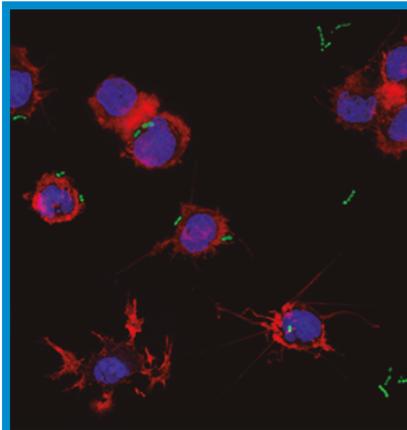


SEM@foro

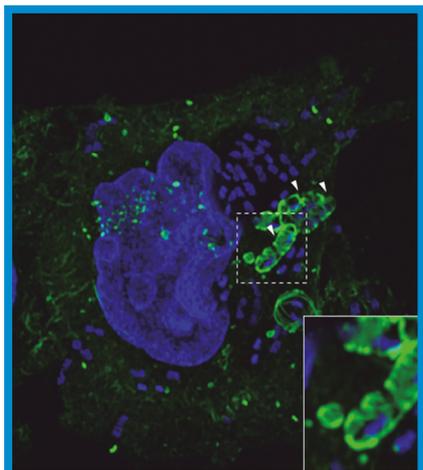
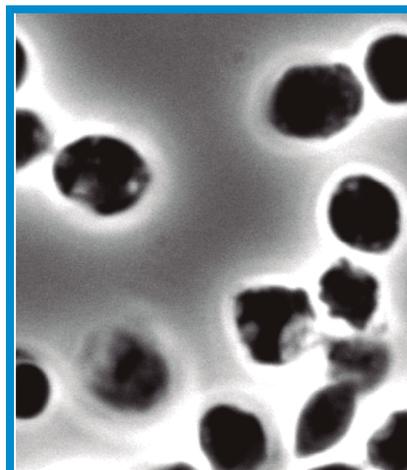
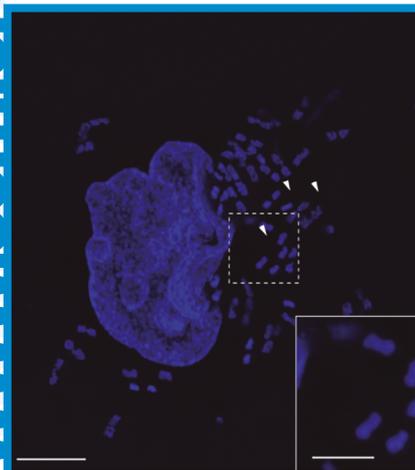
Revista de la Sociedad Española de Microbiología

DICIEMBRE 2020

N.º 70



Biología de los microorganismos patógenos



Secuenciación de genomas de SARS-CoV-2

Junta Directiva de la SEM

SEM@FORO

NUM. 70 | DICIEMBRE 2020

Presidente

Antonio Ventosa Uclero

Dpto. Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia.
Universidad de Sevilla.
C/ Prof. García González, 2. 41012 Sevilla.
ventosa@us.es

Vice-Presidente

Rafael Giraldo Suárez

Laboratorio de Amiloides Bacterianos Sintéticos
Departamento de Biotecnología Microbiana
Centro Nacional de Biotecnología. CNB-CSIC
C/ Darwin nº 3, 28049 Madrid
rgiraldo@cnb.csic.es

Secretario

Juan Alfonso Ayala Serrano

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid.
jayala@cbm.csic.es

Secretaría Electa

Alicia Prieto Orzanco

Centro de Investigaciones Biológicas
CSIC. C/Ramiro de Maeztu, 9. 28040 Madrid

Tesorero

Víctor Jiménez Cid

Dpto. Microbiología II. Facultad de Farmacia.
Universidad Complutense de Madrid. 28040 Madrid.
vicjim@uclm.es

Editores de publicaciones

International Microbiology

José Berenguer

Centro de Biología Molecular Severo Ochoa.
Departamento de Biología Molecular.
CSIC-Universidad Autónoma de Madrid.
C/ Nicolás Cabrera, 1. 28043 Madrid.
jberenguer@cbm.uam.es

SEM@foro

Manuel Sánchez Angulo

Departamento de Producción Vegetal y Microbiología.
Universidad Miguel Hernández.
03202 Elche (Alicante).
m.sanchez@umh.es

NoticiaSEM

Inmaculada Llamas Company

Departamento de Microbiología.
Facultad de Farmacia. Universidad de Granada.
Campus de Cartuja. 18071 Granada.
illamas@ugr.es

Directora de la Colección Española de Cultivos Tipo

Rosa Aznar Novella

Dpto. Microbiología y Ecología.
Facultad de Ciencias Biológicas. Univ. de Valencia.
C/ Dr. Moliner 50. 46100 Burjassot (València).
rosa.aznar@uv.es

Responsable Cursos de Formación Continua on-line

Diego A. Moreno

Universidad de Castilla La-Mancha
Facultad de Farmacia
Avda. Dr. José María Sánchez Ibáñez, s/n. 02008 Albacete
Diego.Moreno@uclm.es

Vocales

M^a José Figueras Salvat

Unitat de Biologia i Microbiologia. Facultat de Medicina i
Ciències de la Salut. Universitat Rovira i Virgili.
C/ Sant Llorenç, 21. E-43201 Reus (Tarragona).
mariajose.figueras@urv.cat

Inés Arana Basabe

Dpto. de Inmunología, Microbiología y Parasitología.
Facultad de Ciencias y Tecnología.
Universidad del País Vasco (UPV/EHU).
C/ Barrio Sarriena s/n. E-48940 Leioa (Bizkaia).
ines.arana@ehu.es

Montserrat Llagostera Casas

Dpto. de Genètica i Microbiologia. Universitat Autònoma
de Barcelona. Cerdanyola del Vallès. 08193 Barcelona.
montserrat.llagostera@uab.cat

Ignacio Belda Aguilar

Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología
(Unidad de Microbiología)
Facultad de Biología
Universidad Complutense de Madrid
C/ José Antonio Novais 12, 28040-Madrid
ignaciobelda@ucm.es

Presidentes de Grupos

Biodeterioro, Biodegradación y Biorremediación

Ana M. García Ruiz

Universidad Politécnica de Madrid.
Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales.
C/ José Gutiérrez Abascal, 2 - 28006 Madrid.
ana.garcia.ruiz@upm.es

Hongos Filamentosos y Levaduras (Micología)

M^a Angeles de la Torre Ruiz

Departamento Ciencias Médicas Básicas.
Facultad de Medicina
Institut de Recerca Biomèdica (IRBLLeida). Biomedicina 1.
Universidad de Lleida
Alcalde Rovira Roure nº80
25198-Lleida
mariaangeles.delatorre@udl.cat

Biología de Microorganismos Patógenos

Oscar Zaragoza

Centro Nacional de Microbiología. Servicio Micología.
Ctra. Majadahonda-Pozuelo, km. 2.
28220 Majadahonda-Madrid.
E-mail: ozaragoza@isciii.es

Microbiología Industrial y Biotecnología Microbiana

José Antonio Gil Santos

Dpto. Biología Molecular. Facultad Biología.
Universidad de León. 24004 León.
jose.a.gil@unileon.es

Microbiología de los Alimentos

Gonzalo García de Fernando Minguillón

Dpto. Nutrición, Bromatología y Tecnología
de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, UCM.
Avda. Puerta de Hierro s/n. 28040 Madrid.
e-mail: mingui@vet.ucm.es

Microbiología Molecular

Adela González de la Campa

CSIC-ISCIII, Centro Nacional de Microbiología.
Cta. Pozuelo km. 2. 28220 Majadahonda (Madrid)
agcampa@isciii.es

Microbiología del Medio Acuático

Alicia Estévez Toranzo

Departamento de Microbiología.
Facultad de Biología / CIBUS.
Universidad de Santiago de Compostela.
Campus Universitario Sur, s/n.
15782 Santiago de Compostela - (A Coruña).
alicia.estevez.toranzo@usc.es

Microbiología de Plantas

Emilia López Solanilla

Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP).
Dpto Biotecnología-Biología Vegetal. ETSIAAB.
Campus Montegancedo
Universidad Politécnica de Madrid
28223 Pozuelo de Alarcón
emilia.lopez@upm.es

Protistología

Ana Martín González

Dpto. Microbiología III. Facultad de Biología.
Universidad Complutense.
C/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid.
anamarti@bio.ucm.es

Taxonomía, Filogenia y Diversidad

Jesús López Romalde

Dpto. Microbiología y Parasitología.
Facultad de Farmacia, Univ. de Santiago de Compostela.
15706 Santiago de Compostela (A Coruña).
jesus.romalde@usc.es

Docencia y Difusión de la Microbiología

Ignacio López Goñi

Departamento de Microbiología y Parasitología
Universidad de Navarra
Campus universitario – 31080 – Pamplona - España
ilgoni@unav.es

SEM@foro es una publicación semestral de la **Sociedad Española de Microbiología (SEM)**

Director: **Manuel Sánchez Angulo**. E-mail: **m.sanchez@umh.es**.

Co-editor de la Sección de Biología de los Microorganismos Patógenos: **Óscar Zaragoza Hernández**

Webmaster de la SEM: **Jordi Urmeneta Masó**. E-mail: **jurmeneta@ub.edu**. Departamento de Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de Barcelona. Avda. Diagonal, 645. E-08028 Barcelona.

La SEM y el Director no comparten necesariamente las opiniones que puedan aparecer en artículos, informaciones o cartas enviados por los socios, ni se responsabilizan de su veracidad.

ISSN: 2254-4399

Depósito Legal: M-12838-2013

Maquetación e Impresión: **Diseño y Control Gráfico, S.L.** Tel.: 91 731 05 13.

E-mail: **info.dcg@design2aa.com** • **www.design-2aa.com**

www.semicobiologia.org/sec/SEM@FORO

SUMARIO

SEM@FORO

NUM. 70 | DICIEMBRE 2020



Collage realizado a partir de las imágenes de los diferentes artículos proporcionadas por los miembros del Grupo de Biología de los Microorganismos Patógenos

Visite la página web de la SEM:
www.sem microbiologia.org
Encontrará información actualizada sobre congresos, reuniones, cursos y becas

Socios protectores de la SEM:

Francisco Soria Melguizo, S.A.



Fundación Medina



Para solicitar más información, inscripciones o publicidad, diríjase a la Secretaría de la

Sociedad Española de Microbiología

CIB-CSIC

c/ Ramiro de Maeztu, 9

28040-Madrid

Tel.: 686716508

secretaria.sem@sem microbiologia.org

NOTA DEL PRESIDENTE

Antonio Ventosa 2

NUESTROS GRUPOS

Informes de los grupos especializados 4

ARTÍCULOS

Enfermedades infecciosas en nuestra sociedad: ¿la batalla más antigua del mundo? Presente y retos futuros 8
Secuenciación de genomas de SARS-CoV-2: herramienta clave en esta pandemia 15
Microbiología y cómic: un tándem perfecto 18

LIBROS

Preparados para la próxima pandemia. Reflexiones desde la ciencia. 22
Rosalind Franklin. El secreto de la vida. 23
¿Estamos solos? En busca de otras vidas en el cosmos. 24

ESPECIAL GRUPO BIOLOGÍA DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS

- Grupo especializado en la biología de microorganismos patógenos de la Sociedad Española de Microbiología 25
- Respuesta celular inmune contra *Shigella flexneri* 27
- Grupo de inmunología de las infecciones fúngicas 30
- Bases moleculares de la acción de antimicrobianos en estreptococos 33
- Grupo de Microbiología Molecular y Agentes antimicrobianos 35
- Nuevos miembros en la vieja familia de proteínas fijadoras de penicilina 37
- Desentrañando el viroma global: ¿qué sabemos de los virus de aves silvestres? 39
- Estudio de la importancia de los mecanismos Redox en patógenos intracelulares 42
- Mecanismos de adaptación de levaduras patógenas al huésped y desarrollo de nuevas terapias antifúngicas 44
- Señalización en *Candida albicans* y mecanismos de adaptación al estado comensal 48
- Vigilancia epidemiológica de la enfermedad neumocócica invasiva y factores asociados a patogenicidad 50

ENTREVISTA JISEM

Luis Enjuanes y Adolfo García Sastre. Consejos para jóvenes microbiólogos 52

NUESTRA CIENCIA

..... 55

TESIS

Resúmenes de tesis doctorales 60

Nota del Presidente

Antonio Ventosa

Presidente de la SEM



Cuando comenzó este año 2020 no imaginábamos cómo iban a cambiar nuestras vidas, nuestras costumbres y formas de relacionarnos con nuestra familia, seres queridos o amigos, así como nuestra actividad profesional. Ha tenido que ser precisamente un coronavirus el causante de esta situación actual de pandemia, que estamos padeciendo desde el inicio de este año y que, presumiblemente, todavía persistirá durante un tiempo, que confiemos no sea muy prolongado. El desarrollo de nuevas vacunas, en un tiempo record que ni siquiera los más optimistas habrían avalado y que justifica la labor desarrollada por muchos grupos de investigación y empresas farmacéuticas, así como un mejor conocimiento de la biología del coronavirus SARS-CoV-2 y de la enfermedad causada por el mismo, COVID-19, permiten que seamos optimistas frente al futuro y que en un tiempo, lo más reducido posible, pueda revertir la situación hacia una nueva realidad, en la que tendremos que aprender a convivir con el nuevo coronavirus. Será necesario que sigamos adoptando las medidas sanitarias pertinentes para evitar, o al menos disminuir, los efectos de nuevas olas de contagios que padeceremos en los próximos meses. En estas fechas tan significativas quisiera transmitir mis deseos de que todos vosotros y vuestras familias se encuentren bien y con la confianza de que pronto podamos volvernos a reunir y reemprender nuestra actividad cotidiana y profesional.

En 1946, un grupo de algo más de cien microbiólogos aunó sus esfuerzos para promover la creación de una sociedad científica, inicialmente designada como Sociedad de Microbiólogos Españoles, formalizada mediante la firma del acta de constitución en la sede del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) de la calle de Serrano de Madrid, que posteriormente, en 1969,

derivaría en la actual Sociedad Española de Microbiología (SEM). Por ello, en 2021 se conmemora el 75 Aniversario de la fundación de nuestra sociedad. Con tal motivo, tenemos prevista la celebración de una serie de actos conmemorativos que, debido al estado de pandemia se extenderán durante el siguiente año, ya que algunas de las actividades previstas se han debido postponer a 2022. Tal es el caso de un Simposio, organizado bajo el patrocinio de la Fundación Ramón Areces, que hemos reprogramado para abril de 2022. Un acto central y especialmente relevante en nuestras celebraciones será una exposición que tendrá lugar en el Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid, entre los meses de septiembre a diciembre de 2021, en la que venimos trabajando en los últimos meses, cuya comisaria será nuestra compañera Asunción de los Ríos. Dicha exposición tendrá una continuidad en 2022, con celebraciones a lo largo de dicho año de exposiciones itinerantes en diversas ciudades españolas y la posibilidad de organizar otras actividades divulgativas, tanto en universidades como en otras instituciones de investigación, acerca del importante papel que juegan los microorganismos en nuestro planeta, para las que estamos totalmente abiertos a las iniciativas de nuestros socios. Asociadas a este evento tendrán lugar otra serie de actividades complementarias, como un ciclo de conferencias y mesas redondas sobre temas de Microbiología, actividades y talleres para niños, actividades culinarias, etc...

Otras actividades previstas son, de una parte, la publicación de un libro, editado por nuestro compañero Alfonso V. Carrascosa, sobre la Historia de la Microbiología Española, volumen II, que será patrocinado por la Fundación Ramón Areces, y que complementará el primer volumen, editado por Alfonso V. Carrascosa y María José Bágena ya publica-

do en 2019 por la Fundación Ramón Areces, que tan buena acogida y disposición tiene siempre hacia nuestras iniciativas. Y por otra, la publicación del libro *Relatos Microscópicos II*, promovido por el grupo de D+D de la SEM, tras la convocatoria y reciente resolución del II concurso científico-literario de narración corta. También está prevista la publicación de un libro divulgativo-catálogo de la exposición que será sufragado por el CSIC.

Por otro lado, me gustaría anunciar que con motivo del 75 Aniversario de la SEM, nuestra sociedad también realizará profundos cambios en cuanto a la nueva imagen de ésta, a través de una nueva página web y de un nuevo logotipo, que esperamos tengan buena acogida por nuestros socios. También pretendemos tener una mayor presencia a través de las redes sociales, que constituyen las vías de comunicación especialmente de los más jóvenes y una excelente vía de divulgación con la sociedad en general, como ha quedado patente durante este período de pandemia.

A pesar de que nuestra previsión era que el próximo Congreso Nacional hubiera sido un acto central para conmemorar presencialmente los 75 años de la creación de nuestra sociedad, desgraciadamente ha tenido que ser precisamente un pequeño virus el que condicione la celebración de dicho congreso, previsto inicialmente en la Universidad de Burgos. Tras los debates mantenidos en los últimos meses por parte de los miembros de la Junta Directiva de la SEM, en una reciente reunión hemos decidido que el XXVIII Congreso Nacional de Microbiología de la SEM se celebrará de forma virtual, durante la primera semana de julio de 2021. Ha sido una decisión difícil y muy debatida, pero las actuales circunstancias, la incertidumbre que existe y que posiblemente se extenderá durante los próximos meses e incluso la

necesidad de dar ejemplo a la ciudadanía en cuanto al cumplimiento de unas normas sanitarias estrictas, han pesado mucho en la toma de esta decisión, que supondrá que por primera vez un congreso nacional de nuestra sociedad se celebre de forma virtual. En cualquier caso, nuestra intención es que dicho congreso constituya una experiencia única, de un altísimo nivel científico y máximo interés para la comunidad de investigadores microbiólogos. Estamos trabajando en la elaboración de un programa atractivo, contando con expertos de carácter nacional e internacional en áreas de interés general y transversal. En este sentido, quisiera de nuevo aprovechar la oportunidad para solicitar a todos los socios su colaboración, aportando ideas y haciéndonos llegar sus sugerencias en cuanto a temáticas y ponentes, así como de otras actividades que pudieran incluirse en el programa de nuestro próximo congreso. Los grupos especializados tendrán, asimismo, un papel fundamental en la organización del congreso, a través de sus presidentes, que forman parte del comité organizador y a los cuales los miembros de cada grupo también

instamos a que les hagan llegar sus sugerencias. Además de simposios y mesas redondas, está prevista la organización de sesiones de comunicaciones orales, en las que de forma particular animamos a la participación a los microbiólogos jóvenes, que incluirán una diversidad de temáticas de actualidad relacionadas con los diferentes grupos especializados de la SEM, así como sesiones de comunicaciones en formato e-póster con una breve exposición grabada del trabajo realizado y la posibilidad de la posterior discusión de los trabajos presentados.

Este número de SEM@foro que ahora llega a vuestras manos está dedicado al grupo especializado de Biología de Microorganismos Patógenos. Es de agradecer que este grupo haya podido recuperar savia nueva, tras un periodo de algunos años de escasa actividad, gracias a los esfuerzos que ha venido realizando la nueva Junta Directiva del grupo y muy especialmente a su Presidente, Óscar Zaragoza, a los que agradezco personalmente la tarea que vienen realizando al frente del grupo, así como la excelente

respuesta que han mostrado los grupos de investigación que forman parte de este grupo especializado. La reciente iniciativa del grupo organizando el ciclo de conferencias en formato virtual "Patógenos on-line" fue muy exitosa y demostró la capacidad y posibilidades que ofrecen las tecnologías telemáticas para comunicarnos y transmitir conocimiento a través de las plataformas virtuales.

También encontraréis otros interesantes artículos, como el dedicado a la influencia de las enfermedades infecciosas en la sociedad o sobre la secuenciación de genomas del SARS-CoV-2, además de las ya clásicas secciones y otras noticias de interés. Espero que este nuevo número de SEM@foro sea de interés para todos los lectores y que consideren que, como indica el nombre de nuestra publicación, esta publicación es un foro participativo y abierto a todos los microbiólogos, dentro de nuestro espacio común que constituye la SEM.

Antonio Ventosa
Presidente de la Sociedad Española
de Microbiología

El Congreso Nacional de Microbiología de 2021 será en formato virtual

Tras un extenso debate realizado durante los últimos meses, en la reciente reunión de la Junta Directiva celebrada el pasado viernes 27 de noviembre se decidió que el XXVIII Congreso Nacional de Microbiología de la SEM, previsto para su celebración en la Universidad de Burgos en formato presencial, tendrá lugar en formato virtual durante los días 28 de junio a 2 de julio de 2021. No ha sido una decisión fácil, especialmente porque, coincidiendo con el año de la conmemoración del 75 aniversario de la SEM, esperábamos que este congreso hubiera sido muy significativo y asociado a actividades relacionadas con la conmemoración de la fundación de nuestra sociedad. Sin embargo, la actual situación de incertidumbre, la prudencia en cuanto al desarrollo de la pandemia ocasionada por el coronavirus durante los próximos meses y la necesidad de adoptar una decisión que permita la organización de dicho evento con la suficiente antelación, ha llevado a tomar esta decisión.

No obstante, debemos saber aprovechar la ocasión para celebrar un excelente congreso nacional, utilizando las posibilidades que ofrecen las plataformas telemáticas, reduciendo costes de desplazamiento y alojamiento y ofreciendo la posibilidad de contar con conferenciantes expertos del más alto nivel tanto nacionales como internacionales. La organización del congreso correrá a cargo de la Junta Directiva de la SEM, si bien con la finalidad de darle un carácter multidisciplinar y de interés general entre la comunidad científica de microbiólogos, hacemos un llamamiento a todos los socios para que nos hagan llegar sus sugerencias y comentarios, acerca de posibles temáticas, ponentes y actividades complementarias, para conseguir que este próximo congreso virtual sea participativo y del máximo nivel científico posible.

Antonio Ventosa
Presidente de la SEM

MICROBIOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



Gonzalo García de Fernando Minguillón
Presidente del Grupo

El XXII Congreso de Microbiología de los Alimentos que se iba a celebrar en Jaén en el pasado septiembre hubo de posponerse por las razones sanitarias que todos en mayor o menor medida padecemos. Lo celebraremos en 2022, por supuesto en la misma ciudad, bajo la dirección de Magdalena Martínez Cañamero y su equipo. Considerando que ya tenían organizado prácticamente todo el Congreso y las ganas que tenemos de vernos, saludarnos e intercambiar experiencias toda la “familia microbiológica alimentaria” se augura un rotundo éxito que quedará grabado en nuestras memorias. ¡Nos veremos en Jaén!

En el Congreso se deberían haber entregado los siguientes premios:

- Premio Especial del Grupo de Microbiología de los Alimentos 2020 para investigadores jóvenes del Grupo de Microbiología de los Alimentos de la SEM: Joaquín Bautista Gallego (Universidad de Extremadura).
- Premio a la Mejor Tesis Doctoral 2018 en Microbiología de los Alimentos: Alberto Garre Pérez por su Tesis Doctoral titulada “Mathematical modelling for the microbiological risk assessment of food following mild preservation treatments” (Universidad Politécnica de Cartagena).
- Premio a la Mejor Tesis Doctoral 2019 en Microbiología de los Alimentos: Narciso Martín Quijada por su Tesis Doctoral titulada “Bioinformatic investigation of microbiota and antibiotic resistance occurrence from farm to humans by using high-throughput DNA sequencing approaches” (Universidad de Burgos).

Enhorabuena a todos los agradecidos. Quedan emplazados para el próximo Congreso.

Se ha renovado parte de la Junta Directiva. Tras ocho años siendo responsable de la Tesorería, nuestra compañera Rosa del Campo ha tenido que dejar el cargo en manos de su sucesor, José M. Guillaumon. Gracias, Rosa, por todo tu trabajo y tu espíritu, tan eficaz como colaborador, y bienvenido José Manuel. Además, Albert Bordons e Ignacio Álvarez han renovado sus vocalías. Asimismo, Gonzalo García de Fernando tiene el honor de continuar en la presidencia del Grupo durante otros cuatro años. Gracias a todos los asociados por la confianza depositada en la Junta Directiva.

Tras la Asamblea General del grupo celebrada el pasado 22 de septiembre, Juan Miguel Rodríguez Gómez (UCM) nos instruyó con su conferencia *on line* titulada “Microbiota y COVID”. La sesión fue moderada por el profesor Juan Evaristo Suárez Fernández (Universidad de Oviedo). Quienes no tuvisteis la oportunidad de asistir, quedáis invitados a disfrutarla en el siguiente enlace: <https://youtu.be/KSXYI7Z4Xs>. No os la perdáis. Merece la pena.

Finalmente, resaltar el empeño en mejorar la página Web tanto de la SEM como la del grupo de Microbiología de los Alimentos; su apariencia cambiará en los próximos meses dándole un aspecto más actual, moderno y dinámico. Se informará a los socios una vez se haya realizado la actualización de la página del Grupo ya que nuestro objetivo es promover vuestra participación como socios en el contenido que se muestre en dicha página mediante el envío de resúmenes de trabajos publicados, tesis doctorales, etc.

MICROBIOLOGÍA DE PLANTAS



Emilia López Solanilla
Presidenta del Grupo

El grupo Microbiología de Plantas tiene prevista la celebración de su IX reunión en 2021. El comité organizador que se encargará de esta reunión lo constituyen los grupos de Rafael Rivilla y Marta Martín de la Universidad Autónoma de Madrid junto a Emilia López Solanilla, José Juan Rodríguez Herva y Pablo Rodríguez Palenzuela de la Universidad Politécnica de Madrid.

Dadas las circunstancias, la reunión será en formato telemático y tendrá lugar durante la tercera semana de febrero en un formato en dos días. Durante el mes de diciembre os informaremos de los detalles y de las fechas concretas.

Será una reunión especial en la que la interacción personal que tanto enriquece la interacción profesional no será igual. Pero es una oportunidad para seguir los avances de los miembros del grupo y no perder la comunicación entre nosotros. Mantendremos el espíritu de que los miembros jóvenes del grupo que están iniciando su carrera tengan la opción de comunicarnos sus avances. Con toda seguridad disfrutaremos de dos jornadas de buena ciencia en el ámbito de la Microbiología de Plantas.

Os animamos a todos aquellos que trabajéis en Microbiología asociada a las Plantas a que os unáis al grupo y nos acompañéis en nuestra próxima reunión.

DOCENCIA Y DIFUSIÓN DE LA MICROBIOLOGÍA



Ignacio López-Goñi
Presidente del Grupo

Ni siquiera un virus pandémico ha sido capaz de parar nuestra actividad. El pasado mes de junio se celebraron las elecciones a

la Junta Directiva del grupo. Se presentaron candidaturas para la renovación de los cargos de Presidente, Secretaria/Tesorera y tres

vocales. La nueva Junta Directiva ha quedado constituida de la siguiente forma:

Cargo	Persona y centro de trabajo
Presidente	Ignacio López-Goñi, Universidad de Navarra
Vicepresidente	Manolo Sánchez, Universidad Miguel Hernández
Secretaria/Tesorera	Dolo Vidal Roig, Universidad de Castilla-La Mancha
Vocales	Victor J Cid, Universidad Complutense de Madrid Malema Martínez, Universidad de Jaén M ^a José Valderrama, Universidad Complutense de Madrid Óscar Zaragoza, Centro Nacional de Microbiología, ISCIII Guillermo Quindós, Universidad del País Vasco Santiago Vega, Universidad CEU Cardenal Herrera Nacho Belda, Universidad Complutense de Madrid
Salientes	Inés Arana, Universidad del País Vasco Kika Colom, Universidad Miguel Hernández Montse Llagostera, Universitat de Barcelona

Que conste nuestro sincero agradecimiento a los miembros salientes por el excelente trabajo que han realizado durante todos estos años, que ha permitido consolidar este grupo especializado.

