persistencia, favorecida también por su supervivencia en células epiteliales y macrófagos.

1.4. Manifestaciones Clínicas

La enfermedad se caracteriza por presentar tres períodos secuenciales: catarral, paroxístico y de convalecencia. El período catarral o invasivo se caracteriza por signos y síntomas inespecíficos como coriza, rinorrea, lagrimeo y ocasionalmente fiebre leve o moderada. Su duración es de una a dos semanas. Al final de este período la tos comienza a ser más frecuente y severa. Durante este período *B. pertussis* puede ser aislado a partir de las secreciones nasofaríngeas de los pacientes. El período paroxístico llamado también convulsivo o espasmódico tiene una duración de 1- 6 semanas. Su característica son los numerosos y rápidos estallidos de tos propios de la enfermedad y relacionados con la falta del “clearance” ciliar del moco en las vías respiratorias. El paroxismo puede estar asociado a la expectoración de una secreción mucosa muy adherente. Los pacientes pueden presentar ocasionalmente hipoglucemia. Este período se caracteriza por leucocitosis con marcado predominio

de linfocitos. Durante el mismo ya la bacteria no se aísla de la nasofaringe. En el período convaleciente disminuyen lentamente los paroxismos. Sin complicaciones la duración de la enfermedad es de 6 a 12 semanas y si el diagnóstico es temprano (antes de las 3 semanas luego del contagio), el tratamiento con antimicrobianos mejora el cuadro. De todas maneras son antimicrobianos son administrados para reducir en plazo de la transmisión. La principal complicación es la neumonía que puede ser primaria por *B. pertussis* o secundaria a la sobreinfección por otras especies bacterianas que pueden acceder a las vías aérea inferiores desde la nasofaringe. La neumonía es la primera causa de muerte y ocurre más frecuentemente en niños menores de 1 año. Las convulsiones y las encefalopatías que pueden acompañar a la enfermedad son probablemente debidas a la hipoxia cerebral relacionada a los paroxismos severos. Otras complicaciones incluyen neumotórax, epistaxis, hemorragia subconjuntival, ruptura del diafragma, hernia umbilical e inguinal, prolapso rectal y deshidratación.

1.5 Diagnóstico

El diagnóstico se puede realizar por métodos directos en el aspirado nasofaríngeo comprendiendo el cultivo y técnicas de detección de ADN y también por métodos indirectos por serología. El cultivo requiere medios especiales como Bordet y Gengou suplementado con 10% de sangre de oveja o agar Regan-Lowe modificado y el aislamiento se logra luego de 5-7 días de incubación. La especificidad es del 100% pero su sensibilidad está relacionada al momento de obtención de la muestra durante la enfermedad. El cultivo es negativo generalmente después de las 2 semanas del inicio de la tos. También puede ser negativo en individuos inmunizados o con tratamiento antimicrobianos. La PCR es más sensible que el cultivo dando un resultado positivo hasta 4 semanas después del comienzo de la tos. Los protocolos de PCR incluyen múltiples secuencias blanco que permiten discriminar las especies de *Bordetella*. También existen protocolos para PCR en tiempo real para el diagnóstico. La serología incluye ensayos de aglutinación, ELISA y Western-blot mediante equipos comerciales. Se puede realizar en una sola muestra de sangre y un título alto en el período de 2-8 semanas es indicativos de infección, aunque se recomienda determinar la seroconversión en nuestras obtenidas en la fase aguda y en la convaleciente con 21 días de separación.

1.6 Epidemiología y Prevención

El coqueluche es una enfermedad altamente contagiosa. La tasas de contagio entre los contactos familiares susceptibles es del 90% y en ámbitos escolares entre 50% y 80%. La transmisión es máxima en el período catarral y durante las dos primeras semanas desde del inicio de la tos. El período de transmisibilidad se abrevia a 5 días si se administran macrólidos. La población más susceptible son los niños menores de 5 años, presentando mayor riesgo de contagio, de complicaciones y mortalidad los menores de 6 meses. El coqueluche es una enfermedad de notificación obligatoria (Ley 15465). Se debe considerar que la tos convulsa es una enfermedad endomo-epidémica con brotes cada 3-5 años.

El esquema de vacunación obligatorio en nuestro país se muestra en la Tabla 1. Este esquema considera: a la población más susceptible; la duración de la inmunidad conferida por la vacunación (depende de la formulación de las vacunas, tabla resumen), y la disminución de la transmisión (vacunación de los adolescentes y adultos que pueden transmitir la bacteria a la población más susceptible). La incorporación de la vacunación con dTpa a las mujeres embarazadas a partir de la vigésima semana de gestación al Calendario Nacional de Vacunación a partir de 2013 (Resolución Ministerial 2172/13) es una estrategia para obtener mayor transferencia transplacentaria de anticuerpos logrando el aumento de protección en los niños menores de 6

proteína Gi e inhibe su efecto regulador sobre la adenilato ciclasa de la célula huésped, la que se desinhibe y permite el aumento indiscriminado de la concentración intracelular de AMPc (parte superior). La adenilato ciclasa bacteriana es inactiva en el medio extracelular, pero en el medio intracelular se activa en presencia del catión calcio y calmodulina y promueve el aumento de los niveles de AMPc (parte central del diagrama).