Durante los meses del confinamiento, varios miembros del grupo, en colaboración también con otros grupos, realizaron una excelente labor de comunicación científica

dando respuesta a preguntas de los medios o particulares a través de la web/mail de la SEM. Se realizó también una iniciativa #laSEMrespondeCovid19 (una colección de vídeos cortos que respondían a preguntas), que fue muy activa en los inicios de la pandemia.

El pasado 15 de octubre tuvimos nuestra Asamblea ZOOMordinaria, en la que se fija-

ron algunos de los proyectos futuros: sobre el grupo de Jóvenes Investigadores de la SEM (JISEM), la necesidad de expertos en áreas de la microbiología para mejorar la relación con los medios de comunicación, los proyectos del libro Relatos microscópicos y del Concurso de fotografía, el proyecto sobre la nueva WEB corporativa de la SEM y la celebración del 75 aniversario de la SEM, el próximo Curso de Iniciación a la Microbiología, entre otros.



HONGOS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS



María Ángeles de la Torre
Presidenta del Grupo

Tras la celebración de las preceptivas elecciones, la nueva Junta Directiva del Grupo queda constituida por María Ángeles de la Torre Ruiz (Universitat de Lleida) como presidenta, Javier Jiménez Jiménez (Universitat Internacional de Catalunya) como secretario/tesorero, y los vocales Eduardo Antonio Espeso Fernández (Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas de Madrid), Teresa Soto Pino (Universidad de Murcia) y Humberto Martín Brieva (Universidad Complutense de Madrid).

María Ángeles de la Torre Ruiz es desde 2004 profesora agregada de Microbiología de la Universidad de Lleida, dentro del programa Serra-Hunter, y dirige el grupo de investigación "Cell Signalling in Yeast", centrado en la Señalización y rutas MAPK que intervienen en los procesos de envejecimiento. En ese contexto trabajan con rutas y proteínas que regulan el metabolismo del hierro y su relación con la autofagia y el envejecimiento celular. Realizó su tesis doctoral en el CIB en microbiología aplicada a la biodegradación de materiales pétreos a cargo de hongos filamentosos, bajo la dirección de Gonzalo Gómez Alarcón. Sus posdocs en España fueron en el mismo centro, en Microbiología Molecular, con Ramón Díaz Orejas, trabajando en un sistema de estabilidad de *Escherichia coli*, y luego en Lleida, con Martí Aldea y Enrique Herrero trabajando en ciclo celular y levaduras. Realizó a continuación

un posdoc de larga duración en el Imperial Cancer Research de Londres con Noel Lowndes (Clare Hall, South Mims) trabajando en checkpoints de daño en DNA con levaduras de gemación, gracias a una beca Marie Curie. Finalmente se reincorporó a la Universidad de Lleida con un contrato del Ministerio y una beca Ramon y Cajal para investigar en estrés oxidativo y mecanismos de señalización celular con la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

José Luis Balcázar Rojas y defendida en la Universitat de Girona. En nombre del jurado y de la Junta Directiva, felicitar a la ganadora y a todos los candidatos por la extraordinaria calidad científica de sus tesis doctorales.

BIODETERIORO, BIODEGRADACIÓN Y BIORREMEDIACIÓN



Ana M. García
Presidenta del Grupo

Durante los últimos meses la Junta Directiva del Grupo BBB se ha estado reuniendo de forma telemática, dadas las circunstancias sanitarias y las restricciones de movilidad que hemos sufrido como consecuencia de la pandemia por COVID-19.

Se ha solicitado a los miembros del Grupo que envíen propuestas para la preparación del próximo Congreso Nacional de la Sociedad Española de Microbiología, en julio de 2021. La JD del Grupo agradece las respuestas recibidas, que han sido transmitidas a la JD de la SEM, y anima a sus miembros a que envíen nuevas propuestas.

El Grupo BBB, promotor de este evento, participará en la tercera edición del International Meeting on New Strategies in Bioremediation Processes (BioRemid2022) que se celebrará en Basilea (Suiza) durante el 2 y 3 de junio, a cargo del Profesor Philippe Corvini. Nuestro Grupo tiene previsto ofrecer una beca para la asistencia al congreso a un estudiante del Grupo BBB de la SEM y, como viene siendo tradición, concederá un premio a la mejor contribución entre las presentadas por jóvenes investigadores.

MICROBIOLOGÍA DEL MEDIO ACUÁTICO



Alicia Estévez Toranzo
Presidenta del Grupo

Debido a las circunstancias provocadas por la Pandemia de la COVID-19, la próxima XIII Reunión científica del Grupo de Microbiología del Medio Acuático tendrá lugar en Granada durante los días 22 y 23 de septiembre de 2022 y será organizada por Inmaculada Llamas, Victoria Béjar, Fernando Martínez-Checa e Inmaculada Sampedro. Los nuevos plazos para la inscripción y envío de resúmenes se pueden encontrar en <https://www.granadacongresos.com/xiiimma>

Se ha fallado el Premio a la mejor Tesis Doctoral realizada durante el bienio 2018/2019 al que se han presentado un total de 7 Tesis. El Premio recayó en Jessica Subirats Medina por su Tesis titulada "Influence of anthropogenic pollution on the prevalence, maintenance and spread of antibiotic resistance in aquatic microbial communities" dirigida por los Dres. Carles Borrego Doré y

TAXONOMÍA, FILOGENIA Y DIVERSIDAD



Jesús López Romalde
Presidente del Grupo

Los pasados días 21 a 23 de octubre se celebró la XVIII Reunión del Grupo Especializado. Debido a la evolución desfavorable de la pandemia COVID-19, y a pesar de intentar hasta el último momento que fuese presencial, se tomó la decisión de celebrarla en modo telemático. La organización corrió a cargo de Margarita Gomila, Elena García-Valdés y Jorge Lalucat, a los que felicitamos por

su magnífica labor que se tradujo en el rotundo éxito de la reunión.

El programa incluyó tres conferencias invitadas impartidas por los Drs. Stephanus Venter de la Universidad de Pretoria (Sudáfrica), Ramón Rosselló-Móra del Instituto Mediterráneo de Estudios Avanzados (IMEDEA; Baleares) y Edward R.B. Moore de la Universidad de

Gotemburgo (Suecia). Además, las 24 comunicaciones orales recibidas de los diferentes grupos de investigación españoles se organizaron en 5 sesiones, todas ellas suscitando gran interés. La conferencia de clausura estuvo a cargo de Víctor González-Menéndez de la Fundación Medina, que recibió el premio a la mejor Tesis Doctoral defendida durante el bienio 2018/19.



Durante la clausura, además del premio a mejor Tesis Doctoral ya mencionado, se entregaron los premios correspondientes al Accésit a mejor Tesis Doctoral, otorgado a la Dra. Noemí Buján Gómez, y los correspondientes a las mejores comunicaciones que recayeron en Guillem Seguí Crespi, de la Universidad de las Islas Baleares, Tomeu

Viver, del IMEDEA, Dasa Strakova, de la Universidad de Sevilla, Francisca Font-Verdera del IMEDEA y Ana López-Moreno de la Universidad de Granada. Agradecer a la Sociedad Americana de Microbiología (ASM) y a la revista *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* el patrocinio de dos de estos premios.

Por último, mencionar que a finales del presente año corresponde la renovación parcial de la Junta Directiva del Grupo Especializado en los cargos de Presidente, Tesorero y Vocales 1º. Se seguirá, como en las últimas ocasiones, el procedimiento de votación "on line". El calendario electoral se anunciará debidamente a través de la página web de la SEM y de Noticias SEM.



Enfermedades infecciosas en nuestra sociedad: ¿la batalla más antigua del mundo? Presente y retos futuros

Óscar Zaragoza Hernández

Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III

La diversidad microbiana (bacterias, parásitos y hongos), ya de por sí enorme se hace gigantesca al incluir los virus que, aunque no son seres vivos sensu estricto incrementan el número de agentes que pueden replicarse a costa de otros organismos.

Todos ellos juegan un papel significativo en procesos biológicos de diversa índole, en consecuencia el contacto humano-microbios es una constante. Posiblemente la continua interacción con microorganismos ha hecho que determinadas características se deban precisamente a la co-evolución hombre-microorganismo (Rook *et al.*, 2017). Por ejemplo, se ha planteado que nuestra temperatura fisiológica (37 °C) ha sido seleccionada a lo largo de la evolución para evitar el crecimiento de hongos microscópicos en nuestro cuerpo (Bergman y Casadevall 2010). Es también conocido el papel que los microorganismos intestinales juegan no solo en la digestión, sino también en la regulación del sistema inmune en el intestino y las mucosas. Las nuevas aproximaciones basadas en la secuenciación masiva están mostrando que muchas funciones de nuestro cuerpo puedan estar determinadas, o al menos fuertemente influenciadas por la microbiota individual.

La interacción con microorganismos, tanto de la microbiota propia como ambiental, tiene también su lado negativo, las enfermedades infecciosas. Las enfermedades infecciosas son posiblemente las más antiguas de las que tenemos referencia. En este sentido, los humanos no somos una excepción, ya que las enfermedades infecciosas aplican a todos los seres vivos, incluyendo plantas, invertebrados y vertebrados. Es conocido que ciertas especies se han extinguido a causa de enfermedades infecciosas. Por lo tanto, se puede afirmar que la lucha frente a los microorganismos que causan enfermedad es una de las batallas más antiguas que ha librado

el hombre en la naturaleza. Esa lucha además ha tenido efectos en la evolución, resultando en el desarrollo de un sistema inmunitario preparado para eliminar y/o repeler las amenazas que diariamente le suponen los microorganismos que nos rodean y que pueden penetrar a través de los pulmones, mucosas, sistema digestivo, heridas, etc. A pesar de ello, las enfermedades infecciosas han tenido y tienen un gran impacto y sus manifestaciones van cambiando en el tiempo. Por ejemplo, muchas de las enfermedades infecciosas que azotaban de manera dramática a la población hace unos pocos siglos tienen hoy en día un impacto mínimo, y sin embargo, en el siglo XXI, nos enfrentamos a otro tipo de agentes infecciosos como consecuencia del tipo de vida que llevamos (condiciones higiénicas, sanitarias, ambiente, globalización, etc.). Todas las personas en algún momento de su vida sufren enfermedades infecciosas, y aunque frecuentemente la sintomatología es leve, la mortalidad debida a enfermedades infecciosas es aún muy elevada, alcanzando decenas de millones de personas casa año. Resulta obvio resaltar la importancia de las enfermedades infecciosas en el momento de la escritura de este artículo, cuando nos enfrentamos a una pandemia (SARS-CoV-2).

¿QUÉ ES UNA ENFERMEDAD INFECCIOSA? ¿EXISTEN REALMENTE MICROORGANISMOS “PATÓGENOS” Y “NO PATÓGENOS”? REFORMULACIÓN DE LOS POSTULADOS DE KOCH

Estamos acostumbrados a escuchar que los microorganismos que causan enfermedad son patógenos o virulentos, y que cuando nos infectamos se genera una enfermedad. Pero esta idea precisa de matizaciones, ya que no siempre es así. Un buen ejemplo de rabiosa actualidad es el virus SARS-CoV-2, nadie duda de su potencial patógeno. Sin embar-

go, muchos contagiados por este virus son asintomáticos ¿Puede entonces afirmarse categóricamente que el SARS-CoV-2 es un patógeno? Es aquí cuando se entiende que el concepto de “patógeno” no es universal, ya que no sólo depende del agente infeccioso, sino de otro elemento importante que participa en la ecuación que da lugar a una enfermedad infecciosa, el individuo. Este concepto ha sido resumido de manera muy intuitiva en el denominado Damage Response Framework (Casadevall y Pirofski 2003). Tan determinantes son los factores de la persona que lo hacen sensible como los factores del microorganismo que favorecen el desarrollo de la enfermedad. Hay muchos otros ejemplos. *Candida albicans* es una levadura que causa enfermedad en pacientes inmunodeprimidos. Sin embargo, su nicho habitual es el tracto intestinal, donde se cree que participa regulando la homeostasis de la respuesta inmunitaria de los epitelios. Si todos estamos colonizados por esta levadura, ¿puede afirmarse categóricamente que es patógena?

Por tanto, una enfermedad infecciosa se define como **el efecto o efectos deletéreos que se producen como resultado de la interacción de una persona susceptible con un microorganismo**. Con esta definición, es fácil entender la razón por la que diferentes personas desarrollan diferente sintomatología o clínica al interactuar con el mismo microorganismo.

Existen múltiples elementos que pueden determinar el desarrollo de una enfermedad infecciosa, como son factores genéticos intrínsecos a la persona (variantes relacionadas con el sistema inmunitario, sexo, edad, microbiota, etc.), tratamientos con determinados fármacos u otras enfermedades que causan sensibilidad. Entre los factores relacionados con el microorganismo, se encuentran

entre otros la capacidad de sobrevivir y replicarse a determinada temperatura, la dosis infectiva, la capacidad de evadir la respuesta inmunitaria, y la producción de factores de virulencia, que son aquellos que directamente tienen un efecto deletéreo sobre el huésped (toxinas, enzimas líticas, etc.).

Reformulación de los postulados de Koch

El desarrollo de una enfermedad infecciosa es un proceso dinámico, de manera que las condiciones de una persona que la hacen sensible o resistente a un determinado microorganismo pueden cambiar con el tiempo. Y este concepto también aplica a los microorganismos, ya que pueden sufrir procesos de microevolución, seleccionándose individuos con mayor virulencia o resistentes a antimicrobianos, o con menor virulencia.

Así pues, hay enfermedades infecciosas en las que el daño para el enfermo viene determinado principalmente por factores del microorganismo (como puedan ser el ántrax, virus que causan fiebre hemorrágicas, cólera, etc), otras en las que viene determinado por factores del huésped (enfermedades oportunistas, como las causadas por hongos), y otras en las que la enfermedad depende del balance de ambos factores.

Aún así, no todos los microorganismos causan enfermedades infecciosas, por lo que parece pertinente utilizar la denominación de **patógeno** para aquellos que pueden contribuir a alterar el bienestar de una persona, bien por factores propios del microorganismo o por los factores de la persona que contribuyen a la enfermedad en presencia de ese microbio.

La inclusión de los factores del huésped lleva a la necesaria reconsideración de los clásicos postulados de Koch para definir una enfermedad infecciosa, ya que existen muchas situaciones en las que no se cumplen (Revisado en Hosainzadegan *et al.*, 2020). Este aspecto merecería ser un artículo independiente. Intuitivamente, un microorganismo que causa una enfermedad en una persona no necesariamente se comporta como patógeno en otro individuo con factores de predisposición diferentes. Pero además, el aislamiento de un determinado microor-

ganismo a partir de un paciente infectado no implica necesariamente que sea el agente causante de la enfermedad, ya que el daño puede venir determinado por una respuesta inmune exagerada de esa persona. También hay que considerar que en muchas ocasiones no es posible aislar y cultivar el microorganismo o virus causante de la enfermedad, como puede ocurrir con algunas bacterias, hongos como *Pneumocystis* o algunos virus.

PRINCIPALES RETOS DE LAS ENFERMEDADES INFECCIOSAS EN NUESTRA SOCIEDAD

El impacto de las enfermedades infecciosas en nuestra sociedad es muy significativo a múltiples niveles. No solo se limita a efectos sanitarios, sino también sociales y económicos. Por ello, es importante abordar su impacto desde varios puntos de vista, y para ello, es necesario hacer un ejercicio de reflexión sobre cuáles son los principales retos que se plantean en las tres principales áreas de interés de cualquier enfermedad: Conocimiento, diagnóstico y tratamiento.

Investigación sobre las bases moleculares involucradas en el desarrollo de la enfermedad

Como cualquier otro proceso biológico, no es posible establecer estrategias para reducir el impacto de las enfermedades infecciosas sin conocer las bases moleculares que resultan en los efectos deletéreos sobre las personas. Como se ha expuesto anteriormente, la investigación de las enfermedades infecciosas debe enfrentarse desde dos puntos de vista: desde el microorganismo involucrado, y desde el huésped, con especial énfasis en la respuesta inmunitaria que se induce durante el proceso infeccioso. Sin este conocimiento, el desarrollo de fármacos y técnicas diagnósticas se ve limitado.

Factores microbianos

Los mecanismos que induce un microorganismo *in vivo* y que contribuyen a su virulencia son múltiples. Por ejemplo, hay que considerar todas las rutas que producen la adaptación al huésped, como son la adecua-

da utilización de las fuentes de carbono y nitrógeno, asimilación de aminoácidos, adaptación a 37 °C y respuestas que confieren resistencia a estrés oxidativo. La mera adaptación al huésped y evasión de la respuesta inmune puede suponer la diseminación e invasión de órganos, causando la alteración de su función.

La adaptación al ambiente es incluso más compleja, ya que muchos microorganismos son capaces de replicarse en el interior de células del huésped tras ser internalizadas. Este es el caso de muchas bacterias, hongos y parásitos que se comportan como patógenos intracelulares facultativos. Resulta obvio que cualquier estrategia terapéutica frente a estos microorganismos debe considerar su forma de vida en el cuerpo. Además, muchos microorganismos producen también enzimas líticas (proteasas, lipasas, etc.) y toxinas que tienen un efecto directo negativo sobre las células del huésped.

Factores del huésped

Con respecto al anfitrión, el principal factor que determina el desarrollo de la enfermedad infecciosa es la respuesta inmunitaria que se induce. Este es un aspecto muy complejo, en el que están involucrados múltiples elementos de nuestra inmunidad. De manera general, nuestro cuerpo es capaz de desarrollar respuestas inmunes innatas o adquiridas, habiendo en cada una de ellas componentes celulares y humorales. Se ha avanzado mucho en el tipo de inmunidad que se desarrolla en respuesta a diferentes tipos de microorganismos con potencial patógeno, pero este es un proceso también dinámico, y pueden establecerse múltiples tipos de respuestas simultáneamente. En general la defensa frente a bacterias extracelulares está mediada por fagocitos y activación del sistema del complemento (inmunidad innata) y por los anticuerpos (producidos por los linfocitos B) que neutralizan la bacteria y sus toxinas (inmunidad específica). La defensa frente a microorganismos intracelulares es principalmente de tipo celular: generación de linfocitos Th efectoros que ayudarán a otras células incluidos los macrófagos y linfocitos Tc efectoros (CTLs) que eliminarán a las células infectadas. Además, distintos tipos de microorganismos han desarrollado mecanismos peculiares para evitar la inmunidad. Para añadir un grado de complejidad, hay muchas

enfermedades infecciosas cuya principal causa es una respuesta inmune inapropiada, tanto por defecto como por exceso. En muchos casos, por ejemplo, la respuesta frente al SARS-CoV-2, nuestro sistema inmunitario responde induciendo una inflamación exagerada, lo cual tiene un efecto negativo para nuestro organismo, ya que dicha inflamación termina interfiriendo con la funcionalidad de los órganos afectados.

Microbiota

La microbiota juega un papel vital en muchas funciones de las personas, y por lo tanto, cada vez hay más tendencia a considerar a la microbiota como una de las partes que componen una persona y que puede jugar un papel en desarrollo de enfermedades infecciosas (Revisado en Honda y Littman 2012). Los microorganismos que habitan en nuestro cuerpo pueden competir con el microorganismo capaz de causar la enfermedad y de esta manera, evitar que proliferen. En otros casos, está descrito que la replicación e interacción de algunos virus intestinales con las células epiteliales se ve favorecida en presencia de la microbiota bacteriana. La microbiota puede también definir el estado de activación de nuestro sistema inmune, y por tanto, determinar la susceptibilidad individual de cada persona a desarrollar otras infecciones. Por ello, es importante considerar que todos aquellos factores que definen la composición de la microbiota de una persona (edad, dieta, fármacos, etc.) pueden también influir en la probabilidad de desarrollar enfermedades infecciosas.

En resumen, a pesar de los avances tecnológicos de las últimas décadas, todavía existen muchas preguntas sobre los mecanismos fisiológicos que resultan en una enfermedad infecciosa. Además, el número de microorganismos que son capaces de causar enfermedad aumenta todos los años. Por ello, es necesario que de manera estratégica se desarrollen líneas de investigación básicas centradas en conocer en detalle todos los procesos involucrados en esta clase de enfermedades

RETO DIAGNÓSTICO Y NUEVAS TECNOLOGÍAS

Uno de los principales logros en el campo de la biomedicina es poder proporcionar

un diagnóstico específico de determinadas enfermedades. Obviamente, esto es también crítico en el caso de las enfermedades infecciosas. Se habla de una infección probada cuando se consigue aislar o identificar la presencia de un microorganismo determinado a partir de una muestra biológica. Clásicamente, esto se ha conseguido mediante el aislamiento del microorganismo en medios de laboratorio a partir de una muestra tomada al paciente. Pero esto plantea dos problemas. Primero, esta aproximación normalmente proporciona un diagnóstico tardío, con lo que es necesario implantar técnicas que permitan anticipar la detección de la enfermedad y la correcta administración de tratamientos. Y segundo, hay microorganismos que son difíciles de cultivar *in vitro*. Por ello, hoy en día hay un mayor interés al diagnóstico directo a partir de muestras, sin necesidad de cultivar el microorganismo.

Hay que considerar también que muchas enfermedades infecciosas se manifiestan con síntomas inespecíficos, como fiebre, dolor de cabeza, resfriado, etc., que muchas veces no requieren un diagnóstico exhaustivo. Sin embargo, en otros casos, según el estado del paciente, estos síntomas pueden derivar en cuadros clínicos graves que requieren un diagnóstico preciso.

Diagnóstico que no requiere aislamiento del microorganismo

En las últimas décadas, ha habido un avance muy significativo en las herramientas diagnósticas disponibles, que permiten realizar una identificación de la enfermedad sin necesidad de aislar el microorganismo en el laboratorio. Los avances en este tipo de diagnóstico se basan principalmente en dos hechos: la mejora de las técnicas de imagen no invasivas, y el desarrollo de herramientas de biología molecular que permiten la detección de componentes del microorganismo. En los últimos años, se ha generalizado la detección de los ácidos nucleicos mediante PCR en tiempo real como una de las principales herramientas para detectar la presencia de determinados microorganismos. Esta técnica tiene una alta sensibilidad y especificidad, debido a que implica ciclos de amplificación del material genético que facilita la detección. Pero tiene un coste alto,

y requiere de equipamiento específico y validado, personal con experiencia para interpretar las curvas de amplificación, y en muchas ocasiones, procesos de extracción que alargan el proceso. Además, en esta técnica, se añaden normalmente sondas fluorescentes dirigidas a reconocer zonas específicas del genoma de un determinado microorganismo. Es frecuente utilizar el formato multiplex, en el que se añaden varias sondas dirigidas a varias dianas. Pero aun así, el número de microorganismos que se detectan en cada reacción es bajo (tres o cuatro). Por ello, es necesario continuar con el desarrollo de nuevas técnicas. Recientemente, se ha desarrollado variantes de la técnica CRISPR que tienen utilidad diagnóstica (SHERLOCK y CARMEN), las cuales pueden detectar el ARN de patógenos en menos tiempo que la PCR en tiempo real.

Uno de los principales retos en el diagnóstico microbiológico es intentar acortar los tiempos de respuesta y detectar la presencia de patógenos en muestras clínicas sin necesidad de equipamiento complicado (bench to bedside). Este es el ejemplo de los kits basados en inmunocromatografía, en los que la presencia de determinados componentes (proteínas, polisacáridos, etc.) se visualizan como una banda de color en dispositivos de pequeño tamaño (los denominados test de antígenos). La sensibilidad de estos chips suele depender de la afinidad de los anticuerpos que se incluyen, pero normalmente tienen menor sensibilidad que la PCR. A pesar de ello, si hay suficiente antígeno en la muestra que se analiza, los test de antígenos son una herramienta muy efectiva para proporcionar diagnóstico precoz. Tienen una aplicación en regiones en vías de desarrollo, donde el acceso a técnicas que requieren equipamientos costosos puede ser complicado.

Existen varios campos que pueden ofrecer un gran potencial diagnóstico. Uno de ellos es la secuenciación masiva a partir de muestras clínicas. Posiblemente, esta es una de las áreas en las que se realizará avances en los próximos años. Tiene la ventaja de que no es necesario tener ninguna idea previa del microorganismo que se trata de identificar, ya que se lleva a cabo la secuenciación de todo el material genético de la muestra, incluyendo el humano. El avance de esta tecnología permite identificar en una muestra clínica la presencia

de los microorganismos que se encuentren en ella. El principal reto que plantea esta estrategia es poder discernir cuando la presencia de un determinado ADN o ARN de un microorganismo corresponde realmente con la causa de la enfermedad, o corresponde a un estado comensal o simbiótico. Otro campo que puede ofrecer gran potencial diagnóstico en el futuro es la aplicación de otros dispositivos nanotecnológicos (microfluídica, nanochips, etc.), que permitan la detección de una única molécula de interés presente en la muestra clínica que se está analizando.

Identificación de los microorganismos aislados del paciente

En muchas ocasiones, es frecuente aislar el microorganismo causante de la enfermedad en el laboratorio, y se requiere llevar a cabo la identificación a nivel de especie e incluso caracterizaciones ulteriores como genotipado o serotipado. Aquí de nuevo, los métodos clásicos (técnicas bioquímicas, etc.) han sido sustituidos por los métodos moleculares, basados en secuenciación de determinadas dianas (principalmente el DNA ribosomal), o PCR en tiempo real. Además, en los últimos años, se han introducido la identificación basada en espectrometría de masas, en los que se coloca el microorganismo directamente en un chip que se ioniza e introduce en un equipo cerrado de MALDI-TOF. Estos equipos proporcionan una identificación precisa en cuestión de minutos, y están siendo ampliamente usados en los hospitales.

RETO TERAPÉUTICO Y RESISTENCIAS

La disponibilidad de tratamientos efectivos hace posible el control de las enfermedades y en particular de las infecciosas. Existen dos aproximaciones terapéuticas principales, las cuales no son excluyentes: Tratamientos que resultan en una mejora en la respuesta inmune, y/o tratamientos con fármacos antimicrobianos.

Tratamiento basado en mejora de la respuesta inmune

Los primeros hitos en el tratamiento de las enfermedades infecciosas podemos atribuirlos a la implantación de la vacunación, así como al

uso de sueros inmunes tras descubrir que los anticuerpos son uno de los principales componentes que nos protegen frente a los microorganismos. Las vacunas suponen posiblemente la herramienta más útil para prevenir el desarrollo de enfermedades infecciosas. Posiblemente, la historia de la vacuna de la viruela es la que mejor define el éxito de esta estrategia frente a enfermedades infecciosas. Cronológicamente, el primer tratamiento contra la viruela se describió en China, hace mil años. El proceso, conocido como variolización, se basaba en administrar a personas sanas algún fluido proveniente de una zona afectada de pacientes infectados (pus, costras, e incluso ropa impregnada). Esta terapia fue importada a Europa por la esposa del embajador inglés en Constantinopla, Lady Mary Wortley Montague en 1720. Pero fue Edward Jenner en 1796, el primero que estableció científicamente el éxito de vacunación, tras la observación de que las personas que estaban en contacto con vacas que padecían la viruela vacuna (cowpox) estaban protegidas frente a la viruela humana, o solo desarrollaban síntomas leves. Jenner demostró científicamente el éxito del procedimiento al inocular a personas con fluidos de personas afectadas de la viruela bovina, y posteriormente exponerlos a fluidos que contenían la viruela humana, observando que con este proceso no aparecía la enfermedad o solo se presentaba con sintomatología leve. De especial interés es la historia de Francisco Xavier Balmis, médico alicantino que bajo el mandato del rey Carlos IV, emprendió una expedición (1803-1806) para extender la vacuna de la viruela por todo el imperio español y más allá (América, Islas Filipinas y China). La vacuna en aquella época no era más que preparados a partir de heridas de personas que habían padecido la enfermedad, y que se iba inoculando a otras personas durante el viaje, para mantenerla viable. En concreto, la expedición incluyó 22 niños que fueron los portadores sucesivos de la vacuna, ya que los niños eran las personas que padecían las manifestaciones más leves de la vacunación. Como colofón final a la historia de la viruela y el éxito de vacunación, el último caso conocido fue en 1978, y la OMS declaró la enfermedad como erradicada en 1980. Hoy en día, el desarrollo de vacunas efectivas es una de las prioridades para el tratamiento de cualquier enfermedad infecciosa, aunque su obtención es un proceso largo y costoso. Pero la emergencia de la pandemia de la COVID19 demuestra la necesidad de inversión en vacunas para este tipo de enfermedades.

La sueroterapia tuvo gran importancia a finales del siglo XIX y principios del siglo XX. Este tratamiento se basa en la administración del suero de pacientes que se recuperan de una enfermedad infecciosa a otras personas. Esta estrategia fue gradualmente descartada en el siglo XX gracias a la aparición de otras terapias, y al riesgo que había de transmisión de otras enfermedades entre personas. Sin embargo, sigue siendo una terapia de gran utilidad para aquellas enfermedades frente a las que no hay tratamiento, como ocurrió con el brote del Ébola o más recientemente, con la COVID19. Una variante más segura es la administración de anticuerpos monoclonales que reconocen epítomos del microorganismo patógeno. Esta estrategia tiene la ventaja de la especificidad del tratamiento, aunque suele ser un proceso costoso. Además, la administración de anticuerpos monoclonales puede también efectos inmunomoduladores secundarios, con lo que no es obvio llevar a cabo la estandarización y el ajuste de las dosis terapéuticas.

También merece la pena destacar que muchas enfermedades infecciosas pueden tratarse modulando la respuesta inmunitaria de la persona, que como hemos descrito anteriormente, es otro de los elementos involucrados en el desarrollo de este tipo de enfermedades. Así pues, es frecuente administrar inmunomoduladores que potencian respuestas protectoras (TNF- α , INF- γ , terapia basada en CAR-T, etc). Pero también es frecuente administrar fármacos antiinflamatorios (como corticoides) para reducir respuestas inmunitarias dañinas. La inmunoterapia debe por tanto ajustarse según la respuesta inmunitaria de cada paciente, y por ello, es uno de los campos donde existe mayor posibilidad de desarrollar medicina personalizada para curar las enfermedades infecciosas.

Tratamiento con fármacos antimicrobianos. Problema de las resistencias

En las últimas décadas, los principales hitos en el tratamiento de enfermedades infecciosas ha sido el desarrollo de fármacos antimicrobianos o fármacos inmunomoduladores. Desde el descubrimiento de la penicilina por parte de Alexander Flemming en 1928 a partir del hongo *Penicillium notatum*, la búsqueda de antibióticos, antifúngicos, antiparasitarios y antivirales ha sido la principal herramienta para curar

enfermedades infecciosas. Es de todos conocidos el gran número de fármacos que se han encontrado y desarrollado en el siglo XX con este objetivo, y es indudable de que ha supuesto que muchas enfermedades no supongan un riesgo alto para la salud de la mayoría de los pacientes. Aun así, existe un claro margen de mejora en los tratamientos usados hoy en día. En primer lugar, muchos antimicrobianos tienen efectos secundarios, por lo que su administración debe realizarse con extrema precaución. Además, muchos son caros, y no accesibles en determinadas regiones geográficas.

Quizás uno de los principales retos terapéuticos a los que nos enfrentamos es el desarrollo de resistencias. La presión selectiva que ejercen los antimicrobianos permite la selección de microorganismos resistentes a casi todos los antibióticos, antivirales, antiparasitarios o antifúngicos utilizados en clínica. Pero también es notorio el número de especies que intrínsecamente son resistentes a estos fármacos, y que son seleccionados como patógenos por el uso de los antimicrobianos. La aparición de resistencia se acentúa también debido a que los antimicrobianos se usan de manera masiva en clínica. Hoy en día, existen varias maneras de administración de estos fármacos, no solo frente a una infección probada, sino también de manera preventiva o profiláctica para evitar que aparezcan enfermedades infecciosas en pacientes de riesgo. Aunque estas estrategias reducen la aparición de microorganismos patógenos, es inevitable la selección de resistencias. Hay que considerar además que estos fármacos son liberados al ambiente por las heces u orina, lo que supone que muchos microorganismos pueden estar expuestos de manera continua a estos fármacos en el ambiente. Para aumentar la complejidad, algunos antimicrobianos que se usan en el ambiente (por ejemplo, fungicidas) son de la misma familia que antimicrobianos de uso humano, lo que favorece la selección de cepas ambientales que ya son resistentes en el momento de entrar en contacto con los humanos.

El impacto de la resistencia a antimicrobianos es muy significativo, no solo a nivel de los pacientes afectados y la mortalidad que causan, sino también a nivel económico. Considerando las otras limitaciones expuestas en este apartado, es importante concienciar a la sociedad de la importancia de continuar con la búsqueda y desarrollo de nuevos antimicrobianos. Esto

puede hacerse mediante búsqueda de nuevas moléculas o mediante la aplicación de medios bioinformáticos que permitan predecir diseño o modificaciones de compuestos para que inhiban de manera eficaz una determinada diana microbiana. Las empresas biotecnológicas juegan un papel vital en este apartado. Sin embargo, en ocasiones, la enorme inversión que se requiere para desarrollar un nuevo fármaco hace que las empresas no se involucren en el desarrollo de nuevos antimicrobianos para tratar enfermedades de baja incidencia. Y no les falta razón, ya que cualquier empresa debe considerar los efectos económicos que tiene para su futura viabilidad establecer cualquier nuevo proyecto. Por ello, la labor de encontrar nuevos fármacos no debe recaer sólo en las empresas farmacéuticas y biotecnológicas y es necesaria la implicación de los gobiernos y de la financiación pública. Desafortunadamente, en las últimas décadas, se está observando una infrafinanciación en este área y es necesario revertir esta situación para afrontar los retos que plantean las enfermedades infecciosas.

En este sentido, una estrategia que está ganando interés en los últimos años es la denominada reposicionamiento de drogas no sometidas a patentes (“off-patent drug repurposing”). Con ello, se pretende identificar nuevas funciones a fármacos ya usados en clínica. Esta estrategia tiene varias ventajas sobre el desarrollo de una nueva molécula, ya que es más barato, y el tiempo necesario para llevarlo a la clínica es más corto.

ENFERMEDADES INFECCIOSAS: PRESENTE Y FUTURO. ¿A QUE NOS ENFRENTAMOS?

La constante e inevitable exposición a los microorganismos hace que las enfermedades infecciosas vayan a ser un compañero de viaje permanente de la humanidad. Ha sido así desde hace miles de años, y seguirá siendo así en el futuro. Además, hay que entender el aspecto dinámico de estas enfermedades. Cada sociedad, país o región, se enfrenta a diferentes retos, según el estado económico y sanitario del que dispongan. Por ejemplo, hay enfermedades muy asociadas a pobres condiciones sanitarias (como la malaria, tuberculosis y cólera, entre otras). Pero los países más desarrollados y con acceso a la mejor sanidad tienen otros problemas, como infecciones nosocomiales,

resistencias o población más susceptible por envejecimiento u otros factores. De hecho, se da la paradoja de que muchos avances de nuestra medicina (terapias antitumorales e inmunosupresoras, trasplantes, desarrollo de las UCIs, etc) suponen la aparición de una población de riesgo muy significativa a desarrollar determinadas enfermedades infecciosas.

En el contexto de la escritura de este artículo, la pandemia de la COVID19 pone de manifiesto otros retos, que es la aparición de nuevos microorganismos y virus que pueden causar auténticos estragos. Aunque es un hecho poco frecuente, es obvio de que existe un riesgo real de que virus de otras especies puedan mutar y adaptarse al humano. Y desafortunadamente, hemos visto varios ejemplos en las últimas décadas. El VIH tiene su origen en virus que afectan a los primates, y que saltó a los humanos hace justo un siglo, sobre los años 1920-1930. Después tenemos los ejemplos de las variantes de la gripe aviar. De hecho, la gran variabilidad del virus de la gripe, tanto la que afecta a los animales como la de humanos, supone un riesgo constante año tras año, y muchos expertos anticipan que la aparición de una variante que cause una mortalidad anormalmente alta no es más que una cuestión de tiempo. Y no debería pillarnos de sorpresa, ya que ocurrió hace justo también un siglo, con la mal llamada “gripe española” de causó decenas de millones de muertos.

Es inevitable también comentar los ejemplos que nos han proporcionado el SARS (“severe acute respiratory syndrome, causado por el virus SARS-CoV) de 2003 y MERS (middle east respiratory syndrome, causado por el virus MERS-CoV), como anticipo de la gran pandemia de la COVID19 que está azotando nuestra sociedad. Resulta paradójico que los “avisos” previos del SARS y MERS no hayan servido para estar mejor preparados para afrontar la actual situación. Todos ellos tienen su origen en virus de murciélagos. En el caso del SARS y el MERS, han sido capaces de adaptarse a los humanos tras pasar por un huésped intermedio (jinetas y camellos, respectivamente). En el caso del SARS-CoV-2 se han propuesto varios animales intermedio (serpientes, pangolines, visones entre otros) pero todavía se desconoce exactamente como se ha transmitido este virus desde los murciélagos a las personas.

La gran pregunta es cómo podemos predecir y prepararnos frente a eventos como los

producidos por la gripe aviar, SARS, MERS y COVID19. ¿Debemos cambiar algunas de nuestras costumbres, en especial en la interacción con los animales? ¿Deberían llevarse a cabo más experimentos de “ganancia de función”, para investigar que mutaciones son las responsables de estas adaptaciones? ¿Sería aceptable que volviera a afectarnos una gripe parecida a la de 1918? Este debate se acentuó con los dos polémicos artículos en 2012 en los que dos grupos de manera independiente describieron mutaciones en el virus de la gripe aviar que permitían la adaptación y transmisibilidad en modelos de mamíferos (Herfst *et al.*, 2012, Imai *et al.*, 2012). Estos trabajos crearon un debate científico muy intenso que resultó en una moratoria y la interrupción de los experimentos de ganancia de función en 2014. Finalmente, a finales de 2017, el NIH decidió poner fin a esta moratoria y volver a financiar este tipo de proyectos. Aún así, es obvio que los problemas de bioseguridad que se plantean todavía provocan un debate ético. Pero por otra parte, estos experimentos son casi ineludibles, ya que la investigación de los mecanismos moleculares que aumentan la virulencia microbiana ofrece la posibilidad de conocer a que retos nos podemos enfrentar en el futuro.

Hay que tener en cuenta que algunas de estas nuevas enfermedades y otros brotes como fue el caso del Ébola en 2014 se han eliminado y controlado con medidas que no involucran a las vacunas debido al tiempo necesario para desarrollarlas. La pandemia de la COVID19 debería llevar a una reflexión profunda para desarrollar todas las estrategias que nos permitan adelantarnos y evitar los efectos catastróficos que estamos sufriendo en la actualidad.

Una de las grandes preguntas desde un punto de vista evolutivo es como han adquirido determinados microorganismos su capacidad de causar enfermedad. En este sentido, cada vez hay más evidencia que algunos microorganismos han seleccionado ciertos rasgos o fenotipos durante interacciones ambientales que posteriormente les facilitan causar enfermedad en humanos. En otros casos, se debe a la íntima evolución de algunos microorganismos con las personas. Esta es una cuestión de gran interés en estos tiempos, ya que puede contribuir a plantear respuestas a los futuros retos que nos plantean las enfermedades infecciosas.

También es pertinente plantearse si la comunidad científica debería jugar un papel más activo en la toma de decisiones políticas. Múltiples voces han anticipado que una pandemia causada por un virus respiratorio (gripe, coronavirus, etc.) iba a llegar tarde o temprano, ya que era solo una cuestión de mutación y azar. ¿Sería descabellado plantear que determinados comités científicos tuvieran un papel ejecutivo y no solo asesor en los gobiernos?

Además de los ejemplos mencionados hay muchas otras enfermedades infecciosas que se producen por nuestra exposición a animales, plantas e invertebrados. Es bien conocido la cantidad de virus y parásitos que son adquiridos por picaduras de mosquitos. Y hay otros muchos ejemplos de enfermedades infecciosas que adquirimos del ambiente: Fiebre lassa, encefalitis espongiiformes, rabia, zika, ántrax, salmonelosis, tuberculosis, tularemia, criptococosis, aspergilosis, histoplasmosis, dengue, leishmaniasis, toxoplasmosis, triquinosis, y otras muchas. Incluso, microorganismos patógenos en plantas, como *Fusarium* o *Ustilago*, pueden causar también enfermedad en humanos.

Y esto nos lleva a otra reflexión, que es como pueden influir posibles cambios ambientales en el futuro de las enfermedades infecciosas. Desde hace años, se está advirtiendo que el calentamiento global del planeta puede llevar a una selección de microorganismos que pueden causar enfermedad en humanos, principalmente porque pueden adaptarse directamente a la temperatura fisiológica. Pero también cabe plantearse otras preguntas. ¿Es aleatorio que en un plazo tan breve de tiempo en la historia hayamos tenido los episodios de la gripe aviar, SARS, MERS y COVID19 entre otros? ¿Podiera ser que la tasa de mutación de estos virus y otros microorganismos fuera mayor en las últimas décadas debido al aumento de temperatura, facilitando la aparición de variantes que pueden adaptarse a otros huéspedes? Los murciélagos pasan gran parte de su vida hibernando, sin regular su temperatura corporal, por lo que esta depende del ambiente. Aunque pueda parecer un cambio insignificante, variaciones de uno o dos grados centígrados pueden tener efectos biológicos muy significativos. Por otro lado, la adaptación a mayores tempera-

turas también tiene un coste metabólico que puede influir en la capacidad de adaptarse a nuevos ambientes. Y más allá del calentamiento global, debemos plantearnos como pueden influir otros cambios, tales como la contaminación ambiental y la generación de residuos en el futuro de las enfermedades infecciosas. ¿Podríamos estar seleccionando “supermicroorganismos” resistentes a factores de estrés ambientales, y que por lo tanto, podrían tener mayor capacidad de causar enfermedad?

Aparte de los posibles patógenos que podemos adquirir del ambiente de manera ocasional, no podemos olvidar del riesgo inherente que suponen los microorganismos a los que estamos expuestos todos los días. Aquí también se plantean retos importantes en el futuro. Nuestro sistema inmune debe funcionar durante toda nuestra vida para contener estos retos diarios. ¿Qué consecuencias tiene esta interacción continua a largo plazo? ¿Es posible que la aparición de determinadas enfermedades con la edad esté determinada por la exposición prolongada a microorganismos? ¿Y qué papel juega la microbiota individual en la aparición de otras enfermedades? En este sentido, las estrategias basadas en secuenciación masiva que permiten tener una visión de la microbiota individual de cada persona ofrecen uno de los campos más prometedores en el futuro para entender su relación con predisposición a desarrollar otras enfermedades.

Como conclusiones, la historia nos indica que las enfermedades infecciosas son un riesgo inherente e inevitable a nuestra vida. El futuro es totalmente impredecible. La reciente pandemia de la COVID19 ha demostrado que a pesar de contar con grandes avances, no estamos preparados para poder controlar las enfermedades infecciosas. No es descartable que en unos años (pocos o muchos) suframos una pandemia similar, incluso con una mortalidad mayor que causaría estragos inimaginables. Además, los retos ambientales, la aparición de resistencias, el aumento de edad o de pacientes inmunodeprimidos en determinadas sociedades, o carencias sanitarias en regiones en vías de desarrollo, hacen que las enfermedades infecciosas vayan a seguir siendo un problema inherente en nuestros sistemas sanitarios.

Cualquier estrategia que se plantee en el futuro, debe basarse en:

- 1) Una ciencia rigurosa y de calidad, para lo cual hace falta garantizar financiación e inversión, tanto privada como pública, en investigación;
- 2) Mayor peso de la comunidad científica en la toma de decisiones estratégicas;
- 3) Concienciación de la sociedad en el riesgo constante que suponen las enfermedades infecciosas, más allá de la pandemia que estamos padeciendo hoy en día;
- 4) Análisis crítico de todas las circunstancias que rodean a cada sociedad y que aumentan la susceptibilidad a desarrollar nuevas enfermedades;
- 5) Evaluación de la influencia de cambios ambientales (temperatura, contaminación, liberación de antimicrobianos,

etc) sobre las enfermedades infecciosas (selección de nuevos patógenos, resistencias, etc.);

- 6) (quizás de las más importantes) Fomentar la motivación y el desarrollo de carreras científicas en el campo enfermedades infecciosas entre nuestros jóvenes investigadores, ya que sea cual sea, el futuro es suyo. Sin una masa crítica de jóvenes científicos interesados en los retos que nos plantean los microorganismos, no será posible realizar una investigación de calidad, por lo que es prioritario que las instituciones competentes y gobiernos fomenten la formación y financiación para garantizar carreras investigadoras de calidad en este área.

AGRADECIMIENTOS

O.Z. quiere dar las gracias a todos los compañeros de la JD del GEBMP que han propor-

cionado sus comentarios y críticas, las cuales han contribuido a completar este artículo.

REFERENCIAS

- Bergman A y Casadevall A.** (2010). Mammalian Endothermy Optimally Restricts Fungi and Metabolic Costs. *mBio* 1(5): e00212-10.
- Casadevall A y Pirofski, L.** (2003). The damage-response framework of microbial pathogenesis. *Nat Rev Microbiol* 1: 17-24.
- Herfst S, Schrauwen E, Linster M et al.** (2012). Airborne Transmission of Influenza A/H5N1 Virus Between Ferrets. *Science* 336: 1534-1541.
- Honda K y Littman D.** (2012). The microbiome in infectious disease and inflammation. *Ann. Rev. Immunol*, 30: 759-795.
- Hosainzadegan H, Khalilov R, Gholizadeh P.** (2020). The necessity to revise Koch's postulates and its application to infectious and non-infectious diseases: a mini-review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 39: 215-218.
- Imai, M., Watanabe, T., Hatta, M. et al.** (2012). Experimental adaptation of an influenza H5 HA confers respiratory droplet transmission to a reassortant H5 HA/H1N1 virus in ferrets. *Nature* 486: 420-428.
- Rook G, Bäckhed F, Levin B, McFall-Ngai MJ, McLean AR.** (2017). Evolution, human-microbe interactions, and life history plasticity. *Lancet* 390: 521-30.

Nuevos socios de la SEM

- Ávila Arribas, Marta
- Balmaseda Rubina, Aitor
- Condón Abanto, Santiago
- De Toro Hernando, María
- Fernández Álvarez, Manuela
- García García, Raquel
- García Sanchez, Rosa
- Gil Campillo, Celia
- Jiménez, Irene
- Martín Cabello, Guadalupe
- Melo Possas, Arícia Mara
- Newman Portela, Antonio Martín
- Pastor Martínez, José Antonio
- Sáenz Domínguez, Yolanda
- Tito Tito, José David
- Toft, Chirstina

Altas desde 14/04/2020 hasta 21/09/2020

Secuenciación de genomas de SARS-CoV-2: herramienta clave en esta pandemia

Ángel Zaballos¹, Sarai Varona², María Iglesias-Caballero³, Sara Monzón², Francisco Pozo³, Inmaculada Casas³, Isabel Cuesta²

¹Unidad de Genómica, Unidades Centrales Científico-Técnicas, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, España. ²Unidad de Bioinformática, Unidades Centrales Científico-Técnicas, Instituto de Salud Carlos III, Majadahonda, Madrid, España. ³Unidad de Virus Respiratorios y Gripe, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III.

Palabras clave: genómica, bioinformática, análisis filogenético, epidemiología molecular.

La pandemia causada por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2 no sólo está afectando de manera muy sensible al modo de vida de miles de millones de personas, sino que, a la vez de reto científico y médico, está suponiendo un nuevo paradigma en la detección, caracterización y seguimiento epidemiológico del agente causal. Y sin lugar a duda la secuenciación completa del genoma de SARS-CoV-2 a partir de muestras clínicas es el estandarte de este nuevo paradigma. Con más de 45 millones de casos de infección detectados hasta octubre de 2020 (<https://www.worldometers.info/coronavirus/>), son más de 170000 los genomas depositados en la base de datos de GISAID en las mismas fechas (<https://www.gisaid.org/>), casi un 0,4% de todos los casos detectados mundialmente, que en principio puede parecer una cifra minúscula, pero a su vez nunca vista para otro agente infeccioso. Las ventajas de conocer la secuencia completa del genoma del virus que está infectando a individuos concretos hablan por sí mismas. Con todos los elementos genéticos determinados para cada espécimen es posible trazar con precisión los orígenes de los brotes, las cadenas de transmisión, la dispersión del agente y su propia evolución espacio-temporal. Pero no sólo aporta valiosa información epidemiológica, sino que los cambios genéticos en el virus pueden acarrear a su vez cambios fenotípicos con consecuencias en su infectividad, agresividad de la enfermedad causada y en el diseño de fármacos o vacunas.

SECUENCIACIÓN MASIVA DE GENOMAS DE SARS-COV-2

Como en muchas otras áreas de la microbiología, o en la misma genética humana, la secuenciación completa de genomas

va camino de instaurarse como técnica de referencia en el ámbito de la identificación y caracterización molecular, impulsada cómo no, por la enorme capacidad de secuenciación de las distintas plataformas de secuenciación masiva actuales y la reducción de los costes por nucleótido, que llega a equiparar el coste de una secuenciación clásica de Sanger, una kilobase, con una gigabase de secuencia obtenida por los nuevos métodos.

La secuenciación del genoma de SARS-CoV-2 no presenta mayor obstáculo debido a su tamaño (unas 30 Kb) sino por el tipo de muestra, exudado nasofaríngeo en la mayoría de los casos, en la que además del RNA viral, cuya proporción dependerá fundamentalmente de la carga viral del individuo afectado, encontraremos ácidos nucleicos del paciente, así como de otros organismos que puedan estar coinfectando o formando parte de la flora respiratoria, y además en proporciones muy variables de cada uno de ellos. De ahí que los protocolos difieran en la introducción o no de algún paso de enriquecimiento en secuencias específicas del virus. En el caso de utilizar el RNA de la muestra sin selección alguna, lo que se suele denominar como aproximación metagenómica, se obtendrán mayoritariamente secuencias de RNAs humanos, siendo las secuencias virales entre un 5 y menos del 0.001 por ciento del total. Esto requiere generar en muchos casos decenas de millones de secuencias por muestra para garantizar una cobertura completa del genoma y, en su caso, la identificación de variantes en baja proporción, lo cual exige equipos con un gran rendimiento de secuenciación, un importante coste en reactivos y también adecuada capacidad bioinformática. Eso sí, esta aproximación viene con bonus

extra, ya que se puede caracterizar además el transcriptoma del paciente, parte de sus variantes alélicas, su microbioma respiratorio y la presencia de otros virus (Xiao *et al.*, 2020). Sin embargo, y por las razones de costes antes citadas, las aproximaciones más extendidas son las apriorísticas, en las que, ya sea mediante amplificación específica por PCR o por captura con sondas específicas, se reduce considerablemente el número de secuencias requeridas para obtener el genoma completo del virus. En el caso de la amplificación, las distintas estrategias se basan en el diseño de varios cientos de amplicones solapantes que cubren prácticamente todo el genoma del virus. Una de las primeras, y más exitosas por el volumen de genomas secuenciados, fue la desarrollada por la red ARTIC (<https://artic.network/ncov-2019>), puesta a disposición de la comunidad científica en los inicios de la pandemia y diseñada en principio para ser usada con los secuenciadores basados en nanoporos (Minlon), aunque pronto se extendió al resto de plataformas (Illumina, ThermoFisher). Además del bajo coste, la rapidez en la determinación y en el ensamblado de los genomas, así como el elevado número de muestras que se pueden procesar simultáneamente la han colocado como la estrategia preferida por muchos investigadores. Como desventajas, la sensibilidad a posibles variantes del virus, baja fiabilidad para variantes de baja frecuencia (identificación de cuasiespecies) y la mayor probabilidad de contaminaciones entre muestras. Una situación intermedia entre la estrategia de amplicones y la metagenómica es el uso de sondas diseñadas para capturar específicamente las secuencias virales, que pueden ser para un único genoma o ampliarse a otros virus respiratorios o incluso a múltiples familias. No

requiere un gran número de secuencias para obtener el genoma final, pero es más costoso tanto en reactivos como en manipulación que la secuenciación de amplicones.

ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO DE SECUENCIAS DE SARS-COV-2

La bioinformática es una disciplina clave en el análisis de grandes datos derivados de las tecnologías de alto rendimiento, como son las secuencias de genomas generadas por secuenciación masiva. Especialmente en esta pandemia, la bioinformática ha tenido una relevancia muy significativa, generando la metodología y proporcionando las herramientas necesarias para el análisis, procesamiento e interpretación de los datos obtenidos en la secuenciación del genoma viral. Desde que el SARS-CoV-2 fue anunciado por el gobierno de China el 31 de diciembre de 2019, se tardaron apenas 10 días en obtener la primera secuencia completa del genoma del virus, y ser depositada en bases de datos públicas como GeneBank o GISAID (Wu *et al.*, 2020).

En el momento en que la OMS determinó el 20 de enero de 2020 que el nuevo coronavirus era una emergencia sanitaria pública de importancia mundial, la comunidad bioinformática asumió la responsabilidad de crear protocolos de análisis estandarizados y eficientes, adaptados a las características del genoma del virus SARS-CoV-2. Los primeros protocolos de análisis para el ensamblado del genoma de SARS-CoV-2 fueron los desarrollados por la red de ARTIC y por la comunidad GalaxyProject. La primera, que ya había desarrollado protocolos estandarizados para los virus de la gripe, Ébola y Zika, diseñó con gran rapidez otro capaz de analizar los datos generados en la secuenciación de amplicones de SARS-CoV-2 mediante la tecnología de nanoporos. Sin embargo, el número de muestras que es posible secuenciar con los dispositivos basados en nanoporos es muy inferior al que se puede obtener con los de Illumina, razón por la cual se adaptaron los métodos de análisis a los datos generados por estos secuenciadores, ampliándolo además a otros métodos de enriquecimiento de genoma viral, como es el uso de sondas de captura. Con el esfuerzo colaborativo de cientos de bioinformáticos (<https://github.com/virtual-biohackathons/covid-19-bh20>), han surgido una gran variedad de protocolos

de análisis y de colaboraciones a nivel mundial, resultando herramientas como Viralrecon (<https://github.com/nf-core/viralrecon>) para reconstruir el genoma viral a partir de los datos de secuenciación masiva.