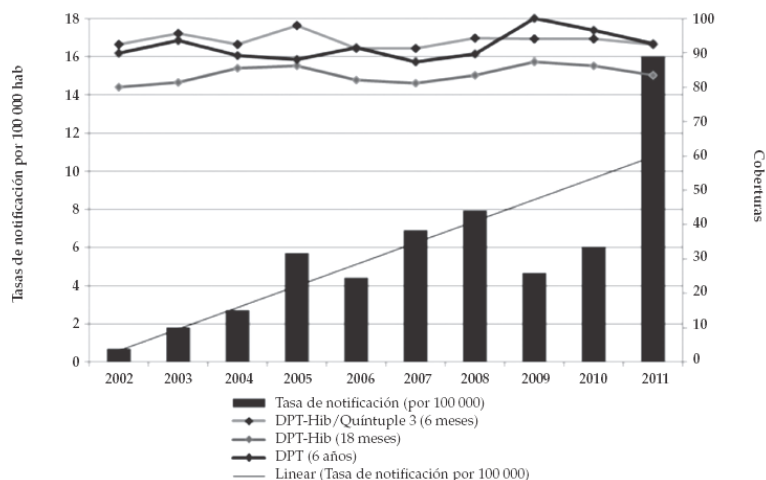


Figura 3. Casos notificados de coqueluche y cobertura de vacunación. Romanina et al, 2014

Tabla 1. Esquema de Vacunación del Calendario Nacional Obligatorio para prevenir el coqueluche

1) A los 2, 4 y 6 meses, vacuna pentavalente o quintuple (DTP + Hib + HB: toxoide diftérico y tetánico purificados, concentrado estéril de <u>células</u> inactivadas de <i>B. pertussis</i> , PRP de <i>H. influenzae</i> b conjugado y antígeno de superficie recombinante del virus de la hepatitis B).
2) Refuerzo a los 18 meses con la vacuna cuádruple (DTP+Hib)
3) Refuerzo a los 6 años con la vacuna triple bacteriana celular (DTP)
4) A los 11 años dosis única de vacuna triple bacteriana <u>acelular</u> (dTpa: toxoide diftérico y tetánico, HAF, PT y pertactina).
5) La vacuna dTpa se administra también durante el embarazo a partir de la semana 20 de gestación; a púrpas que no se hayan vacunado o en el posparto inmediato; al personal de salud que presta cuidado a niños menores de un año y a convivientes de prematuros menores de 1500 gramos.

Tabla resumen: Papel de los diferentes factores de virulencia en la adherencia, evasión de la respuesta inmune y en el daño a las células epiteliales en la patogenia de la tos convulsa. Causas de la re-emergencia de la enfermedad. Vacunación.	
HAF	Adherencia. Internalización en células epiteliales y macrófagos. Inducción de IL-10 en MO y DC.
Pertactina	Adherencia, Internalización en células epiteliales
Fimbrias	Adherencia
PT	Acción local: Adherencia. Inhibición de las funciones quiotácticas de los MO. Inducción de IL-10. Acción sistémica: Inducción de linfocitosis, hiperinsulinemia e hipoglucemia. Aumenta la sensibilidad a la histamina.
PNGA	Formación de biopelículas
TAC	Suprime la actividad bactericida de los MO y los neutrófilos. Apoptosis de los MO. Induce producción de IL-10 en DC
BrkA	Inhibe el depósito del complejo de ataque lítico de complemento. Puede actuar como adhesina.
Proteínas Efectoras	Evasión de la respuesta inmune. Algunas poseen citotoxicidad sobre células epiteliales.
LOS	Inducción de óxido nítrico que conduce al daño de las células epiteliales. Evasión de la fagocitosis por impedir el reconocimiento por SP-A y SP-D.
CTT	Inducción de óxido nítrico que conduce al daño de las células epiteliales.
DNT	Posible daño en las células epiteliales. Evidencias sobre su acción en la supervivencia intracelular de la bacteria.
¿Por qué aumenta el coqueluche en el mundo?	Aumento de la sensibilidad de los métodos diagnósticos. Optimización de los sistemas de notificación y vigilancia. Disminución de la inmunidad natural en el tiempo. Duración de la protección conferida por las vacunas: vacuna celular comienza a declinar luego de 3 a 5 años, con ausencia de protección demostrable luego de 10 a 12 años; vacuna acelular aparentemente declina luego de 4 a 5 años. Diversidad alélica en los antígenos de la población bacteriana. Adaptación bacteriana a la inmunidad conferida por la vacunación.
¿Por qué esquema mixto de vacunación?	La vacuna celular induce una respuesta Th1/Th17 protectora en donde interviene también los LOS y otros PAMPS. Pero es más reactogénica especialmente en adultos. La vacuna acelular induce principalmente respuesta Th2 en la cual los anticuerpos IgE e IgG neutralizan a las toxinas y evitan la adherencia de la bacteria al tracto respiratorio. Una pequeña respuesta Th17 se logra mediante los adyuvantes. La vacuna acelular es menos reactogénica por eso se utiliza en adolescentes y en adultos.
Importancia de la vacunación	Principalmente disminuye la mortalidad característica del grupo etario más susceptible a la enfermedad.

HAF: Hemaglutinina filamentosa, PT; Toxina pertussis, TAC: Adenilato ciclase, LOS: Lipooligosacáridos, BrkA: Proteína de membrana externa, Proteínas efectoras: Las liberadas por sistema de secreción tipo III, CTT; Citotoxina traqueal, DNT: toxina dermonecrótica, MO: macrófago, DC; células dendríticas. PNGA: exopolisacárido: PAMPS: Patrones moleculares asociados a patógenos.