Dos son las aproximaciones en las que se basan los diferentes protocolos de obtención de la secuencia de los genomas virales, las basadas en genomas de referencia y las de ensamblado *de novo*. La primera consiste en el mapeado de las lecturas de las muestras sobre el genoma del virus SARS-CoV-2 de Wuhan, con la posterior determinación y filtrado de variantes entre ambas secuencias y generación de un genoma consenso que contiene las variantes propias de la muestra analizada (Grubaugh *et al.*, 2019). En principio, esta aproximación tendría una clara desventaja y es que no permitiría identificar variantes estructurales en el genoma viral que no estuviesen en el genoma de referencia que se use. Sin embargo, el virus de SARS-CoV-2 no parece haber variado lo suficiente desde su aparición como para que esta estrategia no sea lo suficientemente eficaz, razón principal por la que es la más empleada mundialmente. La segunda aproximación, aunque menos empleada, sí que permitiría obtener estas variantes estructurales y consiste en el ensamblado *de novo*, de las lecturas obtenidas del secuenciador, sin usar un genoma de referencia. Aunque ya se disponía de diferentes programas para este tipo de ensamblado, algunos se han optimizado para la reconstrucción del genoma de SARS-CoV-2, como es el caso de CoronaSpades (Meleshko y Korobeynikov 2020). El ensamblado *de novo* sería la opción de análisis a elegir si se hace una aproximación de enriquecimiento mediante sondas y se desaconseja en el caso de amplicones porque las diferencias en profundidad de secuenciación entre los mismos, puede generar artefactos en el ensamblado.

Una vez determinados, los genomas consenso se pueden subir a los repositorios públicos existentes, como GISAID o ENA (<https://www.ebi.ac.uk/ena/browser/about>), para que estén al alcance de toda la comunidad científica. Ambos repositorios están haciendo esfuerzos para unificar criterios de calidad y análisis, para que la comparación de secuencias revele relaciones filogenéticas robustas que faciliten entender la evolución temporal del virus y determinar las cade-

nas de transmisión a nivel mundial (Alm *et al.*, 2020). Además, ayudará a conocer las variantes virales circulantes, información necesaria para, mantener las herramientas de diagnóstico viral basadas en PCR efectivas, realizar el seguimiento de una posible vacuna y conocer su eficacia, o identificar cuasiespecies virales con posible incidencia en el desarrollo futuro de la pandemia.

LA CLASIFICACIÓN DEL VIRUS SARS-COV-2 A TRAVÉS DE SU GENOMA

El análisis del genoma completo de patógenos se ha revelado como una importante herramienta en el estudio de la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. La existencia de plataformas de publicación y de análisis de secuencias, como las ya citadas y otras como NextStrain, han permitido la visualización en tiempo real de las secuencias disponibles de los diferentes países, facilitando el estudio de la distribución del virus y la identificación de mutaciones que pudiesen derivar en posibles adaptaciones al hospedador humano o cambios en las características del virus (van Dorp *et al.*, 2020). Esto ha facilitado la definición de una nomenclatura para los diferentes clados o ramas con las variantes que han aparecido en su desarrollo y expansión. Las principales propuestas para clasificar filogenéticamente las secuencias de SARS-CoV-2 son las de las plataformas NextStrain y GISAID. La primera propone cinco grandes clados. Dos de ellos emergieron ya en 2019: el clado 19A, que se considera el grupo raíz, y el 19B, definido por los cambios C8782T y T28144C. Los tres clados restantes agrupan secuencias de virus circulantes en 2020: el 20A, que se distingue del 19A por las sustituciones C3037T, C14408T y A23403G, el 20B, caracterizado por tres cambios consecutivos G28881A, G28882A y G28883C y el 20C, que presenta las sustituciones C1059T y G25563T. En los dos primeros clados, 19A y 19B, se agrupan las secuencias que circularon durante los primeros meses en Asia, mientras que el clado 20A comprende las secuencias de Europa de comienzos del 2020. Los otros dos clados del 2020 comprenden a las secuencias mayoritarias en Europa (20B) y Norteamérica (20C). La clasificación propuesta por GISAID está basada en la combinación de nueve marcadores genéticos que permite que el 95 %

de las secuencias de SARS-CoV-2 puedan ser clasificadas en seis grupos filogenéticos bien definidos que van desde los dos grupos iniciales S y L, hasta la posterior evolución del clado L en los grupos V y G, quedando este último finalmente dividido en los clados GH y GR. Estos nombres refieren a mutaciones que sirven para describir el grupo. Por ejemplo, el cambio D614G en la espícula caracterizó al grupo descrito como clado G. La unificación de criterios a la hora de nombrar los diferentes clados es una tarea

pendiente, estando todas estas propuestas aún en evaluación, ya que, por ejemplo, actualmente ninguna de estas nomenclaturas refleja alguna propiedad fenotípica del virus, como pudieran ser variantes antigénicas, si bien el virus es antigénicamente similar hasta el momento.

La distribución de los diferentes clados en los países que conforman la región Europea de la OMS es muy variada, destacando en España la alta proporción de clados 19B/S y

20A/G. Este hecho puede deberse a un efecto fundador o a sesgos muestrales (Díez-Fuertes *et al.*, 2020). pero también se ha podido condicionar por la duración de las restricciones de viaje y las diferentes medidas implementadas en cada país. En el caso de restricciones de viaje tempranas probablemente se vería reducida la incidencia temprana y por lo tanto los clados más prevalentes serían los 19A/L/V/O frente a los clados 20A/G que posteriormente se convirtieron en los clados dominantes (Alm E *et al.*, 2020).

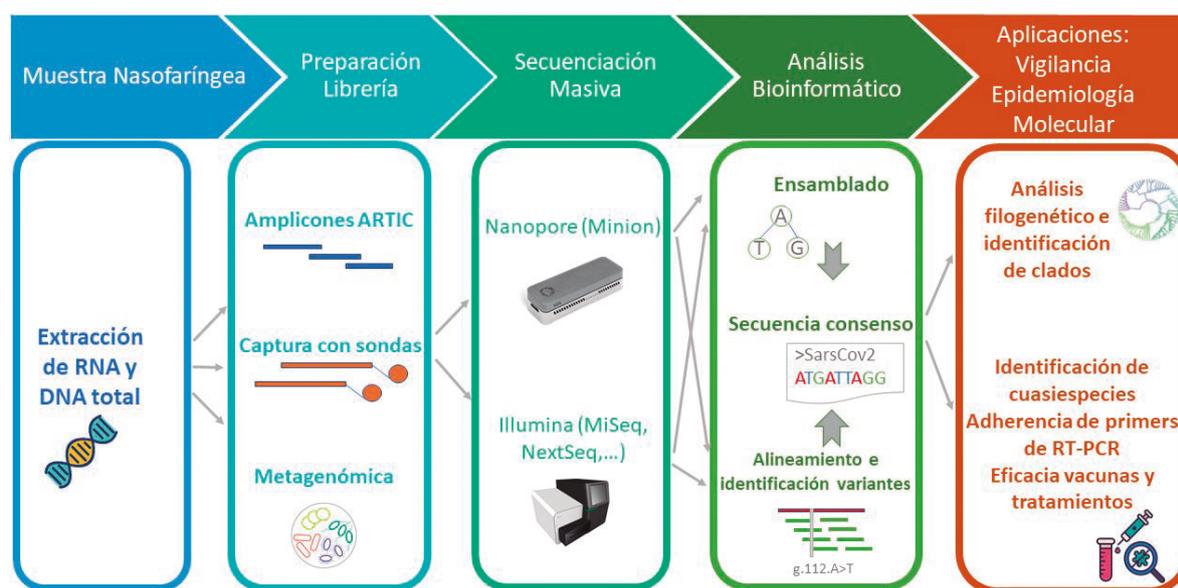


Figura 1. Esquema que resume el uso de la secuenciación del genoma completo en la vigilancia e investigación del SARS-CoV-2.

Esta pandemia ha puesto de manifiesto la importancia de la secuenciación genómica en dos aspectos clave en enfermedades infecciosas, la identificación rápida del patógeno que causa la infección, y su caracterización, seguimiento y evolución que faciliten el control de la infección. El estado de desarrollo de la secuenciación y de su metodología de análisis en las unidades de genómica y bioinformática de los centros de investigación y sanitarios ha facilitado enormemente su aplicación durante esta pandemia, aunque es necesario llegar a protocolos estandarizados y armonizados que permitan la comparación de datos de una forma fidedigna. La vigilancia epidemiológica

molecular se ha consolidado como una herramienta necesaria y decisiva que debe de funcionar de forma unificada a nivel mundial para poder controlar las enfermedades infecciosas.

REFERENCIAS:

- Alm E *et al.*** (2020). Geographical and temporal distribution of SARS-CoV-2 clades in the WHO European Region, January to June 2020. *Eurosurveillance* 25: 32. doi: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001410>.
- Díez-Fuertes F *et al.*** (2020). A founder effect led early SARS-CoV-2 transmission in Spain. *J. Virol.* JVI.01583-20 doi: [10.1128/JVI.01583-20](https://doi.org/10.1128/JVI.01583-20).

Grubaugh ND *et al.* (2019). An amplicon-based sequencing framework for accurately measuring intra-host virus diversity using PrimalSeq and iVar. *Genome Biol.* 20: 8 doi: [10.1186/s13059-018-1618-7](https://doi.org/10.1186/s13059-018-1618-7).

Meleshko D y Korobeynikov A (2020). CoronaSPAdes: from biosynthetic gene clusters to coronaviral assemblies. *bioRxiv*, p. 2020.07.28.224584, doi: [10.1101/2020.07.28.224584](https://doi.org/10.1101/2020.07.28.224584).

van Dorp L *et al.* (2020). Emergence of genomic diversity and recurrent mutations in SARS-CoV-2. *Infect. Genet. Evol.* 83: 104351. doi: [10.1016/j.meegid.2020.104351](https://doi.org/10.1016/j.meegid.2020.104351).

Wu F *et al.* (2020). A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 579: 265–269. doi: [10.1038/s41586-020-2008-3](https://doi.org/10.1038/s41586-020-2008-3).

Xiao M *et al.* (2020). Multiple approaches for massively parallel sequencing of SARS-CoV-2 genomes directly from clinical samples. *Genome Med.* 12: 57 doi: [10.1186/s13073-020-00751-4](https://doi.org/10.1186/s13073-020-00751-4).

Microbiología y cómic: un tándem perfecto

M.ª Blanca Mayor Serrano

Profesora del Máster Propio en Cómic y Educación de la Universitat de València.



Tras la irrupción de la pandemia cóvica en nuestras vidas, no pocos científicos, que a veces ostentan la condición de ilustrador, están informando desde distintas ópticas sobre el tema a la población general a golpe de viñeta¹. Este es el caso, por ejemplo, de Nicolás Peruzzo y Alejandro Rodríguez Juele con *Coco & Fran contra el coronavirus*, los creadores del galardonado *Bacterias: La historia más pequeña jamás contada* y colaboradores habituales de esta revista. Proyecto al que se han sumado investigadores del Área de Microbiología del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) (Uruguay), un microbiólogo del Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Agronomía y una viróloga del Laboratorio de Virología Molecular de la Facultad de Ciencias, ambos también de Uruguay². *Coco & Fran contra el coronavirus* se compone de dos partes: la historietita propiamente dicha, por un lado, y una guía informativa, por otro. La primera aborda a lo largo de doce páginas y de manera lúdica cómo se transmite el coronavirus SARS-CoV-2, así como la importancia y el porqué de las medidas sanitarias adoptadas. La segunda parte, cuya autoría recae en el equipo de científicos del IIBCE, ofrece información relevante y ampliada sobre muchos de los conceptos que aparecen en la historietita.

Jesús Sánchez, Doctor en Biología Molecular, y Jesús Gil-Pulido, Doctor en Inmunología, han creado recientemente un *webcómic*—avalado por la Sociedad Española de Inmunología— que, dividido en tres partes, resume los conocimientos de los que se disponen hasta la fecha sobre la respuesta inmunitaria frente al coronavirus. Así, la primera parte se centra en la respuesta inmunitaria inicial y en cómo se controla la infección en la mayoría de casos (Fig. 1). En la segunda se discute la fase de empeoramiento de los pacientes y cuáles son sus causas inmunitarias. Y la tercera aborda los tratamientos dirigidos a modular el sistema inmunitario.

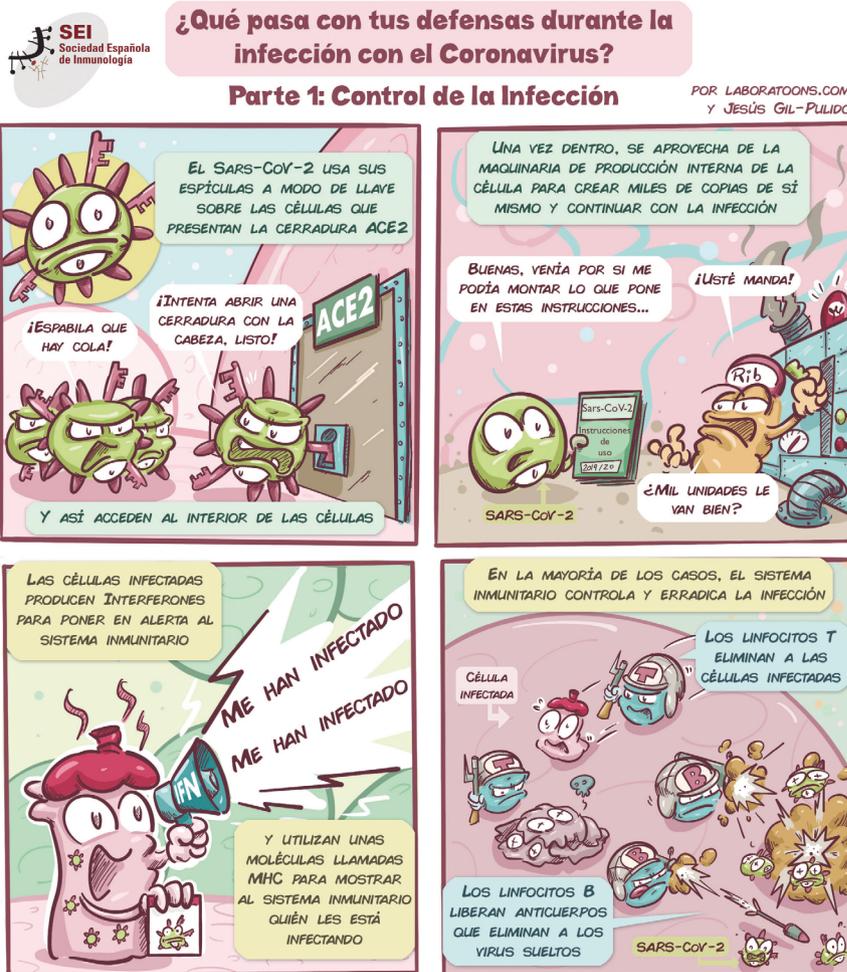


Figura 1. ¿Qué pasa con tus defensas durante la infección con el coronavirus? Parte 1. Cómo funciona la infección. (© 2020 Jesús Sánchez y Jesús Gil-Pulido). Imagen cortesía de los autores.

¿Cómo afecta el coronavirus a los pacientes con cáncer?, también de Jesús Sánchez, es un *webcómic* de la campaña divulgativa mensual *¡SuperJ al rescate! La investigación en clave de cómic*, puesta en marcha en 2017 por la Fundación CRIS Contra el Cáncer con sede en Madrid. El objetivo de los diecisiete cómics publicados hasta ahora, cuyos contenidos son revisados y avalados por el comité científico de CRIS, es dar respuesta a las dudas y preguntas más frecuentes sobre el cáncer, en ocasiones

generadas, como explican en su página web³, por gran cantidad de mitos y medias verdades.

Paloma Fernández Corcuera, psiquiatra del hospital de Mataró (Barcelona), y Julio A. Serrano, ilustrador de la revista *El Jueves*, son los artífices de *No Panicovid. La guía esencial para vencer el pánico al coronavirus. 1. Saliendo de la UCI*, una guía en clave de cómic, publicada en mayo de 2020, destinada a enseñar a los pacientes ingresados por covid-19 a

lidar con las posibles crisis de ansiedad tras su salida de la Unidad de Cuidados Intensivos. La iniciativa ha contado con el aval de la Sociedad Española de Psiquiatría, la Sociedad Catalana de Psiquiatría y Salud Mental, y la Sociedad Catalana de Medicina Intensiva y Crítica.

De qué modo el coronavirus SARS-CoV-2 utiliza nuestras células para replicarse y la importancia de la investigación básica quedan reflejados en el cómic (Fig. 2) de Miriam Rivera, graduada en Biología Humana, Máster en Comunicación Científica, Médica y Ambiental, y responsable de Biomiics ([Biología en cómics](#)).

Conscientes en la actualidad del potencial comunicativo del cómic, cada vez más científicos, entidades públicas y privadas, y dibujantes de cómic asesorados por expertos apuestan por acercar la microbiología a la sociedad a través de la narrativa gráfica. Sirvan como botón de muestra los siguientes materiales. De la Facultad de Matemática, Astronomía y Física (FMAF) de la Universidad Nacional de Córdoba (Argentina) nos llegó en 2015 *Los hilos ocultos del Chagas*, el número seis de la serie de cómics de divulgación *Luz, Cámara, Ciencia: Exploradores de la UNC* concebida en 2013. El cómic tiene como

finalidad acercar la enfermedad de Chagas a sus lectores: qué es, cómo se diagnostica, cómo se previene y qué motivos frenan su erradicación. *El dengador*, serie de tiras cómicas editadas en 2016 por el Ministerio de la Salud de la República Argentina y dirigidas principalmente a la población infantil y juvenil para informarles sobre el dengue, la fiebre de Zika y el chikungunya, y cómo combatir al mosquito que causa estas enfermedades. Publicación que se editó junto a una historieta sobre el mismo tema destinada a los adolescentes con el título de *Ellos ya están aquí y planean una... invasión*. El hilarante a la par que pedagógico *El teatro del cuerpo humano*, de Maris Wicks, editado en España por Norma editorial en 2017. Se trata de un excelente cómic de 223 páginas en el que un esqueleto actúa de presentador de una obra de teatro en la que explica cómo funciona nuestro cuerpo; el capítulo nueve está dedicado al sistema inmunitario. Los recientes episodios *Súper V. A la caza del microbio* y *Súper V. Contra la amenaza invisible*, cómics que forman parte de un proyecto lanzado por la compañía GSK, concebido para que los más pequeños entiendan cómo funcionan las vacunas y la importancia de vacunarse. Y, por citar otro más, el cómic biográfico, de próxima publicación, *Pasteur, la revolución microbiana*, de la *Colección Científicos*, pensado para la población infantojuvenil, que además se acompañará de una guía didáctica.

Y es que el cómic de ciencia, por sus cualidades tanto en el plano visual —antropomorfización, metáforas visuales, elementos ficcionales, personajes y escenarios de lo más variopinto— como en el textual —lenguaje adaptado al discurso de sus destinatarios, oralidad, llamadas al lector, recursos reformulativos—, resulta idóneo para explicar conceptos complejos, abstractos, como los relativos a la microbiología, y, sobre todo, para implicar y motivar al lector (Mayor Serrano, 2016, 2019; Scavone *et al.*, 2019; Joubert, 2020; Kearns *et al.*, 2020). Asimismo, permite captar el interés de un conjunto de individuos que, de otro modo, no se acercarían a obras asociadas a la divulgación científica, pero que «al estar en forma de cómic, no reciben esa calificación y resultan atractivas para este sector del público» (Sáez de Adana, 2004).

Frente a la creencia generalizada —alimentada, sin duda, por la información que se

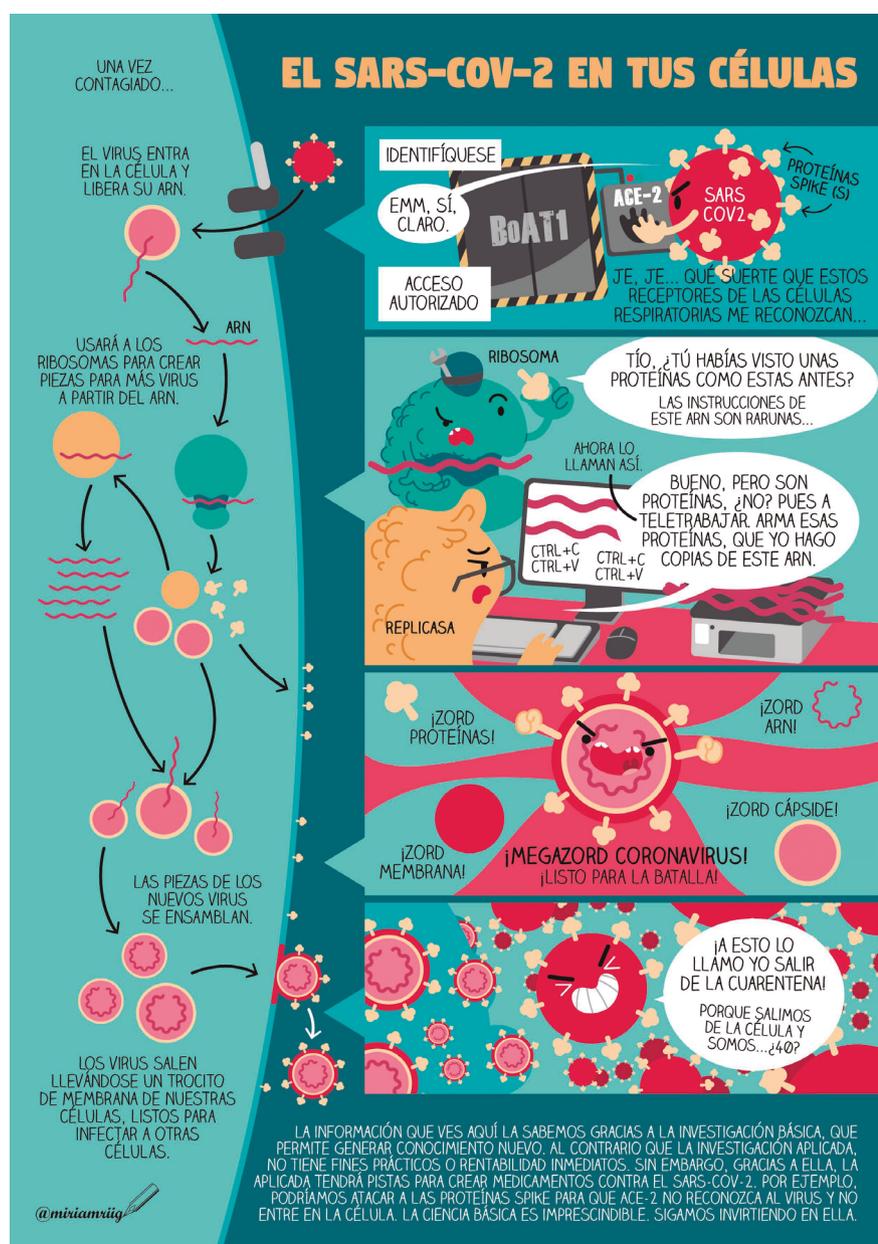


Figura 2. El SARS-CoV-2 en tus células. (© 2020 Miriam Rivera). Imagen cortesía de la autora.

vierte en algunos medios, especialmente en las redes sociales—, el uso del cómic para la divulgación de la ciencia en general y de temas relacionados con la microbiología en particular no es en absoluto un fenómeno de nuestros días. La microbiología y el cómic mantienen una relación bien avenida y prolongada en el tiempo⁴.

Ya en la segunda mitad del siglo XX, encontramos variadas iniciativas dignas de mención. Una de ellas es la serie *Vidas Ilustres* de la editorial mexicana Novaro, que dedicó a través del cómic biográfico gran atención a personajes insignes de la historia de la microbiología. Bajo títulos como *Louis Pasteur. Benefactor de la Humanidad* (1956), *Van Leeuwenhoek. Descubridor de los microbios* (1960), *Edward Jenner* (1961) (Fig. 3), *Koch. El vencedor de la tuberculosis* (1962), *El gran Mechnikov. Domador de microbios* (1970), *Alejandro Fleming. El mago científico que descubrió la penicilina* (1972), *Carlos J. Finlay. El vencedor de la fiebre amarilla* (1973), la vida, la entrega y los logros de estas figuras ilustres se narraban a lo largo de 32 páginas a todo color.

Biografías gráficas noveladas, como las denomina Pons (2015), que, en definitiva, muestran a los protagonistas desde su niñez y se presentan, por regla general, como personas humildes con una gran motivación,

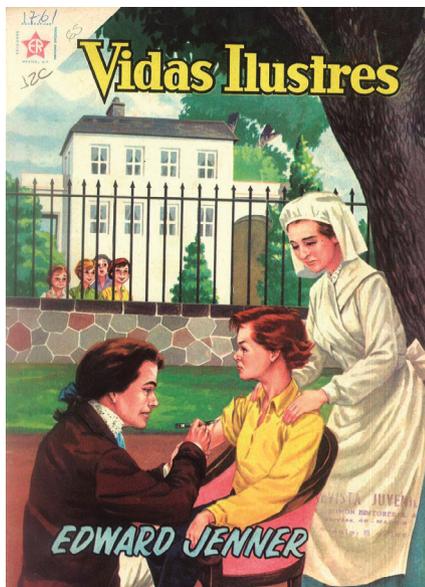


Figura 3. Portada de *Vidas Ilustres: Edward Jenner*. (© 1961 Novaro).

curiosidad y dedicación. Sus vidas son un ejemplo de perseverancia, entrega y abnegación. Y aun cuando el rigor de los datos históricos se vigila con especial cuidado, se traza la vida y la obra de sus personajes de manera muy sencilla, explicando conceptos científicos básicos. Pero no por ello carentes de seducción para los lectores de aquella época, a algunos de los cuales los cómics de Novaro marcaron su futuro, como al científico colombiano Manuel Elkin Patarroyo, merecedor de importantes premios y reconocimientos por haber desarrollado la primera vacuna sintética contra la malaria. En varias ocasiones ha confesado la influencia que las biografías gráficas de la colección *Vidas Ilustres* tuvieron en su niñez, en concreto la de *Louis Pasteur. Benefactor de la Humanidad* (Hansen *et al.*, 2012).

Ahora bien, el fascinante mundo de la microbiología no se acercaba a la población general, en especial a la juvenil, a través de cómics biográficos únicamente. En 1975, los responsables de la publicación mensual de la UNESCO *El Correo*, animados, quizás, por el éxito cosechado por los cómics de la editorial Novaro o por las revistas de cómic estadounidenses con carácter puramente divulgativo, como *Real Life Comics*, *Real Fact Comics*, *Science Comics* y *True Comics*, no solo ilustraron mediante el lenguaje del cómic un número completo dedicado a la microbiología, sino que, además, incluyeron un artículo en formato cómic de ocho páginas: *Don Microbio y su familia numerosa* (Fig. 4). Con él, sus artífices daban a conocer las principales familias de microorganismos y el papel que desempeñan o pueden desempeñar en la vida del ser humano, y todo ello de forma comprensible, rigurosa y hasta divertida. Tanto las viñetas que ilustraban las diversas contribuciones como el artículo fueron obra de una pareja de científicos: Jean-Marie Clément —investigador del Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Francia— y su esposa, Safoura Assia, especializada en genética.

Y no olvidemos el cómic de aventuras con páginas didácticas y divulgativas *Conocimientos del cuerpo humano* —titulado posteriormente *Los invasores del cuerpo humano*— (1975), obra desarrollada por Fernando Fernández Sánchez. Ni *Cómo trabaja tu cuerpo. Viaje en torno a la máquina*

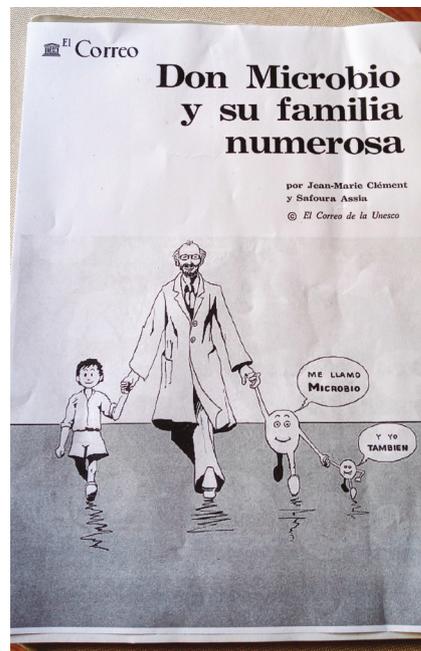


Figura 4. *Don Microbio y su familia numerosa*, por Jean-Marie Clément y Safoura Assia. (© 1975 El Correo de la Unesco).

corporal (Fig. 5), editado en 1976 por Plaza y Janés, traducción del inglés *How your body works* (1975), un libro de corte didáctico destinado a escolares que entremezclaba texto en prosa y cómic, y explicaba el funcionamiento del cuerpo humano a través de coloridas máquinas.

Tal era el convencimiento de no pocos del potencial comunicativo de este medio que no solo se hacía uso del arte secuencial para divulgar y enseñar sobre temas vinculados a la microbiología a la población general, sino también a determinados colectivos. En 1990, en plena pandemia del sida, la Dirección General de la Guardia Civil editó el cómic *Para vivir, hay que prevenir. Que el sida no resida*. ¿Sus destinatarios? Los propios miembros del cuerpo. Con este ameno e instructivo material se les enseñaba qué era el VIH, cuáles eran las vías de transmisión y cómo protegerse frente a él para que nadie enfermara por ignorancia.

Cómics, con magníficas dosis de rigor y entretenimiento, que no constituyen sino la antesala de las innúmeras publicaciones que desde principios del siglo XXI se editan en España y otros países hispanohablantes, y la avanzadilla en el empeño de hacer de



Figura 5. Cómo trabaja tu cuerpo. Viaje en torno a la máquina corporal (©1976 Plaza y Janés).

este medio una herramienta divulgativa a la par que educativa. Y que han demostrado ser, los de antes y los de ahora, un ejercicio extraordinario de divulgación científica, que no de vulgarización, pues “mientras divulga quien sabiendo bien algo lo hace interesante e inteligible a quien no sabe, vulgariza el que rebaja ese conocimiento, si es que lo tiene, a la poca altura intelectual del vulgo. Uno, educa; el otro, empequeñece” (De Arana, 2011).

BIBLIOGRAFÍA

De Arana JI. (2011). Divulgar y vulgarizar. Laboratorio del lenguaje. <https://www.diariomedico.com/opinion/fernando-navarro/divulgar-y-vulgarizar.html>.

Hansen B, Adler BN. (2012). Stories of the Great Chemists. Distillations Magazine. <https://www.sciencehistory.org/distillations/magazine/stories-of-the-great-chemists>.

Joubert M. (2020). Comics and cartoons are a powerful way to teach kids about COVID-19. The Conversation. <https://theconversation.com/comics-and-cartoons-are-a-powerful-way-to-teach-kids-about-covid-19-137910>.

Kearns C, Kearns N. (2020). The role of comics in public health communication during the COVID-19 pandemic. Journal of Visual Communication in Medicine 9:1-11. 10.1080/17453054.2020.1761248.

Mayor Serrano M.ªB. (2016). El cómic como recurso didáctico en los estudios de Medicina. Manual con ejercicios. Núm. 37. Barcelona: Fundación Dr. Antonio Esteve. Versión electrónica disponible en https://www.esteve.org/libros/cuaderno-comic/?doing_wp_cron=1581528556.5097041130065917968750.

Mayor Serrano M.ªB. (2018). Qué es la medicina gráfica. Tebeosfera. Tercera época, 9. https://www.tebeosfera.com/documentos/que_es_la_medicina_grafica.html.

tebeosfera.com/documentos/que_es_la_medicina_grafica.html.

Mayor Serrano M.ªB. (2019). Cómic, o cómo aprender lenguaje médico a golpe de viñetas. En Estopà R. (coord.). Comunicación, lenguaje y salud. Estrategias lingüísticas para mejorar la comunicación con el paciente. Barcelona, Universitat Pompeu Fabra, Institut de Lingüística Aplicada, 107-120.

Pons Á. (2015). De la ciencia al neurocómic. Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular. <http://www.sebbm.com/revista/articulo.asp?id=11516&tipoCom=28&catgrupo=27>.

Sáez de Adana F. (2004). La vida imaginaria del científico. El caso del cómic “Los proyectos de Manhattan”. Mètode 82. https://metode.cat/wp-content/uploads/2014/07/82ES6_vida_imaginaria_cientifico.pdf.

Scavone P, Carrasco V, Umpiérrez A, Morel M, Daniela Arredondo D, Amarelle V. (2019). Microbiología can be comic. FEMS Microbiology Letters 366(14). <https://doi.org/10.1093/femsle/fnz171>.

¹ Remito al interesado en cómics editados en inglés y otros idiomas sobre este campo a la sección “COVID-19 Comics” (<https://www.graphicmedicine.org/covid-19-comics/>) del ciber sitio Graphic Medicine.

² Información obtenida de la página web del Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE) (Uruguay) <http://www.iibce.edu.uy/noticias.htm>.

³ Información obtenida de Fundación Cris Contra el Cáncer. (s.f.). ¡SuperJ al rescate! sale a la calle. <https://criscancer.org/es/superjaguada/>.

⁴ Recomendando la reciente exposición *Virus y epidemias en el cómic*, de Manuel Barrero, el cual ofrece un interesante recorrido —que arranca en la segunda mitad del siglo XVII— por las epidemias y pandemias contadas a golpe de viñeta.

Preparados para la próxima pandemia. Reflexiones desde la ciencia.

Manuel Sánchez Angulo

Autor: Ignacio López-Goñi · 158 páginas · ISBN: 978-84-233-5825-0. Ediciones Destino

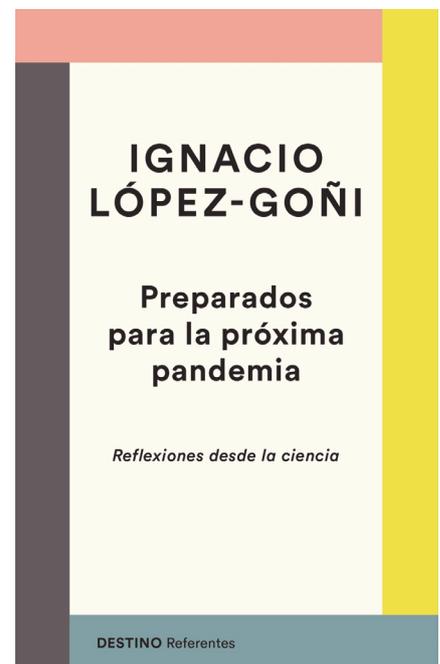
Entre las muchas cosas que hay que reconocerle a Ignacio López-Goñi (Nacho para los amigos) una de ellas es que no para de publicar libros. Durante este 2020 ha sacado la 2ª edición de su best-seller “*Virus y pandemias*” y este pequeño ensayo de once capítulos en el que aprovecha, no solo para plasmar sus impresiones sobre la actual pandemia, sino también sus reflexiones sobre el estado actual de la ciencia, tanto a escala global como nacional.

El primer capítulo responde a la pregunta de si un virus puede cambiar el mundo y lo hace resumiendo cómo el virus SARS-CoV-2 se expandió desde China al resto del mundo debido a los fallos cometidos en los diferentes niveles de decisión: la ocultación del gobierno chino, la politización de la OMS, la lentitud y descoordinación de nuestro gobierno, etc. A continuación, aprenderemos que las pandemias no son algo nuevo, sino que ya han ocurrido en otras épocas pasadas y que sus efectos se han hecho sentir en el devenir histórico de las sociedades humanas. En el tercer capítulo Ignacio nos administra una dosis de optimismo al describirnos cómo la ciencia y la cooperación han permitido que el ser humano venciera a otras enfermedades y que incluso hayamos conseguido erradicar a dos de ellas gracias a las vacunas: la viruela y la peste bovina. Seguidamente nos vuelve a poner los pies en el suelo al mostrarnos los problemas generados por la “ciencia-exprés” con la publicación de documentos científicos

que no han sido revisados, o con el aprovechamiento político de los resultados científicos. Y es que en ciencia, como en muchas otras facetas de la vida, las prisas nunca son buenas.

Tras un capítulo en el que se nos explica mediante veinte consejos cómo funciona la ciencia, se pasa a continuación a comentar la importancia de comunicarla correctamente, no solo a los científicos, sino también al resto de la sociedad gracias a la divulgación científica. Es precisamente ese último problema lo que lleva a Ignacio a discutir el papel esencial de los “líderes” en la gestión de una pandemia como la actual y en la importancia de la transparencia informativa para que la ciudadanía mantenga la confianza, no solo en las autoridades, sino también en los científicos. Y son estos los protagonistas de los capítulos finales que están dedicados a resaltar la importancia de la inversión en ciencia básica para luchar contra las epidemias del futuro, sobre todo gracias a la estrategia de “Una Salud” (*One Health*) que tiene en cuenta la interdependencia entre la salud humana, la animal y los ecosistemas que cohabitan. El ensayo concluye con una recopilación de los aspectos clave de los capítulos previos, pero bajo la luz de una interesante reflexión ética.

Una pequeña obra que se lee de un tirón y que luego debe ser meditada con tranquilidad.



Rosalind Franklin. El secreto de la vida.

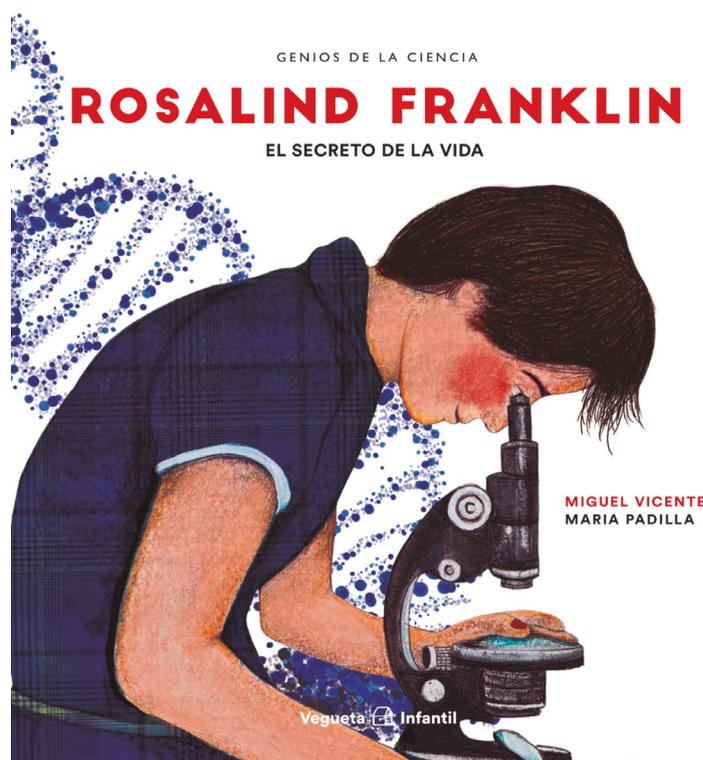
Manuel Sánchez Angulo

Autor: Miguel Vicente. Ilustradora: María Padilla · 36 páginas · ISBN: 978-84-17137-28-1 · Vegueta Ediciones

Si una niña, o un niño, pone la palabra “científicas” en el buscador de internet le aparecerán una serie de listados dedicados a las científicas más famosas de la historia. En todos ellos el nombre de Rosalind Franklin será una constante y generalmente estará situada en uno de los primeros puestos. Si se clikea en cualquiera de esas listas aparecerá una biografía en la que aparecerá una foto en blanco y negro de una joven con el pelo corto, acompañada de un texto más o menos extenso, en el que se podrá leer algo como que fue una de las químicas más influyentes del siglo XX por sus trabajos para dilucidar la estructura del DNA mediante la cristalografía de Rayos X, pero que fue discriminada por ser mujer y sus importantes hallazgos no fueron reconocidos por sus colegas masculinos. Además, murió joven debido a un cáncer de ovario.

Es probable que la niña del principio no comprenda todo lo que está escrito en el texto de internet y que pida ayuda a alguno de sus padres. Quizás alguna de sus preguntas sea qué hacía de niña la chica de la foto en blanco y negro, qué es lo que hizo para llegar a ser científica y por qué alguno de sus compañeros no la trataron bien. El libro escrito por el investigador Miguel Vicente e ilustrado por María Padilla puede que le ayude a resolver alguna de esas preguntas.

Rosalind Franklin, el secreto de la vida es un reciente título de la colección *Genios de la Ciencia* publicada por Vegueta Ediciones. La edición está muy cuidada, en tapa dura de 24x24 centímetros, con ilustraciones a página completa en su mayor parte. El texto se organiza en dos secciones. Por un lado, la historia principal aparece con un tamaño de letra grande y fácil de leer. En los márgenes se han colocado pequeños textos con citas de la propia Rosalind o con explicaciones de diversos conceptos que aparecen en el texto principal. Muchas de esas explicaciones serán de ayuda a los padres que deberán contestar a alguna duda que les surja a los pequeños lectores. Esta obra también



se va a publicar en formato digital y he podido comprobar que la maquetación del texto y las ilustraciones se mantiene.

En cuanto al contenido, sé de primera mano que debía de ser algo más extenso y detallado, pero la editorial lo ha adaptado y simplificado para los lectores infantiles. Debo confesar que no entiendo muy bien esa tendencia actual que asume que, a los actuales niños de 8 a 10 años, les deben de aburrir los textos que llenan toda una página. A causa de esas simplificaciones hay algunos personajes que desaparecen de la historia, como es el caso de Raymond Gosling, el estudiante cuya tesis era dirigida por Rosalind y que fue coautor de la famosa “Foto 51” (su nombre puede leerse en la fotografía histórica que acompaña a la estupenda ilustración de la página 27). También hay algunas pequeñas erratas, como decir que Rosalind estudió el “virus de la patata” en lugar del virus

del mosaico del tabaco, pero no desmerecen la obra en absoluto (en la edición digital todas esas erratas han sido corregidas). Al leer la interesante historia de Rosalind cualquier pequeño lector encontrará que era bastante especial desde pequeña y que poseía diversas cualidades que le permitieron llegar a ser una gran científica y enfrentarse a numerosos obstáculos en una época en la que las mujeres debían demostrar que eran tan validas como cualquier hombre. Pero también encontrará que en muchos aspectos era como una chica más, había cosas que no le gustaban y personas con las que no se llevaba bien, pero también había muchas más cosas que le gustaban como hacer deporte, salir con sus amigas y disfrutar de las chocolatinas de menta.

Una obra para introducir a los pequeños de la casa en el apasionante mundo de la ciencia y la investigación.

¿Estamos solos? En busca de otras vidas en el cosmos

Pepa Antón. Catedrática de Microbiología de la Universidad de Alicante

Autor: Carlos Briones · 560 páginas · ISBN: 978-84-9199-221-9 · Editorial Crítica

“A veces creo que hay vida en otros planetas y a veces pienso que no. En cualquiera de los dos casos, la conclusión es asombrosa.”
Arthur C. Clarke

Este libro es un viaje en busca de seres vivos fuera de la Tierra. Un relato de las distintas misiones espaciales, sus motivaciones, sus objetivos, sus estrategias de búsqueda de vida pasada presente o futura, considerados en un marco que trasciende lo científico. Como indica Javier Armentia en su magnífico prólogo, la obra de Carlos Briones integra también humanidades y artes.

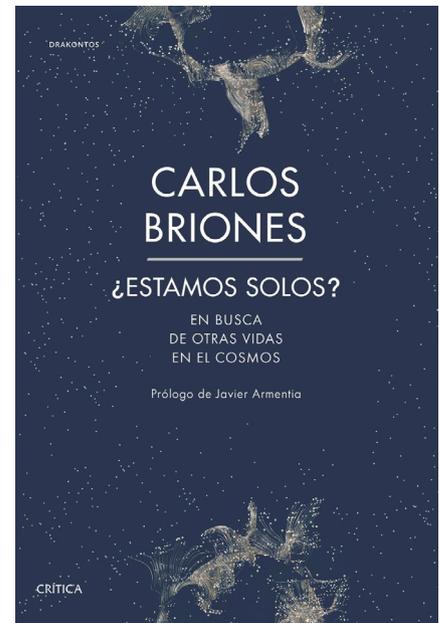
En los primeros capítulos se plantean las preguntas centrales de la Astrobiología, así como aspectos relacionados con el origen de la vida (y la muerte) en la Tierra y cuáles son sus límites conocidos. Se explica la importancia del agua y qué biomarcadores se deben buscar para encontrar vida en otros lugares del universo. Sigue un interesante capítulo sobre protección planetaria y los riesgos de contaminar el Cosmos con biomoléculas y microorganismos terrestres, un tema sin duda de interés para los microbiólogos. Una vez sentadas estas bases, empieza el viaje. Por supuesto, la primera parada es Marte, uno de los destinos que más interés ha despertado en la búsqueda de vida extraterrestre. Continúa la expedición por el resto de los planetas del Sistema Solar y algunas de sus lunas para, finalmente, tras explorar meteoritos y cometas, acabar buscando planetas extrasolares y posibles signos de vida inteligente. A lo largo de estas páginas visitamos

atmósferas de amoníaco congelado, volcanes a más de 1600 grados centígrados, esferas de hielo que encierran océanos de agua líquida, planetas verdeazulados, ríos de metano, nieblas de cianuro, vientos supersónicos...

Al final de cada capítulo, el autor comparte café y conversación con un experto en el tema correspondiente. El libro acaba dialogando con un filósofo, lo que subraya la integración, tan característica del autor, de la ciencia en un marco cultural global.

Briones maneja una cantidad ingente de información totalmente actualizada y la transforma en un relato fluido y ameno, en el que el rigor científico no está reñido con el sentido del humor y un tono en ocasiones muy poético (al que contribuyen las sugerentes ilustraciones de María Lamprecht) y en el que se intercalan referencias al arte y la mitología, curiosidades (¿qué tiene que ver Galileo con Cervantes y Rubens?) y aspectos centrales del pensamiento humano. El libro esconde también una personal guía de ciencia ficción, a través de los comentarios de novelas y películas que, en algunas ocasiones, anticiparon (o incluso se quedaron cortas) futuros avances en la exploración espacial.

La frase de Arthur C. Clarke con la que empieza esta reseña es, en mi opinión, un buen resumen de la impresión que causa la lectura de esta obra que, además de ser un magnífico relato, se convertirá para muchos lectores en un libro de consulta al que volver.



Grupo especializado en la biología de microorganismos patógenos de la Sociedad Española de Microbiología

Oscar Zaragoza Hernández

Presidente del GEBMP

Las enfermedades infecciosas suponen una amenaza constante para prácticamente cualquier ser vivo, incluyendo invertebrados, vertebrados y plantas. La reciente pandemia causada por el virus SARS-CoV-2 es una buena muestra de las consecuencias que estas enfermedades acarrearán y que, en ocasiones pueden alcanzar un nivel global. De todas es conocida la importancia de estas enfermedades en humanos, pero no son menos significativas en el ambiente. Los patógenos de plantas causan pérdidas agrícolas de miles de millones de euros anualmente, por lo que también deben considerarse causantes de efectos negativos que afectan a los humanos. A nivel ambiental, se dan casos recientes de especies que se han extinguido por causa de infecciones debidas a microorganismos patógenos.

Por estas razones, la investigación de microorganismos patógenos es una de las áreas de mayor interés dentro de la Microbiología. Desde hace años, la Sociedad Española de Microbiología cuenta con un grupo especializado en microorganismos patógenos. Originalmente, se denominó Grupo de Microbiología Clínica, siendo el Dr. Ernesto García su último presidente. Al cabo de varios años, tras ganar peso la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) pasó a denominarse Grupo Especializado en la Biología de Microorganismos Patógenos (GEBMP), tomando entonces la presidencia el Dr. Ángel Domínguez. Durante todos estos años, el grupo ha tenido varias reuniones específicas en La Poble de Segur (Lérida), Valencia, Ávila y Badajoz. En el año 2018, y tras la jubilación del Dr. Domínguez, se procedió a la renovación de la Junta Directiva del Grupo, en la que tuve el privilegio de resultar elegido presidente.

La intención de la actual Junta Directiva del GEBMP es que se convierta en un foro de interacción de todos los socios de la Sociedad Española de Microbiología interesados en las enfermedades infecciosas. Aunque el principal foco de interés son los patógenos que causan enfermedad en humanos, también todos aquellos que investigan otra clase de microorganismos, como patógenos de plantas, son bienvenidos a colaborar en las actividades del Grupo.

Además, entendemos que la biología de los microorganismos patógenos es un campo multidisciplinar, por lo que debe atraer a personas con diferente formación, como médicos, biólogos, farmacéuticos y veterinarios, entre otros. Nuestra expectativa es que las actividades del grupo abarquen los principales aspectos de las enfermedades infecciosas, como son las siguientes:

- Investigación básica del modo de vida de microorganismos patógenos.
- Interacción de los microorganismos con sus correspondientes huéspedes, con especial énfasis en la respuesta inmune desarrollada por cada individuo afectado.
- Investigación en nuevas terapias.
- Resistencia a antimicrobianos, como uno de los grandes problemas derivados de los tratamientos usados en clínica, agricultura, etc.
- Aspectos clínicos
- Divulgación y concienciación de la importancia de las enfermedades infecciosas en nuestra sociedad.

Nuestro Grupo y nuestra Sociedad no son las únicas que tienen interés en las enfermedades infecciosas, por lo que consideramos también necesario establecer sinergias con otros ámbitos científicos, como la Socie-

dad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC), Sociedad Española de Inmunología, Sociedad Española de Parasitología y Sociedad Española de Virología, entre otras. La orientación de cada una de ellas es diferente. Así, la SEIMC está claramente orientada a la clínica. Pero desarrollo de cualquier avance de aplicación clínica necesita investigación básica no orientada de calidad. Por ello, creemos que el GEBMP ofrece el marco ideal para que investigadores de diferentes áreas (orientación básica o clínica) puedan interactuar. Es necesario que los científicos de cuya orientación sea investigación no orientada en microorganismos patógenos entiendan los problemas a los que se enfrentan los clínicos, de la misma manera que los estos deben estar al día de los avances en investigación básica y aprovechar la oportunidad que ofrecen para mejorar la vida de las personas.

Aunque la pandemia de la COVID19 ha dificultado la organización de reuniones específicas de los Grupos Especializados de la SEM, la JD del GEBMP ha puesto a disposición de sus socios un correo electrónico para que sirva de mecanismo interacción entre todos (gebmp.sem@gmail.com). Con ello, pretendemos que cualquier socio pueda solicitar información, protocolos, petición de material, o plantear preguntas.

La JD también organizó una serie de webinars (*Patógenos Online*), centrados en algunos de los principales aspectos de la pandemia causada por el SARS-CoV-2. Esta iniciativa ha sido pionera en la SEM, y confiamos en que pueda servir de ejemplo para promover la interacción científica en tiempos en los que la organización de eventos presenciales no es recomendable por la actual situación sanitaria.

El GEBMP ha sido también el encargado en coordinar la participación de la SEM en el congreso COVID19 (<https://congresocovid19.es>) en colaboración con la Sociedad Española de Virología.

Como planteamientos futuros, esperamos que cuando la situación sanitaria lo permita podamos realizar una reunión presencial. Mientras tanto, intentaremos explotar el formato virtual para que los socios puedan interactuar y discutir sobre los principales aspectos de la bio-

logía de patógenos. En cualquier actividad que se plantee, intentaremos que los socios más jóvenes tengan un papel prioritario, para promover la formación de una masa crítica de investigadores en esta área de conocimiento. También confiamos que el futuro de la página web sirva para dar mayor visibilidad y difusión a las actividades del GEBMP.

Confiamos en que el GEBMP sea un foro de interacción entre todos nuestros socios para en las enfermedades infecciosas, en

el que invitamos a participar también a los socios de otros Grupos Especializados con los que compartimos el interés por los microorganismos patógenos. Por ello, animamos a todos los socios que nos hagan propuestas de actividades del Grupo a través del correo electrónico que hemos habilitado. Finalmente, también animamos a otros investigadores de la SEM que tengan interés en los microorganismos patógenos a que se hagan socios del GEBMP y aporten su visión personal en todas las actividades que se planteen.



XXIV CURSO DE INICIACIÓN A LA INVESTIGACIÓN EN MICROBIOLOGÍA

6-9 de julio de 2021, Albacete

Contacto: [Diego A. Moreno \(Diego.Moreno@uclm.es\)](mailto:Diego.A.Moreno@uclm.es)

La Junta Directiva de la SEM ha acordado activar el XXIV Curso de Iniciación a la investigación en Microbiología que se canceló este año por la pandemia. Como estaba previsto se celebrará en Albacete y el coordinador será el Profesor Diego A. Moreno. En breve se informará de la fecha y procedimiento de inscripción. El curso incluye además de las conferencias inaugural y de clausura, 13 ponencias y 2 actividades culturales. Se facilitará el programa completo antes del periodo de inscripción. La selección de los 20 candidatos que asistirán gratuitamente al mismo lo realizará el Grupo de Jóvenes Investigadores de la SEM. En esta ocasión los ponentes incluirán un breve resumen de su trayectoria científica que pueda orientar mejor el futuro profesional de los asistentes, por eso el lema de este curso es "La Microbiología tan diversa como los Microbiólogos". El curso se plantea en un formato presencial en instalaciones que cumplen con la normativa en situación de pandemia. Si las circunstancias no lo permitieran se llevaría a cabo en formato online.

Respuesta celular inmune contra *Shigella flexneri*

Damián Lobato Márquez



Department of Infection Biology, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Londres, Reino Unido.



De izquierda a derecha: Vincezo Torraca, Ana Teresa López Jiménez, Hoan Ngo, Serge Mostowy, Stevens Robertin, Magdalena Bielecka, Margarida Castro Gomes, Damián Lobato Márquez

Un grupo de bacterias patógenas que incluye *Shigella* spp., *Listeria monocytogenes* o *Rickettsia* spp., replican en el citosol de la célula hospedadora infectada donde polimerizan la actina celular y forman “colas de actina”, que propulsan al patógeno permitiendo invadir las células adyacentes (Goldberg, 2001). Para contrarrestar la infección, el huésped dispone no sólo de las respuestas inmune innata y adaptativa mediadas por células especializadas, sino también de respuestas más inmediatas a nivel de la célula hospedadora. En el caso de la infección por *Shigella flexneri*, las células epiteliales del intestino poseen tres mecanismos principales de respuesta celular inmune: autofagia (Ogawa *et al.*, 2005), GBPs (del inglés *guanylate binding proteins*) (Li *et al.*, 2017) y la respuesta celular mediada por septinas (Mostowy *et al.*, 2010).

La autofagia es un sistema de reciclado celular (conservado evolutivamente desde levaduras a mamíferos) que juega un papel crucial en la eliminación de orgánulos celulares dañados, y en la respuesta contra la infección por patógenos bacterianos como *S. flexneri* (Gatica *et al.*, 2018). En el citoplasma de la célula hospedadora, *S. flexneri* es marcada mediante la unión covalente de ubiquitina, que es reconocida por los receptores de autofagia (Mostowy *et al.*, 2011). El sistema de autofagia engloba entonces a *S. flexneri* en vesículas de doble membrana, denominadas autofagosomas, las cuales se fusionan con lisosomas para la destrucción del patógeno (Ogawa *et al.*, 2005).

Las GBPs bloquean la polimerización de actina durante la infección por *S. flexneri*. La motilidad de *S. flexneri* depende de una

proteína transmembrana (denominada IcsA), situada en la membrana externa, que recluta los factores celulares responsables de la polimerización de actina (Egile *et al.*, 1999). IcsA se localiza en uno de los polos bacterianos, y esta localización está facilitada por el lipopolisacárido (Robbins *et al.*, 2001). Las GBPs actúan como surfactante sobre el lipopolisacárido, alterando su estructura y provocando la deslocalización de IcsA (Kutsch *et al.*, 2020). Como resultado, *S. flexneri* pierde su capacidad de polimerizar eficientemente colas de actina, pudiendo así la célula hospedadora restringir la difusión del patógeno.

Las septinas conforman el citoesqueleto celular junto a actina, filamentos intermedios y microtúbulos (Mostowy & Cossart, 2012). En humanos existen 13 genes que codifican

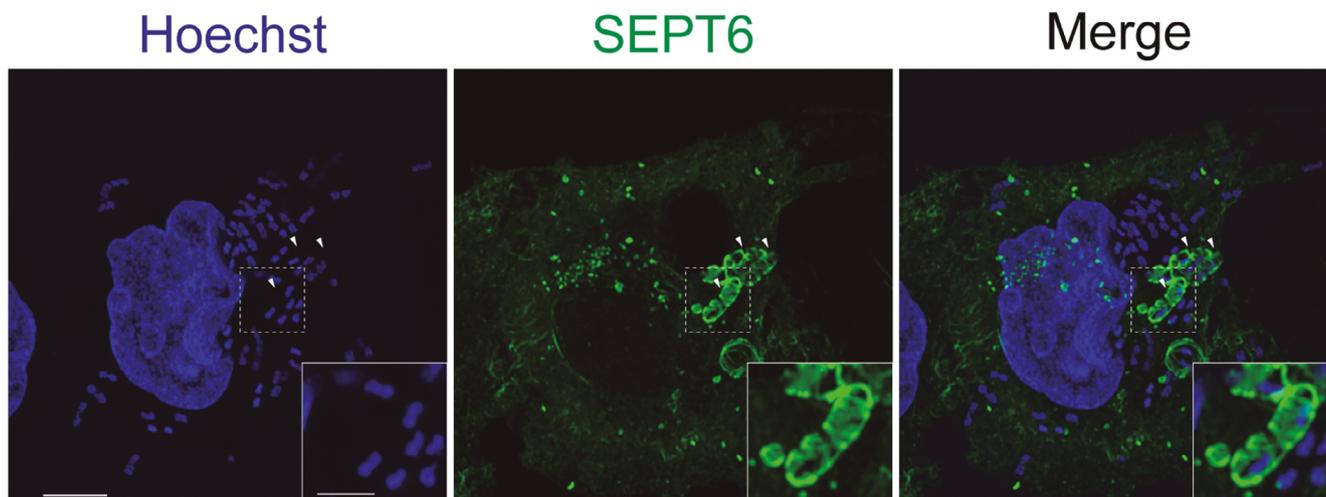


Figura 1. *Shigella* es atrapada en cajas de septina en el citosol de las células epiteliales. Imagen confocal (Airyscan) mostrando una célula HeLa infectada con *S. flexneri* (marcada con Hoechst). Puntas de flecha, bacterias atrapadas en cajas de septina. Escala, 5 μm (magnificación, 2 μm).

septinas, cuyos productos se ensamblan en hetero-oligómeros formando filamentos. Las septinas reconocen la curvatura de membrana a nivel micrométrico (Bridges *et al.*, 2016; Lobato-Márquez & Mostowy, 2016), y juegan un papel fundamental en la citoquinesis celular y en la respuesta contra patógenos bacterianos como *S. flexneri*, *Mycobacterium marinum* o *Pseudomonas aeruginosa* (Mostowy & Cossart, 2012; Mostowy *et al.*, 2010; Krokowski *et al.*, 2018a). Durante la infección de células epiteliales por *S. flexneri*, las septinas atrapan a las bacterias que se encuentran polimerizando actina en lo que se han denominado “cajas de septina” (Mostowy *et al.*, 2010). Las cajas de septina tienen un doble papel antimicrobiano: (1) bloquean la polimerización de actina, impidiendo así que la bacteria infecte las células adyacentes (Figura 1); y (2) las bacterias atrapadas en estas estructuras son marcadas para degradación por autofagia (Sirianni *et al.*, 2016; Krokowski *et al.*, 2018b). Por ello, estas estructuras pueden considerarse como “jaulas antimicrobianas”. Para entender como las cajas septinas se fusionan con los autofagosomas / lisosomas en el citosol de la célula infectada, estamos investigando este proceso mediante crio-tomografía de rayos X de baja energía. Este estudio pionero lo llevamos a cabo en colaboración con José Javier Coneja (CNB-CSIC, Madrid) y el sincrotrón ALBA (Barcelona).

Recientemente hemos descubierto que la curvatura de membrana y el lípido cardiolipina, situado en el polo de *S. flexneri*, son importantes para el reconocimiento por septinas (Krokowski *et al.*, 2018). Sin embargo, nuestros datos indican que estos no son los únicos factores que median la interacción septina-*Shigella*. Esta es una pregunta que, dada la complejidad del ambiente intracelular, ha sido imposible responder usando células en cultivo. La biología sintética permite estudiar de manera simplificada procesos biológicos que tienen lugar en ambientes bioquímicamente complejos. Los ensayos *in vitro* (*bottom-up*) han permitido comprender procesos tan importantes como la replicación del DNA o la polimerización de colas de actina por patógenos bacterianos (Kornberg, 1960; Welch *et al.*, 1997). Recientemente, hemos desarrollado un ensayo *in vitro* con el cual podemos reconstituir cajas de septina en el tubo de ensayo usando complejos de septina purificados. Con este ensayo hemos descubierto que la capacidad de las septinas para reconocer a *Shigella* depende del crecimiento bacteriano. En colaboración con el grupo del Prof. Martin Pilhofer (ETH, Zürich) estamos combinando nuestro ensayo *in vitro* con crio-tomografía electrónica. Esta aproximación nos ha permitido visualizar, por primera vez y a escala nanométrica, septinas interaccionando con la superficie bacteriana. Datos preliminares indican que los filamentos de septina se

ensamblan a modo de “alambre de espino” sobre la superficie bacteriana.

Nuestro ensayo de reconstitución de cajas de septina *in vitro*, supone una plataforma ideal con la cual estamos estudiando qué factores celulares y bacterianos modulan el ensamblaje de las cajas de septina durante la infección por *Shigella*. En cuanto a la respuesta inmune mediada por septinas contra otras bacterias, *Listeria* no es atrapada en cajas de septina, y nada se sabe sobre *Rickettsia*. Usando nuestro ensayo *in vitro*, podemos investigar cómo *Listeria* escapa de este mecanismo inmune y si *Rickettsia* es o no reconocida por septinas. Entender como las células responden a la infección por este tipo de bacterias patógenas, puede ayudar a desarrollar nuevas terapias antimicrobianas.

AGRADECIMIENTOS

D.L.-M. ha sido financiado por el programa de investigación e innovación Marie Skłodowska-Curie de la Unión Europea (Horizonte 2020) bajo el código H2020-MSCA-IF-2016-752022, y el sincrotrón ALBA. El laboratorio de Serge Mostowy está financiado por el European Research Council Consolidator Grant (772853-ENTRAPMENT), Wellcome Trust Senior Research Fellowship (206444/Z/17/Z), y el Instituto Lister de Medicina Preventiva.

BIBLIOGRAFÍA

- Bridges A.A., Jentsch M.S., Oakes P.W., Occhipinti P. & Gladfelder, A.S. (2016).** Micron-scale plasma membrane curvature is recognized by the septin cytoskeleton. *J. Cell Biol.* 213: 23–32.
- Egile C., Loisel T.P., Laurent V., Li R., Pantaloni D., Sansonetti P.J. & Carlier M. F. (1999)** Activation of the CDC42 effector N-WASP by the *Shigella flexneri* IcsA protein promotes actin nucleation by Arp2/3 complex and bacterial actin-based motility. *J Cell Biol.* 146: 1319–1332.
- Gatica D., Lahiri V. & Klionsky D.J. (2018)** Cargo recognition and degradation by selective autophagy. *Nat Cell Biol.* 20: 233–242.
- Goldberg M. B. (2001).** Actin-based motility of intracellular microbial pathogens. *Microbiol Biol Rev: MMBR*, 65(4), 595–626.
- Kornberg A. (1960)** Biologic synthesis of deoxyribonucleic acid. *Science*, 131: 1503–1508.
- Krokowski S., Lobato-Márquez D., Chastanet A., Matos-Pereira P., Angelis D., Galea D., Larrouy-Maumus G., Henriques R., Spiliotis E.T., Carballido-López R. & Mostowy S. (2018a)** Septins recognize and entrap dividing bacterial cells for delivery to lysosomes. *Cell Host Microbe*, 24: 866–874.
- Krokowski S*, Lobato-Márquez D*, Mostowy S. (2018b)** Mitochondria promote septin assembly into cages that entrap *Shigella* for autophagy. *Autophagy*, 14 (5): 913–914. * equal contribution.
- Kutsch M., Sistemich L., Lesser C. F., Goldberg M.B., Herrmann C. & Coers, J. (2020)** Direct binding of polymeric GBP1 to LPS disrupts bacterial cell envelope functions. *EMBO J*, 39, e104926.
- Li, P. et al. (2017)** Ubiquitination and degradation of GBPs by a *Shigella* effector to suppress host defence. *Nature*, 551: 378–383.
- Lobato-Márquez D. & Mostowy S. (2016)** Septins recognize micron-scale membrane curvature. *J Cell Biol.* 213(1): 5–6.
- Mostowy S., Bonazzi M., Hamon M.A., Tham T.N., Mallet A., Lelek M., Gouin E., Demangel C., Brosch R., Zimmer C., Sartori A., Kinoshita M., Lecuit M. & Cossart P. (2010).** Entrapment of intracytosolic bacteria by septin cage-like structures. *Cell Host Microbe*, 8: 433–444.
- Mostowy S., Sancho-Shimizu V., Hamon M.A., Si-meone R., Brosch R., Johansen T. & Cossart P. (2011)** p62 and NDP52 Proteins Target intracytosolic *Shigella* and *Listeria* to different autophagy pathways. *J Biol Chem*, 286(30): 26987–26995.
- Ogawa M., Yoshimori T., Suzuki T., Sagara H., Mizushima N. & Sasakawa C. (2005)** Escape of Intracellular *Shigella* from Autophagy. *Science*, 307: 727–731.
- Robbins J.R., Monack D., McCallum S.J., Vegas A., Pham E., Goldberg M.A. & Theriot J.A. (2001)** The making of a gradient: IcsA (VirG) polarity in *Shigella flexneri*. *Mol Microbiol.* 41(4): 861–872.
- Sirianni A., Krokowski S., Lobato-Márquez D., Buranyi S., Pfanzelter J., Galea D., Willis A., Culley S., Henriques R., Larrouy-Maumus G., Hollinshead M., Sancho-Shimizu V., Way M. & Mostowy S. (2016)** Mitochondria mediate septin cage assembly to promote autophagy of *Shigella*. *EMBO Rep*, 17: 1–15.
- Welch M.D., Iwamatsu A. & Mitchison T.J. (1997)** Actin polymerization is induced by Arp2/3 protein complex at the surface of *Listeria monocytogenes*. *Nature*, 385: 265–269.

Grupo de inmunología de las infecciones fúngicas

María Luisa Gil y Alberto Yáñez



Departamento de Microbiología y Ecología, e Instituto de Biotecnología y Biomedicina (BIOTECMED), Universitat de València



(De izquierda a derecha): Daniel Gozalbo, María Luisa Gil, Paula Guerrero, Cristina Bono, Alberto Yáñez y Javier Megías.

El grupo de investigación dirigido actualmente por María Luisa Gil y Alberto Yáñez, denominado “Inmunología de las infecciones fúngicas”, ha centrado su investigación, durante los últimos quince años, en el estudio de la respuesta inmunitaria del hospedador frente a *Candida albicans*. El grupo tiene formación multidisciplinar, tanto en el área de Microbiología como de Inmunología, por lo que presenta un perfil idóneo para estudiar las interacciones entre los hongos patógenos y las células del sistema inmunitario tanto *in vitro* como *in vivo*. Aunque la investigación realizada es fundamentalmente de carácter básico, tiene un claro potencial aplicado en el desarrollo de nuevas aproximaciones inmunoterapéuticas para el tratamiento de las infecciones fúngicas.

C. albicans es un patógeno oportunista que, dependiendo del defecto subyacente del hospedador, es capaz de causar una

variedad de infecciones que van desde las candidiasis superficiales mucocutáneas a graves candidiasis invasivas. La frecuencia y gravedad de éstas últimas ha aumentado considerablemente en las últimas décadas, debido al aumento de la población de riesgo inmunodeprimida o debilitada por diferentes causas.

La resistencia a las candidiasis requiere la acción coordinada de las defensas inmunitarias innatas y adquiridas. Las células maduras del sistema inmunitario innato utilizan diferentes receptores PRRs (receptores de reconocimiento de patrones) para reconocer directamente MAMPs (patrones moleculares asociados a microorganismos), de manera que con un número limitado de estos receptores pueden reconocer una gran diversidad de agentes patógenos. Las familias de PRRs más importantes en el reconocimiento de *C. albicans* son los receptores tipo Toll (TLRs) y las

lectinas tipo C (CLRs, como la dectina-1). En este contexto, nuestro grupo demostró que el receptor TLR2 está implicado en el reconocimiento de *C. albicans*, tanto levaduras como hifas, induciendo la secreción de citocinas y quimiocinas a través de una vía dependiente de la molécula adaptadora MyD88 y que dicho reconocimiento es crítico para la protección frente a la candidiasis invasiva en un modelo de infección en ratón.

En el año 2006 se describió que las células madre y progenitoras hematopoyéticas (HSPCs), de los que derivan todas las células del sistema inmunitario, expresan TLRs funcionales, y que la señalización vía TLRs en las células madre hematopoyéticas (HSCs) provoca su entrada en ciclo celular y su diferenciación hacia el linaje mielóide. Este descubrimiento abrió nuevas perspectivas en cuanto a las interacciones patógeno-hospedador, ya que estos receptores podrían parti-

cipar en la modulación de la hematopoyesis en respuesta a los microorganismos durante una infección. En aquel momento nuestro grupo decidió estudiar la participación de los PRRs en la interacción de *C. albicans* con las HSPCs y sus consecuencias en la resolución de la infección. Trabajando en esta línea hemos demostrado que *C. albicans* induce la proliferación de HSPCs y su diferenciación hacia el linaje mieloide, tanto *in vitro* como *in vivo*. Esta respuesta requiere la señalización vía TLR2 y dectina-1, y da lugar a macrófagos funcionales que son capaces de internalizar y destruir levaduras, además de secretar citoquinas inflamatorias. Estos resultados indican que los patógenos pueden ser directamente reconocidos por las HSPCs a través de los PRRs, promoviendo así la capacidad de reaprovisionamiento del sistema inmunitario innato durante una infección. Por lo tanto, estos receptores podrían ser, al menos en parte, responsables de la mielopoyesis de emergencia que ocurre durante la mayoría de las infecciones, incluidas las candidiasis invasivas (Fig. 1).

Por otra parte, numerosos estudios recientes han puesto en duda el dogma de que la memoria inmunológica es una característica

exclusiva de la inmunidad específica, ya que células de la inmunidad innata pueden exhibir cierta “memoria” y responder de forma diferente frente a un segundo encuentro con el mismo u otro estímulo microbiano. Por ejemplo, la exposición de monocitos y macrófagos a *C. albicans* aumenta su respuesta frente a un segundo encuentro (inmunidad entrenada, dependiente de dectina-1), mientras que ligandos de TLR4 o TLR2 confieren una menor respuesta inflamatoria a los macrófagos (tolerancia).

Paralelamente a los estudios sobre memoria de la inmunidad innata, nuestro grupo se planteó como nuevo objetivo estudiar la función de los fagocitos formados tras el contacto de las HSPCs con ligandos microbianos. Utilizando modelos *in vitro* e *in vivo* hemos demostrado que la estimulación de PRRs en las HSPCs afecta al fenotipo funcional de los macrófagos que generan posteriormente. Por lo tanto, nuestros resultados muestran que este nuevo concepto de “memoria” de la inmunidad innata puede aplicarse, no solo a las células mieloides maduras, sino también a las HSPCs, lo que contribuye a aumentar la durabilidad de la memoria innata en el tiempo (Fig. 1).

En base a estos resultados, y a los de otros autores en esta misma línea, actualmente se asigna un papel activo a las HSPCs en la lucha contra la infección. La hipótesis en la que trabajamos actualmente es que las HSPCs pueden detectar directamente a los microorganismos y contribuir a la protección frente a la infección por diferentes mecanismos, incluyendo su capacidad de diferenciarse a células mieloides con un fenotipo mejorado para hacer frente al patógeno e iniciar la respuesta inmunitaria.

Los resultados ya obtenidos abren nuevas perspectivas que pueden ser de gran interés en la intersección entre la Inmunología, la Microbiología y la Hematología. La existencia de nuevos mecanismos en la interacción hospedador-patógeno, y sus consecuencias en la modulación de la respuesta inmunitaria durante la infección, puede representar una nueva diana para la intervención frente a las infecciones graves potenciando la respuesta inmunitaria. Además, la modulación de la hematopoyesis por microorganismos podría desvelar nuevas estrategias para el tratamiento de enfermedades con alteraciones en la producción de células mieloides, como las leucemias mieloides.

Durante los últimos años nuestro grupo está colaborando con otros grupos de investigación que tienen intereses científicos comunes, entre los que cabe destacar la colaboración con Helen Goodridge (Cedars-Sinai Medical Center, Los Angeles, CA, USA) y H. Leighton (Lee) Grimes (Cincinnati Children’s Hospital Medical Center, Cincinnati, OH, USA).

Las publicaciones más relevantes del grupo en los últimos años se indican a continuación.

BIBLIOGRAFÍA

- Yáñez A, Murciano C, O’Connor JE, Gozalbo D and Gil ML. (2009).** *Candida albicans* triggers proliferation and differentiation of hematopoietic stem and progenitor cells by a MyD88-dependent signaling. *Microbes Infect* 11: 531-535.
- Yáñez A, Flores A, Murciano C, O’Connor JE, Gozalbo D and Gil ML. (2010).** Signalling through TLR2/MyD88 induces differentiation of murine bone marrow stem and progenitor cells to functional phagocytes in response to *Candida albicans*. *Cell Microbiol* 12: 114-128.
- Yáñez A, Megías J, O’Connor JE, Gozalbo D and Gil ML. (2011).** *Candida albicans* induces selective

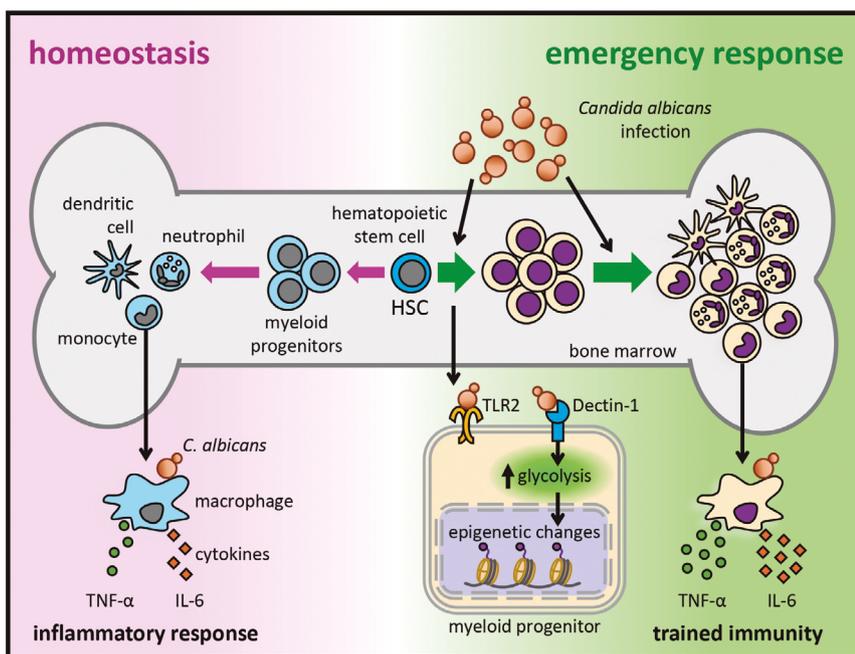


Figura 1. Efecto de la infección por *Candida albicans* en la hematopoyesis. *C. albicans* induce la diferenciación de HSPCs hacia el linaje mieloide. Esta respuesta requiere la señalización vía TLR2 y dectina-1, y da lugar a macrófagos “entrenados” (con cambios metabólicos y epigenéticos) que son capaces de secretar mayor cantidad de citoquinas inflamatorias.

- development of macrophages and monocyte derived dendritic cells by a TLR2 dependent signalling. *PLoS One* 6: e24761.
- Megías J, Yáñez A, Moriano S, O'Connor JE, Gozalbo D and Gil ML. (2012).** Direct Toll-like receptor-mediated stimulation of hematopoietic stem and progenitor cells occurs in vivo and promotes differentiation toward macrophages. *Stem Cells* 30: 1486-1495.
- Megías J, Maneu V, Salvador P, Gozalbo D and Gil ML. (2012).** *Candida albicans* stimulates in vivo differentiation of haematopoietic stem and progenitor cells towards macrophages by a TLR2-dependent signalling. *Cell Microbiol* 15: 1143-1153.
- Yáñez A, Goodridge HS, Gozalbo D and Gil ML. (2013).** TLRs control hematopoiesis during infection. *Eur J Immunol* 43: 2526-2533.
- Yáñez A, Hassanzadeh-Kiabi N, Ng MY, Megías J, Subramanian A, Liu GY, Underhill DM, Gil ML and Goodridge HS. (2013).** Detection of a TLR2 agonist by hematopoietic stem and progenitor cells impacts the function of the macrophages they produce. *Eur J Immunol* 43: 2114-2125.
- Gil ML, Murciano C, Yáñez A and Gozalbo D. (2016).** Role of Toll-like receptors in systemic *Candida albicans* infections. *Front Biosci* 21: 278-302.
- Megías J, Martínez A, Yáñez A, Goodridge HS, Gozalbo D and Gil ML. (2016).** TLR2, TLR4 and Dectin-1 signalling in hematopoietic stem and progenitor cells determines the antifungal phenotype of the macrophages they produce. *Microbes Infect* 18: 354-363.
- Martínez A, Bono C, Megías J, Yáñez A, Gozalbo D and Gil ML. (2017).** PRR signaling during in vitro macrophage differentiation from progenitors modulates their subsequent response to inflammatory stimuli. *Eur Cytokine Netw* 28:102-110.
- Gozalbo D, Murciano C and Gil ML. (2017).** Immune response to *Candida albicans* infection. In: Reference Module in Life Sciences. Elsevier, ISBN: 978-0-12-809633-8, <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.12075-8>.
- Yáñez A, Coetzee SG, Olsson A, Muench DE, Berman BP, Hazelett DJ, Salomonis N, Grimes HL, Goodridge HS. (2017).** Granulocyte-Monocyte Progenitors and Monocyte-Dendritic Cell Progenitors Independently Produce Functionally Distinct Monocytes. *Immunity*. 47: 890-902.e4.
- Martínez A, Bono C, Megías J, Yáñez A, Gozalbo D and Gil ML. (2018).** Systemic candidiasis and TLR2 agonist exposure impacts the antifungal response of hematopoietic stem and progenitor cells. *Front Cell Infect Microbiol* 8:309.
- Yáñez A, Murciano C, Gil ML and Gozalbo D (2019).** Immune response to *Candida albicans* infection. Encyclopedia of Mycology. Reference Module in Life Sciences. Chapter 10013 Elsevier.
- Bono C, Martínez A, Megías J, , Gozalbo D, Yáñez A and Gil ML (2020).** Dectin-1 stimulation of hematopoietic stem and progenitor cells occurs in vivo and promotes differentiation toward trained macrophages via an indirect cell-autonomous mechanism. *mBio* 23:11(3):e00781-20.
- Martínez A, Bono C, Gozalbo D, Goodridge HS, Gil ML and Yáñez A. (2020).** TLR2 and Dectin-1 signalling in mouse hematopoietic stem and progenitor cells impacts the ability of the antigen presenting cells they produce to activate CD4 T cells. *Cells* 9:1317.

Bases moleculares de la acción de antimicrobianos en estreptococos

Adela González de la Campa



Unidad de Genética Bacteriana, Centro Nacional de Microbiología, Instituto de Salud Carlos III, Crtra Majadahonda-Pozuelo Km 2, 28220 Madrid



De izquierda a derecha. Detrás: María José Ferrándiz, Mónica Amblar, Adela González de la Campa, María Teresa García. Delante: Miriam García López, Patricia Rabanal. En foto adicional, Antonio Alexandre de Vasconcelos.

El grupo está formado por un Investigador Científico del CSIC (Adela González de la Campa), dos Científicas Titulares del ISCIII (María José Ferrándiz y Mónica Amblar), una profesora titular de la UCM (María Teresa García), dos estudiantes de doctorado (Miriam García López, Antonio Alexandre de Vasconcelos) y una estudiante de TFG (Patricia Rabanal).

Los objetivos del grupo son conocer las bases moleculares de la acción de antimicrobianos así como caracterizar nuevos compuestos y nuevas dianas terapéuticas. El grupo estudia estos aspectos en bacterias patógenas Gram-positivas, especialmente *Streptococcus pneumoniae* (SPN), mediante una combinación de estudios básicos y otros más aplicados (epidemiología molecular, emergencia *in vivo* de resistencia). Hemos estudiado tanto antimicrobianos utilizados para el diagnóstico (optoquina) como otros

utilizados en el tratamiento de infecciones (principalmente las fluoroquinolonas levofloxacina y moxifloxacina). También nuevos compuestos, como la seconeolitsina, dirigidos a una nueva diana, la DNA topoisomerasa I (Topol).

Hemos estudiado la organización topológica del cromosoma de SPN. El cromosoma presenta una compactación (de hasta 1000-veces) óptima para armonizar su replicación, segregación cromosómica y expresión génica. Dicha compactación está mediada tanto por el nivel de superenrollamiento del DNA (SC) como por la asociación de proteínas de unión al nucleóide (NAPs). El nivel de SC en SPN depende principalmente de las actividades enzimáticas de sus DNA topoisomerasas: topoisomerasas que disminuyen es SC (Topol y TopoIV), y girasa que aumenta el SC negativo. Las fluoroquinolonas

(FQs) inhiben la girasa y la Topo IV formado un complejo ternario enzima-DNA-FQ que produce roturas de cadena doble en el DNA. La resistencia a FQs se origina principalmente por la alteración de sus dianas moleculares, bien por mutación puntual o por transferencia horizontal intraespecífica o interespecífica con estreptococos comensales. La expulsión de FQs fuera de la célula juega también un papel en la resistencia en SPN. Hemos demostrado que alteraciones en una estructura de tipo tallo-lazo localizada en posición 3' de *patAB*, que codifica un transportador de tipo ABC, confieren expresión aumentada de dichos genes e incremento de la resistencia a FQs.

El genoma de SPN es relativamente pequeño (~2 Mb), rico en AT (60%), y codifica muy pocas NAPs. Nosotros hemos caracterizado la proteína HU, la única NAP descrita en SPN, que contribuye a la compactación cromosó-

mica. El cromosoma se organiza en varios niveles de compactación según el tamaño de las unidades que los constituyen: macrodominios (rango de megabase) y dominios de SC (rango de Kb, bucles aislados). La disponibilidad de fármacos que inhiben cada una de las topoisomerasas de SPN, nos ha permitido analizar el transcriptoma de SPN en condiciones de cambio local o global del nivel de SC.

Los cambios locales en SC inducidos por las FQs inducen alteraciones en el transcriptoma que afectan al 5.2% (levofloxacina) y 6.5% (moxifloxacina) del genoma. Ambas FQs, regulando la transcripción de genes de rutas metabólicas diferentes, producen un incremento de especies reactivas de oxígeno (ROS) que contribuyen a su letalidad, de acuerdo con el modelo general de acción de antibióticos bactericidas. Estas ROS son fundamentales en el efecto post-antibiótico de las FQs.

La inducción de cambios globales en SC por novobiocina (inhibidor de la subunidad GyrB de la girasa), o por seconeolitsina (inhibidor de TopoI), nos ha permitido definir dominios de SC. En estos dominios, todos los genes tienen transcripción coordinada y funciones similares, independientemente de su dirección de transcripción. La disminución del SC mediada por novobiocina afecta al 37% del genoma. La mayoría de estos genes (>68%) se agrupan en 15 dominios de SC. El incremento del SC mediado por seconeolitsina afecta al 10% del genoma, con 25% de los genes agrupados en 12 dominios. Los dominios definidos en estas situaciones opuestas solapan en su mayoría, lo que indica que el cromosoma está organizado en dominios de SC con localización fija.

Según su respuesta a disminución de SC, el cromosoma de SPN está organizado en 5 tipos de dominios: activados (UP), inhibidos (DOWN), no regulados con posición conservada (pcNR), no regulados con posición variable (pvNR), y ricos en AT (ATr). El contenido en AT en el genoma se correlaciona con los dominios, siendo más alto en los dominios UP que en los DOWN. Los dominios ATr contienen los genes menos transcritos y podrían tener una función estructural. Los genes de los diferentes dominios muestran características funcionales específicas, lo que sugiere que han estado sometidos a una presión selectiva de carácter topológico que ha llevado a definir la localización de genes implicados en metabolismo, virulencia y competencia.

Los cambios globales del SC incluyen la regulación de los genes de sus topoisomerasas: su disminución activa la transcripción de los genes de la girasa (*gyrA*, *gyrB*) e inhibe los de la de TopoIV (*parEC*) y la TopoI (*topA*); el aumento del SC regula la expresión de *topA*. La transcripción de *gyrB* y *topA* está regulada por su localización estratégica en el cromosoma en dominios: *topA* en un dominio DOWN y *gyrB* en un dominio UP. Sin embargo, la transcripción de *parEC* (TopoIV) y de *gyrA* depende de señales específicas en sus regiones promotoras. La región promotora de *gyrA* presenta una curvatura intrínseca que actúa como un activador *per se* y es un sensor del nivel de SC, que regula su transcripción. Además, Topo I se une a la curvatura del promotor de *gyrA*. Por tanto, Topo I, cuya transcripción está regulada por niveles de SC, parece ser el elemento clave en la regulación de la expresión de *gyrA*.

PUBLICACIONES RECIENTES REPRESENTATIVAS DEL GRUPO

- Ferrándiz MJ, de la Campa AG. (2014).** The fluoroquinolone levofloxacin triggers the transcriptional activation of iron transport genes that contributes to cell death in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 58:247-257.
- Domenech A, Tirado-Vélez JM, Fenoll A, Ardanuy C, Yuste J, Liñares J, de la Campa AG. (2014).** Fluoroquinolone-resistant pneumococci: dynamics of serotypes and clones in Spain in 2012 compared with those from 2002 and 2006. *Antimicrob Agents Chemother.* 58:2393-2399.
- Ferrándiz MJ, Arnanz C, Martín-Galiano AJ, Rodríguez C, de la Campa AG. (2014).** Role of global and local topology in the regulation of gene expression in *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS ONE.* 9: e101574
- Ferrándiz MJ, Martín-Galiano AJ, Arnanz C, Zimmerman T, de la Campa AG. (2016).** Reactive oxygen species contribute to the bactericidal effects of the fluoroquinolone moxifloxacin in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 60:409-417
- Ferrándiz MJ, Martín-Galiano AJ, Arnanz C, Camacho-Soguero I, Tirado-Vélez JM, de la Campa AG. (2016).** An increase in negative supercoiling in bacteria reveals topology-reacting gene clusters and a homeostatic response mediated by the DNA topoisomerase I gene. *Nucl Acids Res.* 44:7292-7303 (2016).
- Brito L, Wilton J, Ferrándiz MJ, Gómez-Sanz A, de la Campa AG, Amblar M. (2017).** Absence of tmRNA has a protective effect against fluoroquinolones in *Streptococcus pneumoniae*. *Front Microbiol.* 7:2164.
- Martín-Galiano AJ, Ferrándiz MJ, de la Campa AG. (2017).** Bridging chromosomal architecture and pathophysiology of *Streptococcus pneumoniae*. *Genome Biol Evol.* 9:350-361.
- Alvarado M, Martín-Galiano AJ, Ferrándiz MJ, Zaballos A, de la Campa AG. (2017).** Upregulation of the PatAB transporter confers fluoroquinolone resistance to *Streptococcus pseudopneumoniae*. *Front Microbiol.* 8:2074.
- Ferrándiz MJ, Carreño D, Ayora S, de la Campa AG. (2018).** HU of *Streptococcus pneumoniae* is essential for the preservation of DNA supercoiling. *Front Microbiol.* 9:493
- García MT, Valenzuela MV, Ferrándiz MJ, de la Campa AG. (2019).** Reactive oxygen species production is a major factor directing the post-antibiotic effect of fluoroquinolones in *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 63:e00737-19

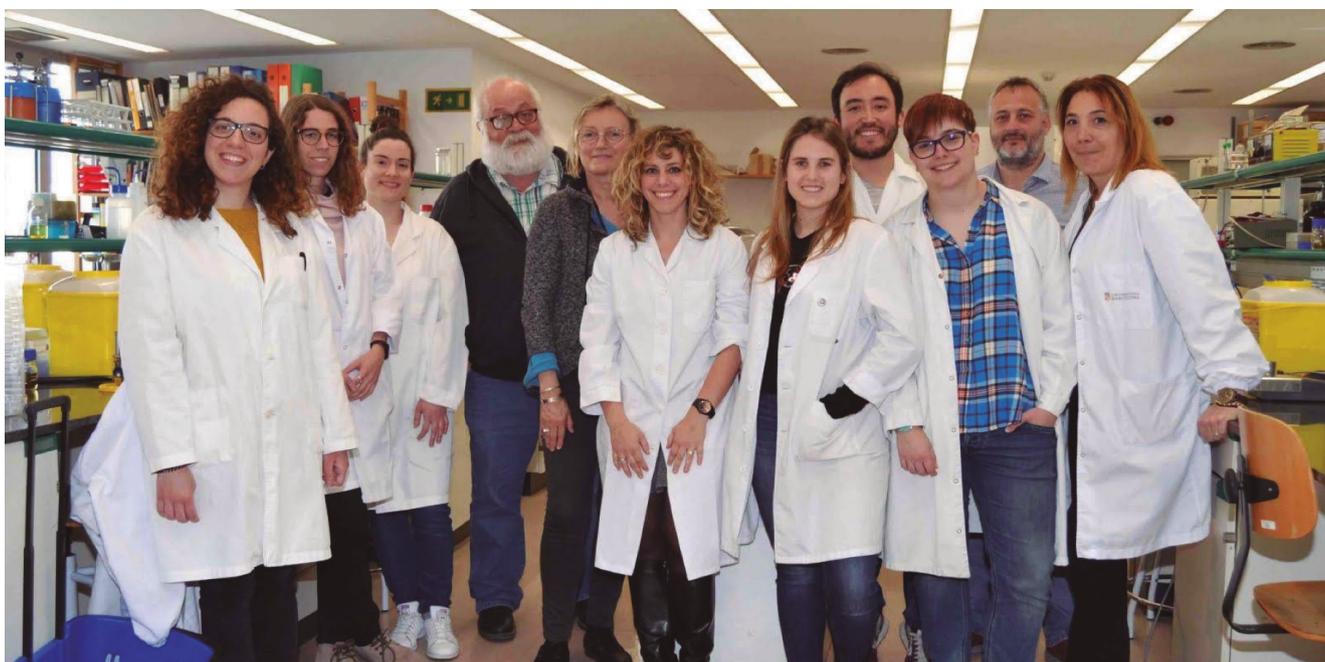
Grupo de Microbiología Molecular y Agentes antimicrobianos

Ester Fusté^{1,2}, Josep Ma Sierra¹



¹ Laboratorio de Microbiología Molecular y Antimicrobianos. Departamento de Patología y Terapéutica Experimental. Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universitat de Barcelona, Hospitalet de Llobregat, España.

² Departamento de Enfermería de Salud Pública, Salud Mental y Materno-infantil. Escuela de Enfermería. Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universitat de Barcelona, Hospitalet de Llobregat, España.



El Grupo de Microbiología Molecular y Agentes Antimicrobianos del Campus de Bellvitge de la Universidad de Barcelona, ubicado en Hospitalet de Llobregat, fue creado por Miguel Viñas hace 28 años.

En el ámbito docente participa en los grados de Medicina, Odontología, Podología y Enfermería, así como en los másteres oficiales de Microbiología Avanzada (UB) y en el Máster en Investigación Clínica (especialidad Microbiología) (Interuniversitario).

La investigación del grupo se ha centrado desde el inicio en el estudio de los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos principalmente en bacterias Gramnegativas y estrategias para superarla. Actualmente, se dedica a la investigación de nuevos péptidos catiónicos antimicrobianos como alternativa terapéutica y a sus mecanismos

de acción. En este sentido, el grupo lidera el proyecto internacional "Breaking the borders of antimicrobial resistance: Searching new antimicrobial compounds against multi-drug resistant bacteria: A study of policationic AMPs and lipid nanoparticles (BARNAPA)". El proyecto se desarrolla en colaboración con el grupo del Fernando Albericio de la Universidad de KwaZulu-Natal, en Sudáfrica, y el grupo de Stefania Stefani de la Universidad de Catania (Italia).

El grupo también forma parte de la red europea Translocation-Transfer (TT), que recibió apoyo en el marco de la Iniciativa de programación conjunta sobre resistencia a los antimicrobianos, y que reúne expertos de toda Europa con la finalidad de intercambiar conocimientos para impulsar el descubrimiento de nuevos antimicrobianos y combatir las bacterias multiresistentes. El grupo

proporciona métodos para analizar el efecto de nuevos antimicrobianos mediante microscopía de fuerza atómica (AFM), Microscopía Laser Confocal (CLSM) y mediciones de la anisotropía de las membranas bacterianas como indicador de la fluidez de membrana, así como el efecto que tienen los péptidos antimicrobianos sobre las bombas de reflujo. El coordinador de dicho proyecto es el Dr. Mathias Winterhalter (Jacobs University, Bremen).

Además, los últimos años el grupo ha participado en los proyectos "Investigación integral de terapias efectivas para el tratamiento de la fibrosis quística y enfermedades conexas (TERFIQUEC)" y "Desarrollo de un apósito bioactivo basado en fibrina y bioingredientes activos (FIBRODRESS)" financiados por el Ministerio de Economía y Competitividad. Finalmente, en el proyecto BERENICE (Gru-

po de investigación en benzimidazol y triazol para la nanomedicina y la innovación en la enfermedad de Chagas) para mejorar la formulación del Benzimidazol.

Trabajamos con *Pseudomonas aeruginosa* de pacientes con fibrosis quística, *Escherichia coli* de pacientes con infecciones urinarias, *Serratia marcescens* (cepas antiguas aisladas entre 1940 y 1950 y actuales), bacterias responsables de úlceras en pie diabético (*Staphylococcus aureus* y *P. aeruginosa*), que causan infecciones orales (*Fusobacterium*, *Prevotella*, *Porphyromonas*), y *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas.

Además, desarrollamos experimentos (*Black Lipid Bilayer single conductance*) para estudiar la interacción antimicrobianos-membranas lipídicas.

Asimismo, se trabaja sobre la utilización de nanopartículas que contienen antimicrobianos para disminuir los efectos tóxicos de algunos antibióticos como la colistina y mejorar su actividad frente a biofilms, permitiendo disminuir las dosis de antibiótico y el número de administraciones.

MIEMBROS DEL GRUPO

Dr. Miguel Viñas (Catedrático).
 Dra. Teresa Vinuesa (Profesora Titular).
 Dr. Antonio Zalacain (Profesor Titular).
 Dr. José López López (Profesor Titular).
 Dra. Ester Fusté (Profesora Agregada Interina).
 Dr. Josep Ma. Sierra (Profesor Lector).
 Dr. Josep Arnabat Domínguez (Profesor Lector).
 Dra. Guadalupe Jiménez (Profesora asociada).
 Dra. Alex Merlos (Profesora asociada).
 Dra. Carolina Padrós (Prof. Colaboradora).
 Dra. Elena de Planell (Prof. Colaboradora).
 Dra. Eulalia Sans (Colaborador externo).
 Dr. Pablo Betancourt (Colaborador externo).
 Dr. Hector Rudilla (Colaborador externo).
 Rocio Herraes (Estudiante de doctorado).
 Marta Jorba (Estudiante de doctorado).
 Eva Armengol (Estudiante de doctorado).
 Isabel Pérez-Guillén (Estudiante de doctorado).
 Sonia Suárez (Técnica de laboratorio).
 Rosa Borobia (Administración).

PUBLICACIONES DESTACADAS DE LOS ÚLTIMOS AÑOS

- Fleischer A, Vallejo-Díez S, Martín-Fernández JM, Sánchez-Gilbert A, Castresana M, Del Pozo A, Esquisabel A, Ávila S, Castrillo JL, Gainza E, Pedraz JL, Viñas M, Bachiller D.** iPSC-Derived Intestinal Organoids from Cystic Fibrosis Patients Acquire CFTR Activity upon TALEN-Mediated Repair of the p.F508del Mutation. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2020 Apr 18;17:858-870. doi: 10.1016/j.omtm.2020.04.005. PMID: 32373648; PMCID: PMC7195499.
- Armengol E, Asunción T, Viñas M, Sierra JM.** When Combined with Colistin, an Otherwise Ineffective Rifampicin-Linezolid Combination Becomes Active in *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii*. *Microorganisms.* 2020 Jan 8;8(1):86. doi: 10.3390/microorganisms8010086. PMID: 31936387; PMCID: PMC7023339.
- Betancourt P, Sierra JM, Camps-Font O, Arnabat-Domínguez J, Viñas M.** Er,Cr:YSGG Laser-Activation Enhances Antimicrobial and Antibiofilm Action of Low Concentrations of Sodium Hypochlorite in Root Canals. *Antibiotics (Basel).* 2019 Nov 22;8(4).
- Martin-Gómez H, Jorba M, Albericio F, Viñas M, Tulla-Puche J.** Chemical Modification of Microcin J25 Reveals New Insights on the Stereospecific Requirements for Antimicrobial Activity. *Int J Mol Sci.* 2019 Oct 17;20(20).
- Betancourt P, Merlos A, Sierra JM, Arnabat-Domínguez J, Viñas M.** Er,Cr:YSGG Laser-Activated Irrigation and Passive Ultrasonic Irrigation: Comparison of Two Strategies for Root Canal Disinfection. *Photobiomodul Photomed Laser Surg.* 2019
- Armengol E, Domenech O, Fusté E, Pérez-Guillén I, Borrell JH, Sierra JM, Vinas M.** Efficacy of combinations of colistin with other antimicrobials involves membrane fluidity and efflux machinery. *Infect Drug Resist.* 2019 Jul 11;12:2031-2038
- Pedrola M, Jorba M, Jardas E, Jordi F, Ghashghaei O, Viñas M, Lavilla R.** Multicomponent Reactions Upon the Known Drug Trimethoprim as a Source of Novel Antimicrobial Agents. *Front Chem.* 2019 Jul 4;7:475.
- Rudilla H, Merlos A, Sans-Serramitjana E, Fusté E, Sierra JM, Zalacain A, Vinuesa T, Viñas M.** New and old tools to evaluate new antimicrobial peptides. *AIMS Microbiol.* 2018 Jun 29;4(3):522-540.
- Herráez R, Mur A, Merlos A, Viñas M, Vinuesa T.** Using prodigiosin against some gram-positive and gram-negative bacteria and *Trypanosoma cruzi*. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis.* 2019 Jun 3;25:e20190001.
- Rudilla H, Pérez-Guillén I, Rabanal F, Sierra JM, Vinuesa T, Viñas M.** Novel synthetic polymyxins kill Gram-positive bacteria. *J Antimicrob Chemother.* 2018 Dec 1;73(12):3385-3390
- Betancourt P, Merlos A, Sierra JM, Camps-Font O, Arnabat-Domínguez J, Viñas M.** Effectiveness of low concentration of sodium hypochlorite activated by Er,Cr:YSGG laser against *Enterococcus faecalis* biofilm. *Lasers Med Sci.* 2019 Mar;34(2):247-254
- Vinuesa T, Herráez R, Oliver L, Elizondo E, Acarregui A, Esquisabel A, Pedraz JL, Ventosa N, Veciana J, Viñas M.** Benzimidazole Nanoformulates: A Chance to Improve Therapeutics for Chagas Disease. *Am J Trop Med Hyg.* 2017 Nov;97(5):1469-1476. doi: 10.4269/ajtmh.17-0044. Epub 2017 Oct 10.
- Cassol-Spanemberg J, Rodríguez-de Rivera-Campillo ME, Otero-Rey EM, Estrugo-Devesa A, Jané-Salas E, López-López J.** Oral lichen planus and its relationship with systemic diseases. A review of evidence. *J Clin Exp Dent.* 2018 Sep 1;10(9):e938-e944. doi: 10.4317/jced.55145. PMID: 30386529; PMCID: PMC6203921.
- Jiménez-Galisteo G, Fusté E, Muñoz E, Vinuesa T, Villa TG, Benz R, Domínguez A, Viñas M.** Identification and characterization of a cell wall porin from *Gordonia jacobaea*. *J Gen Appl Microbiol.* 2017 Nov 17;63(5):266-273. doi: 10.2323/jgam.2017.01.001. Epub 2017 Aug 23.
- Sans-Serramitjana E, Jorba M, Fusté E, Pedraz JL, Vinuesa T, Viñas M.** Free and Nanoencapsulated Tobramycin: Effects on Planktonic and Biofilm Forms of *Pseudomonas*. *Microorganisms.* 2017 Jun 26;5(3). pii: E35. doi: 10.3390/microorganisms5030035.
- Sans-Serramitjana E, Jorba M, Pedraz JL, Vinuesa T, Viñas M.** Determination of the spatiotemporal dependence of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm viability after treatment with NLC-colistin. *Int J Nanomedicine.* 2017 Jun 12;12:4409-4413
- Zalacain A, Merlos A, Planell E, Cantadori EG, Vinuesa T, Viñas M.** Clinical laser treatment of toenail onychomycoses. *Lasers Med Sci.* 2018 May;33(4):927-933. doi: 10.1007/s10103-017-2198-6.
- Sierra JM, Fusté E, Rabanal F, Vinuesa T, Viñas M.** An overview of antimicrobial peptides and the latest advances in their development. *Expert Opin Biol Ther.* 2017 Jun;17(6):663-676
- Domínguez Á, Muñoz E, López MC, Cordero M, Martínez JP, Viñas M.** Transcriptomics as a tool to discover new antibacterial targets. *Biotechnol Lett.* 2017 Jun;39(6):819-828
- Marti S, Puig C, Merlos A, Viñas M, de Jonge MI, Liñares J, Ardanuy C, Langereis JD.** Bacterial Lysis through Interference with Peptidoglycan Synthesis Increases Biofilm Formation by Nontypeable Haemophilus influenzae. *mSphere.* 2017 Jan 18;2(1).
- de Planell-Mas E, Martínez-Garriga B, Zalacain AJ, Vinuesa T, Viñas M.** Human papillomaviruses genotyping in plantar warts. *J Med Virol.* 2017 May;89(5):902-907.
- Martori E, Ayuso-Montero R, Willaert E, Viñas M, Peraire M, Martínez-Gomis J.** Status of Removable Dentures and Relationship with Oral Candida-Associated Factors in a Geriatric Population in Catalonia. *J Prosthodont.* 2017 Jul;26(5):370-375.
- Moreno-Sastre M, Pastor M, Esquisabel A, Sans E, Viñas M, Bachiller D, Pedraz JL.** Stability study of sodium colistimethate-loaded lipid nanoparticles. *J Microencapsul.* 2016 Nov;33(7):636-645.
- Rudilla H, Fusté E, Cajal Y, Rabanal F, Vinuesa T, Viñas M.** Synergistic Antipseudomonal Effects of Synthetic Peptide AMP38 and Carbapenems. *Molecules.* 2016 Sep 12;21(9)
- Ganguly S, Jimenez-Galisteo G, Pletzer D, Winterhalter M, Benz R, Viñas M.** Draft Genome Sequence of *Dietzia maris* DSM 43672, a Gram-Positive Bacterium of the Mycolata Group. *Genome Announc.* 2016 Jun 9;4(3).
- Sans-Serramitjana E, Fusté E, Martínez-Garriga B, Merlos A, Pastor M, Pedraz JL, Esquisabel A, Bachiller D, Vinuesa T, Viñas M.** Killing effect of nanoencapsulated colistin sulfate on *Pseudomonas aeruginosa* from cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros.* 2016 Sep;15(5):611-8.

Nuevos miembros en la vieja familia de proteínas fijadoras de penicilina

Sónia Castanheira y Francisco García-del Portillo



Laboratorio de Patógenos Bacterianos Intracelulares, Centro Nacional de Biotecnología (CNB)-CSIC. 28049 Madrid



EL DESCUBRIMIENTO DE LAS PROTEÍNAS FIJADORAS DE PENICILINA

En 1929, Fleming notificó la capacidad de un hongo *Penicillium* de inhibir el crecimiento de estafilococos, denominando “penicilina” al factor responsable (Fleming, 1929). Posteriormente, se publicó la producción de esta sustancia en cultivos de *Penicillium* (Clutterbuck et al., 1932) y su primera purificación por Florey, Chain y colegas (Abraham et al., 1941), confirmándose su alto poder antibacteriano. Hodgkin describiría pocos años después su estructura como una molécula conteniendo un anillo beta-lactama (Hodgkin, 1949). Estos investigadores recibieron el premio Nobel por los hallazgos: Fleming, Florey y Chain el Nobel de Medicina en 1945 y Hodgkin el de Química en 1964, ésta última por la aplicación de rayos-X para descifrar la estructura de importantes moléculas biológicas.

Una vez conocida la estructura de la penicilina, aumentó el interés por conocer su mecanismo de acción. En 1965, Tipper y Strominger propusieron un mecanismo de acción basado en la analogía estructural de la penicilina con el dipéptido D-alanina-D-alanina, presente en cadenas peptídicas laterales del peptidoglicano (Tipper y Strominger, 1965). Se sabía también que el tratamiento con penicilina resultaba en acumulación de un UDP-derivado del disacárido N-acetil-mu-

rámico (MurNAc)-N-acetil-glucosamina (GlcNAc) con un pentapéptido unido a MurNAc. Ello hacía sospechar que la penicilina podría inhibir una reacción de transpeptidación, implicando la parte terminal del pentapéptido lateral (D-Ala-D-Ala).

A principios de los setenta se describieron actividades enzimáticas de tipo transpeptidasa ó carboxipeptidasa inhibidas por la penicilina y, en algunos casos, efectos morfológicos como filamentación o pérdida de forma bacilar. Además, se acumulaba evidencia de la estabilidad de la inhibición, especulando sobre si el antibiótico se unía de forma covalente (revisado en Blumberg y Strominger, 1974). No obstante, no se conocían la identidad de estas enzimas ni el conjunto de ellas producidas por una bacteria. El trabajo pionero de Spratt y Pardee, publicado en la revista *Nature*, permitió “visualizar” por vez primera de forma simultánea las enzimas que unen antibióticos beta-lactámicos (Spratt y Pardee, 1975). Estos investigadores incubaron una preparación de membranas de *Escherichia coli* con ¹⁴C-bencil-penicilina. En la autoradiografía aparecieron varias proteínas, las “penicillin-binding proteins” (PBPs), a las que después asignaron numeración de menor a mayor en base a peso molecular decreciente. En ese mismo trabajo describen el primer ensayo de competición mediante incubación previa con antibiótico no radioactivo, pudiéndose así determinar la afinidad relativa de cualquier antibiótico “problema”. Estos sencillos experimentos permitieron así asociar la unión del antibiótico a una PBP concreta con un efecto morfológico o una rápida pérdida de viabilidad. Todo ello supuso un gran avance en el desarrollo de nuevos antibióticos.

Los trabajos subsiguientes de Spratt y colegas culminaron en observaciones igualmente relevantes: i) todas las bacterias que

se examinaban mostraban varias PBPs; y, ii) la competición con antibióticos que producían alteraciones morfológicas (filamentación, redondeo) resultaba en *E. coli* en la desaparición en la autoradiografía de una sola PBP (Spratt, 1975; Spratt, 1977). Así, la inhibición de la PBP3 se asoció con la pérdida de la capacidad de división mientras que en el caso de PBP2 se perdía la capacidad de elongar el peptidoglicano, resultando en la formación de células redondeadas (Spratt, 1975; Spratt, 1975). Estas importantes funciones son, de hecho, la base del efecto bacteriolítico de los beta-lactámicos que muestran afinidad por estas PBPs en *E. coli* o por sus homólogas en otros microorganismos (Hutchings et al., 2019).

PBPs EN PATÓGENOS BACTERIANOS INTRACELULARES

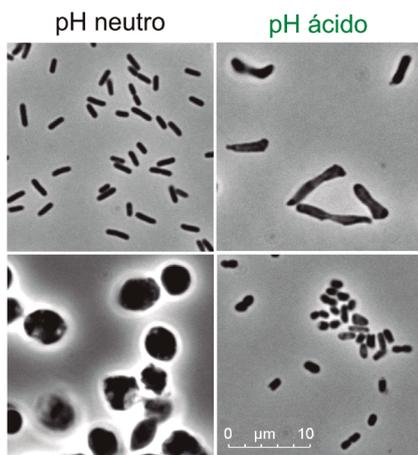
Durante las dos últimas décadas, nuestro laboratorio ha centrado sus estudios en la pared celular de *Salmonella enterica* cuando este patógeno coloniza el interior de la célula eucariota para establecer una infección persistente. Los datos que hemos acumulado muestran alteraciones estructurales del peptidoglicano (PG) que, entre otros efectos, provocan en la célula hospedadora una disminución de la capacidad de señalización mediada por el regulador NF-κB (Ramos-Marquès et al., 2017). Por tanto, este patógeno parece “esculpir” el PG para establecer un estilo de vida intracelular altamente exitoso. Un ejemplo de esta estrategia de interferencia con los sistemas de defensa inmune es una nueva enzima que utiliza la bacteria intracelular que denominamos EcgA, la cual actúa como una DL-endopeptidasa rompiendo el enlace entre D-glutámico y meso-diaminopimélico (D-Glu-*m*Dap) en la cadena lateral peptídica del PG (Rico-Pérez

et al., 2016). Esa configuración D-Glu-*m*Dap (también conocida como iE-Dap) es clave en el reconocimiento de fragmentos de PG por el receptor de defensa NOD1 (Caruso *et al.*, 2014). Así, la actividad de EcgA podría disminuir los niveles de ligando a NOD1 en el caso de liberarse fragmentos de PG en el interior de la célula infectada.

Además de EcgA, el análisis del genoma de *S. enterica* nos ha deparado otras sorpresas en referencia a enzimas que metabolizan el PG. La mayor de ellas sin duda han sido genes que codifican nuevas enzimas similares a PBP2 y PBP3, a las que denominamos PBP2_{SAL} y PBP3_{SAL} (Castanheira *et al.*, 2017; Castanheira *et al.*, 2018). Esta aparente “duplicidad” de PBPs en *S. enterica* nos llevó a especular una posible relación con su doble estilo de vida, extracelular e intracelular. Nuestros datos han confirmado que PBP2_{SAL} y PBP3_{SAL} se producen en la fase intracelular y, lo más sorprendente, que “reemplazan” en bacteria intracelular a las

históricamente supuestas esenciales PBP2 y PBP3 (Castanheira *et al.*, 2020). Los ensayos de unión de beta-lactámicos indican que PBP2_{SAL} y PBP3_{SAL} unen antibiótico de forma más efectiva en pH ácido mientras que PBP2 y PBP3 lo hacen en pH neutro. Además, PBP3_{SAL} muestra baja afinidad por los antibióticos beta-lactámicos conocidos (Castanheira *et al.*, 2020). Esta característica de PBP3_{SAL} unida al intercambio de PBPs que tiene lugar en el ambiente intracelular, nos alerta sobre la dificultad de conseguir una terapia efectiva de la infección intracelular por *Salmonella* utilizando los beta-lactámicos actuales. De hecho, hoy sabemos que el intercambio de PBP3 por PBP3_{SAL} en la bacteria intracelular contribuye a la alta tasa de recaídas asociada a muchos casos de salmonelosis tras la terminación de la terapia antibiótica (Castanheira *et al.*, 2020). Ello nos ha conducido a buscar nuevas moléculas con alta afinidad de unión a PBP3_{SAL}.

Una pregunta que subyace a estas nuevas PBPs es su significado biológico. Ambas, PBP2_{SAL} y PBP3_{SAL}, aparentemente realizan las mismas funciones en la morfogénesis de la bacteria que las que estaban ya descritas para PBP2 y PBP3. Entonces, ¿Por qué las cambia el patógeno en el interior de la célula eucariota y qué regulador(es) se encargan de ello? Estas son sin duda importantes preguntas que pretendemos responder. Los datos que estamos obteniendo nos permiten especular sobre una posible función cruzada de estas nuevas PBPs con determinados factores de virulencia importantes en la vida intracelular. El futuro nos brindará más sorpresas e interrogantes sobre estas nuevas PBPs, ejemplo de enzimas que se explotan en un ciclo infeccioso de forma sublimemente por patógenos, pero que por ello claramente nos dificultan su control y erradicación.



Cambios morfológicos en mutantes de *Salmonella enterica* serovar Typhimurium con deficiencias en PBPs que controlan elongación y división celular. Nótese como alguno de estos mutantes (fila superior) muestra cambios morfológicos en la condición intracelular (pH ácido), mientras que otros (fila inferior) los muestra en la condición extracelular (pH neutro).

BIBLIOGRAFÍA

Abraham EP, Chain E, Fletcher CM, Gardner AD, Heatley NG, Jennings, MA y Florey HW. (1941). Further observations on penicillin. *Lancet* 238:177-189.

Blumberg, PM y Strominger, JL. (1974). Interaction of penicillin with the bacterial cell: penicillin binding proteins and penicillin-sensitive enzymes. *Bacteriol. Rev.* 38: 291-335.

Caruso R, Warner N, Inohara N, y Nunez G. (2014). NOD1 and NOD2: signaling, host defense, and inflammatory disease. *Immunity* 41:898-908.

Castanheira S, Cestero JJ, García-del Portillo F y Pucciarelli MG. (2018). Two distinct penicillin binding proteins promote cell division in different *Salmonella* lifestyles. *Microb. Cell* 5:165-8.

Castanheira S, Cestero JJ, Rico-Pérez G, García P, Cava F, Ayala JA, Pucciarelli, MG y García-del Portillo, F. (2017). A specialized peptidoglycan synthase promotes *Salmonella* cell division inside host cells. *MBio* 8. DOI: 10.1128/mBio.01685-17

Castanheira S, Lopez-Escarpa D, Pucciarelli MG, Cestero JJ, Baquero F y García-Del Portillo F. (2020). An alternative penicillin-binding protein involved in *Salmonella* relapses following ceftriaxone therapy. *EBioMedicine* 55:102771.

Clutterbuck PW, Lovell R y Raistrick H. (1932). Studies in the biochemistry of micro-organisms: The formation from glucose by members of the *Penicillium chrysogenum* series of a pigment, an alkali-soluble protein and penicillin-the antibacterial substance of Fleming. *Biochem J* 26:1907-1918.

Fleming A. (1929) On the antibacterial action of cultures of a penicillium, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *Br J Exp Pathol* 10:226-236.

Hodgkin DC. (1949) The X-ray analysis of the structure of penicillin. *Adv Sci* 6:85-89.

Hutchings MI, Truman AW, Wilkinson B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol* 51:72-80.

Ramos-Marques E, Zambrano S, Tierrez A, Bianchi ME, Agresti A, García-Del Portillo F. (2017) Single-cell analyses reveal an attenuated NF-kappaB response in the *Salmonella*-infected fibroblast. *Virulence* 8:719-740.

Rico-Perez G, Pezza A, Pucciarelli MG, de Pedro MA, Soncini FC, García-del Portillo F. (2016). A novel peptidoglycan D,L-endopeptidase induced by *Salmonella* inside eukaryotic cells contributes to virulence. *Mol Microbiol* 2016;99:546-56.

Spratt BG. (1975). Distinct penicillin binding proteins involved in the division, elongation, and shape of *Escherichia coli* K12. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72:2999-3003.

Spratt BG. (1977) Properties of the penicillin-binding proteins of *Escherichia coli* K12. *Eur J Biochem* 72:341-52.

Spratt BG, Pardee AB. (1975). Penicillin-binding proteins and cell shape in *E. coli*. *Nature* 254:516-7.

Tipper DJ, Strominger JL. (1965). Mechanism of action of penicillins: a proposal based on their structural similarity to acyl-D-alanyl-D-alanine. *Proc Natl Acad Sci USA* 54:1133-1141.

Desentrañando el viroma global: ¿qué sabemos de los virus de aves silvestres?

Daniel A. Truchado^{1,2a}; Michael J. Moens³; Esperanza Gomez-Lucia^{4b}, Ana Doménech^{4b}, Javier Pérez-Tris^{1a}, y Laura Benítez^{2b}

¹Departamento de Biodiversidad, Ecología y Evolución. Facultad de Biología (UCM).

²Departamento de Genética, Fisiología y Microbiología. Facultad de Biología (UCM).

³Fundación de Conservación Jocotoco. Quito, Ecuador

⁴Departamento de Sanidad Animal. Facultad de Veterinaria (UCM)

Grupos de investigación UCM: ^aBiología evolutiva y de la Conservación y ^bVirus animales



Los miembros del grupo en diferentes campañas de muestreo de aves para el análisis de sus virus.

El conocimiento que tenemos actualmente sobre el viroma de la fauna silvestre es todavía incipiente (François and Pybus 2020). Sin embargo, desde el inicio del siglo XXI, los principales agentes etiológicos causantes de epidemias y pandemias en el ser humano han sido virus zoonóticos con origen en fauna silvestre (Carroll *et al.*, 2018) como los virus de la gripe aviar H5N1, los virus del Ébola y el Zika o los coronavirus responsables del SARS, el MERS y la COVID-19. Es por esto que las enfermedades infecciosas emergentes se encuentran entre los principales riesgos para nuestra especie en la actualidad, ya que han

puesto de manifiesto nuestra vulnerabilidad frente a ellas y han causado grandes estragos tanto para la salud humana y animal como para la economía mundial o la diversidad. El concepto “One Health” implica que hay una relación de interdependencia entre tres ámbitos: el ser humano, el resto de animales y el medio en el que viven, y que lo que ocurre en uno de ellos tiene repercusiones sobre los otros dos. Uno de los principales objetivos de este concepto “One Health” es la colaboración multidisciplinar en la búsqueda de nuevos virus en la fauna silvestre con potencial zoonótico o con interés para la conservación

o la protección de la biodiversidad, con el fin de prevenir futuros brotes (Lebov *et al.*, 2017). Además, la búsqueda de nuevos virus en fauna silvestre nos aporta información valiosa sobre nuevas relaciones virus-hospedador, muestra cómo muchos virus no se comportan necesariamente como patógenos en sus hospedadores naturales o reservorios y nos da una idea de su ecología en los diferentes ecosistemas. Sin embargo, para describir el viroma de la fauna silvestre de forma eficiente es necesario abordar una “Virología Prospectiva” con aproximaciones dirigidas a ampliar el conocimiento de la diversidad de

virus, ya que se estima que sólo conocemos un pequeño porcentaje de la totalidad del viroma global. Además, expandir el foco de búsqueda de nuevos virus hacia zonas remotas y hospedadores nunca antes muestreados es esencial para ampliar significativamente el conocimiento sobre la diversidad viral real.

Las aves, junto con los mamíferos, son los principales reservorios de virus con potencial zoonótico (Carroll *et al.*, 2018). Sin embargo, poco se conoce sobre el viroma de las aves silvestres a día de hoy. Las aves constituyen el grupo más diverso de vertebrados terrestres con alrededor de 10.000 especies descritas que habitan en todos los continentes de la Tierra. Esta presencia tan extendida en nuestro planeta les hace estar expuestas a una gran diversidad de patógenos ambientales que pueden diseminar fácilmente gracias a sus diversas ecologías. Por ejemplo, el vuelo es una característica de muchas especies de aves que permite la dispersión de patógenos a largas distancias en un espacio de tiempo relativamente corto, en especial en aves migratorias (Dhama *et al.*, 2008; Viana *et al.*, 2016). Además, su sistema inmunitario facilita que ciertas especies diseminen una gran diversidad de virus sin presentar signos clínicos evidentes (Hulse-Post *et al.*, 2005; Wille *et al.*, 2018) y la tendencia de muchas especies a compartir dormideros con otros animales favorece la transmisión interespecífica de patógenos (Chan *et al.*, 2015). Por tanto, no es de extrañar que las aves hayan jugado un papel importante en el origen y/o la transmisión de virus que han llegado a causar las últimas epidemias y pandemias vividas en el mundo.

Por otra parte, el ser humano también puede introducir, indirectamente mediante su actividad, nuevas cepas de virus en poblaciones silvestres de aves. Por ejemplo, existen informes de contagios de cepas de virus de la enfermedad de Newcastle, de paramixovirus y coronavirus aviarios en aves silvestres cercanas a zonas con una importante industria avícola que son muy similares a aquellas cepas que se utilizan en vacunas atenuadas de aves de corral (García *et al.*, 2013; Rohaim *et al.*, 2017). Estas introducciones no intencionadas de virus de vacunas pueden llegar a producir brotes de enfermedades en las poblaciones silvestres que podrían poner en riesgo la avifauna de la zona. Por tanto, analizar el viroma de aves silvestres no solo

nos ayudará a prevenir futuros brotes de enfermedades infecciosas emergentes, sino que nos aportará información sobre la diversidad global de virus existente y nos ayudará a conocer qué virus circulan en las poblaciones de aves que puedan suponer un riesgo para las mismas y conocer su influencia en la dinámica, estructura y funcionamiento de los ecosistemas.

En nuestro grupo de investigación estamos interesados en el estudio de virus de aves silvestres, especialmente en hospedadores que no han sido tradicionalmente estudiados. Hemos diseñado diversas herramientas para analizar, por ejemplo, la viruela aviar (Pérez-Tris *et al.*, 2011; Williams *et al.*, 2014; Ruiz-Martínez *et al.*, 2016; Moens *et al.*, 2017) o las infecciones causadas por papilomavirus (Truchado *et al.*, 2018 a y b). Más recientemente estamos analizando principalmente el **viroma cloacal** de aves paseriformes, prácticamente desconocido a pesar de que constituyen aproximadamente el 60% de la diversidad de aves. Y lo hacemos en diferentes hábitats, tanto en regiones remotas con escasa influencia humana, principalmente el Neotrópico, como en entornos cercanos más estudiados como el bosque mediterráneo de montaña. Los trópicos proveen un escenario ideal para explorar las relaciones entre especificidad y la diversidad de hospedadores, ya que esta última podría gobernar la evolución de la especificidad a través de los efectos de dilución y amplificación. Para ello hemos muestreado en una zona megadiversa en el sur de Ecuador y en las aves del sotobosque en la Reserva Natural de Nouragues, en la Guayana Francesa. Esta reserva se encuentra en el Escudo Guayanés, una zona de selva tropical en el norte de Sudamérica considerada uno de los puntos calientes de diversidad de aves del mundo, con unas 700 especies diferentes descritas. Analizando el viroma de las aves silvestres de Nouragues, pretendemos aportar información nueva y relevante al campo de la virología aviar, puesto que investigamos en un sitio remoto en el cual nunca se han llevado a cabo proyectos científicos similares, al mismo tiempo que buscamos nuevos virus en hospedadores no tradicionales como son las aves paseriformes que dominan la comunidad. Hemos publicado la caracterización de cuatro nuevos astrovirus, un nuevo gyrovirus y un virus CRESS-DNA (*Circular Rep-Enco-*

ding Single-Stranded) circulando en estos ecosistemas, los cuales son marcadamente divergentes dentro de sus respectivas familias (Fernández-Correa *et al.*, 2019; Moens *et al.*, 2018; Truchado *et al.*, 2019). Además, hemos encontrado otros virus de interés presentes en la cloaca de esta comunidad de aves pertenecientes a las familias *Hepeviridae*, *Picornaviridae* y *Reoviridae* (Truchado *et al.*, 2020).

Por otra parte, también caracterizamos el viroma cloacal de las aves silvestres de una zona más estudiada y próxima a núcleos poblacionales humanos como es el bosque de La Herrería, situado en la Comunidad de Madrid (Truchado *et al.*, 2020). Al analizar los viromas cloacales de especies de aves de dos ecosistemas tan diferentes podemos comprobar distintas hipótesis. Una de ellas es si, buscando virus en hospedadores no tradicionales (como son las aves paseriformes que predominan en ambas localidades), se aumenta sustancialmente el número de virus nuevos respecto a los ya conocidos en las bases de datos. Y, en segundo lugar, si las regiones remotas albergan una comunidad de virus cuyo descubrimiento aporta singularidad filogenética o funcional a la biodiversidad de virus conocida. Al mismo tiempo, describimos nuevos virus que circulan en las aves de ecosistemas con un alto valor ecológico, aportando una información valiosa que puede ser utilizada en el campo de la conservación.

Pretendemos por tanto resaltar el valor de los **hospedadores no tradicionales** y de las **zonas remotas** como fuente de nueva información en el ámbito de la diversidad de patógenos, en especial de virus, y de las aproximaciones enfocadas al descubrimiento como una herramienta esencial para su estudio. Con ello, además, aportamos información valiosa sobre nuevos virus que puede servir de ayuda para estar preparados ante la emergencia de nuevos patógenos víricos, estudiando su circulación y alertando sobre su relación filogenética con virus descritos.

BIBLIOGRAFÍA (*ARTÍCULOS DEL EQUIPO)

- Carroll D, Daszak P, Wolfe ND, *et al.* (2018) The Global Virome Project. *Science* 359:872–874
- Chan JFW, To KKW, Chen H, Yuen KY (2015) Cross-species transmission and emergence of novel viruses from birds. *Curr Opin Virol* 10:63–69

- Dhama K, Mahendran M, Tomar S (2008)** Pathogens transmitted by migratory birds: threat perceptions to poultry health and production. *Int J Poultry Sci* 7:516–525
- *Fernández-Correa I, Truchado DA, Gomez-Lucia E, et al. (2019)** A novel group of avian astroviruses from Neotropical passerine birds broaden the diversity and host range of *Astroviridae*. *Sci Rep* 9:1–9.
- François S, Pybus OG (2020)** Towards an understanding of the avian virome. *J Gen Virol* 101:785–790
- García SC, Navarro Lopez R, Morales R, et al. (2013)** Molecular epidemiology of newcastle disease in Mexico and the potential spillover of viruses from poultry into wild bird species. *Appl Environ Microbiol* 79:4985–4992
- Hulse-Post DJ, Sturm-Ramirez KM, Humberd J, et al. (2005)** Role of domestic ducks in the propagation and biological evolution of highly pathogenic H5N1 influenza viruses in Asia. *Proc Natl Acad Sci* 102:10682–10687
- Lebov J, Grieger K, Womack D, et al. (2017)** A framework for One Health research. *One Heal* 3:44–50.
- *Moens, MAJ., Pérez-Tris, J., Cortey, M. & Benitez, L. (2018)**. Identification of two novel CRESS DNA viruses associated with an avipoxvirus lesion of a blue-and-gray Tanager (*Thraupis episcopus*). *Infection, Genetics and Evolution*, 60: 89-96
- *Moens, MAJ.; Perez-Tris, J; Mila, B. & Benitez, L.** The biological background of a recurrently emerging infectious disease: prevalence, diversity and host specificity of Avipoxvirus in wild Neotropical birds. (2017). *J. Avian Biol.* 48:1-6
- *Pérez-Tris, J., Williams, RAJ., Abel-Fernández, E., Barreiro, J., et al. (2011)**. A multiplex PCR for detection of poxvirus and papillomavirus in cutaneous warts from live birds and museum skins. *Avian diseases*, 55(4), 545-553.
- Rohaim MA, El Naggar RF, Helal AM, et al. (2017)** Reverse spillover of avian viral vaccine strains from domesticated poultry to wild birds. *Vaccine* 35:3523–3527
- *Ruiz-Martínez, J., Ferraguti, M., Figuerola, J. et al. (2016)**. Prevalence and Genetic Diversity of Avipoxvirus in House Sparrows in Spain. *PLoS ONE*, 11(12), e0168690.
- *Truchado DA, Diaz-Piqueras JM, Gomez-Lucia E, et al. (2019)** A novel and divergent gyrovirus with unusual genomic features detected in wild passerine birds from a remote rainforest in French Guiana. *Viruses* 11:1148
- *Truchado, DA., Llanos-Garrido, A., Oropesa-Olmedo, DA. et al. (2020)** Comparative metagenomics of Palearctic and Neotropical avian cloacal viromes reveal geographic bias in virus discovery. *Microorganisms*. *Microorganism* (en revisión).
- *Truchado, DA; Moens, MAJ; Callejas, S; Pérez-Tris, J & Benitez, L. (2018a)**. Genomic characterization of the first oral avian papillomavirus in a colony of breeding canaries (*Serinus canaria*). *Veterinary Research Communications*, 42 (2): 111-120
- *Truchado, D.A; Williams, RAJ & Benitez, L. (2018b)**. Natural history of avian papillomaviruses. *Virus Research*, 2; 252:58-67.
- Viana DS, Santamaría L, Figuerola J (2016)** Migratory birds as global dispersal vectors. *Trends Ecol Evol* 31:763–775
- Wille M, Eden JS, Shi M, et al. (2018)** Virus–virus interactions and host ecology are associated with RNA virome structure in wild birds. *Mol Ecol* 27:5263–5278
- *Williams, RAJ; Escudero, C; Perez Tris, J; Benitez, L. (2014)**. Polymerase chain reaction detection of avipox and avian papillomavirus in naturally infected wild birds: comparisons of blood, swab and tissue samples. *Avian Pathology*, 2:130 - 134.

Estudio de la importancia de los mecanismos Redox en patógenos intracelulares

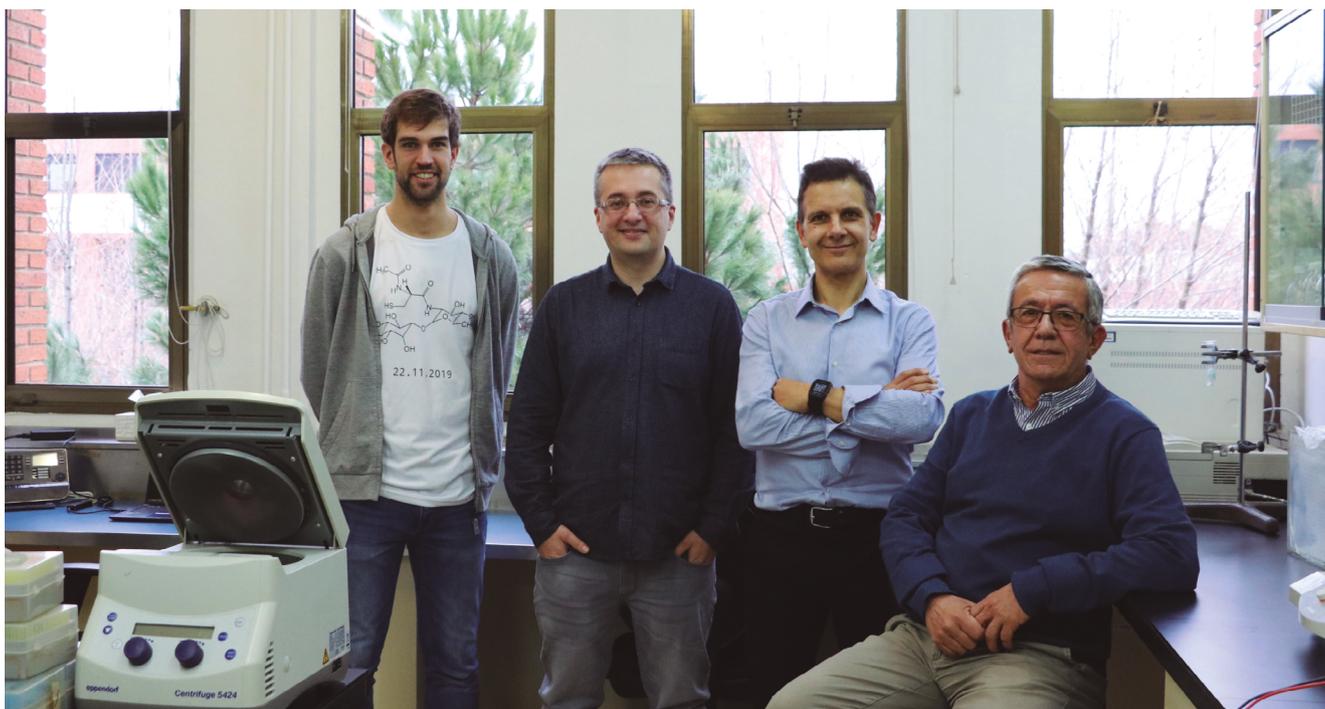
Álvaro Mourenza¹, Jose A. Gil^{1,2}, Luis M. Mateos^{1,2}, Michal Letek^{1,3}



¹ Departamento de Biología Molecular, Área de Microbiología, Universidad de León, 24071 León, España.

² Instituto de Biología Molecular, Genómica y Proteómica (INBIOMIC), Universidad de León, 24071 León, España.

³ Instituto de Desarrollo Ganadero y Sanidad Animal (INDEGSAL), Universidad de León, 24071 León, España.



Miembros del grupo de izquierda a derecha: Dr. Álvaro Mourenza, Dr. Michal Letek, Prof. Luis Mariano Mateos y Prof. José Antonio Gil.

En el estado de oxidación-reducción de las células se pueden producir desequilibrios que generan lo que se conoce como estrés oxidativo. Ante este desequilibrio sobrenido, las células emplean sus mecanismos de control Redox para reestablecer el estado reducido inicial.

El grupo de investigación del área de microbiología de la Universidad de León liderado por el Prof. Luis M. Mateos, tiene una larga experiencia en el estudio de ciertos sistemas Redox presentes en actinobacterias. Su trabajo de investigación ha permitido descubrir las microrredoxinas (Mrx), proteínas esenciales en el control Redox intracelular de estas bacterias y cuyo mecanismo de acción

está ligado a la molécula antioxidante mico-tiol (MSH). El sistema MSH/Mrx sirve para preservar el estado reducido intracelular, esencial para el correcto funcionamiento de la mayoría de los sistemas proteicos en actinobacterias.

Además del sistema anteriormente indicado, el grupo del Prof. Mateos ha centrado sus estudios en otras proteínas esenciales para el control del estado Redox. Entre ellas destaca el trabajo realizado en colaboración con el grupo del Dr. Messens de la "Vrije Universiteit Brussel" en Bélgica. De esta forma se demostró el papel esencial que juega la proteína OxyR en la respuesta rápida de la bacteria frente al estrés oxidativo, usando como regu-

lador la proteína catalasa (KatA) que se activa en presencia de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada, H₂O₂) (Pedre *et al.*, 2019).

Recientemente, el Prof. Mateos comenzó a plantearse si estos sistemas basados en MSH/Mrx podrían también ser un sistema de supervivencia en patógenos intracelulares durante los procesos infecciosos. Las bacterias del filo *Actinobacteria* que se comportan como patógenos intracelulares (*Mycobacterium tuberculosis* o *Rhodococcus equi* entre otros) presentan importantes sistemas de control Redox, para lo cual cuentan con hasta tres posibles microrredoxinas en su genoma, entre otros componentes. Además, representantes de este grupo también utilizan el siste-

ma Redox tiorredoxina/tiorredoxina reductasa (Trx/TrxR), cuya presencia es ubicua en prácticamente todos los organismos estudiados. Finalmente, estas bacterias presentan un nuevo sistema de tiorredoxinas extracelulares (Etrx) que parecen estar ancladas a la membrana citoplasmática y orientadas hacia el espacio extracelular.

La hipótesis de la que partió el grupo del Prof. Mateos fue que estas bacterias al ser patógenas intracelulares estarían sometidas a un intenso estado de estrés oxidativo, al ser reconocidas y fagocitadas por macrófagos del hospedador. Estos macrófagos constituyen la primera línea de defensa en pulmón y activan una serie de proteínas cuya principal función es la de generar estrés oxidativo en la bacteria fagocitada para destruirla. Sin embargo, muchos patógenos intracelulares son capaces de resistir ese estrés oxidativo y colonizar el medio intracelular, por lo que el grupo del Prof. Mateos se centró en el estudio de los sistemas de control Redox en actinobacterias.

Como modelo de infección el grupo se ha centrado en *R. equi*, que es un patógeno intracelular que afecta a potros y seres humanos, entre otros muchos hospedadores. Es por ello que este patógeno tiene importancia en salud humana, pero también genera pérdidas económicas relevantes en el ámbito de la ganadería equina, asociadas a la muerte de diferentes animales de cría. Este sector está valorado en 5.000 millones de euros en España según el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Esta línea de investigación se basó en el estudio de la importancia de los sistemas de control Redox durante la infección de *R. equi*. El grupo del Prof. Mateos desarrolló mutantes por ingeniería genética en los que se deletionaba los genes codificantes para cada una de las tres microrredoxinas que se han descrito hasta la fecha en el genoma de *R. equi*. Además, se generaron mutantes dobles y

un triple mutante, carente este último de las tres microrredoxinas, y por lo tanto desprovisto de los sistemas MSH/Mrx (Mourenza *et al.*, 2019).

Por otra parte, también se centró parte de la investigación del grupo en una tiorredoxina extracelular, denominada Etrx3 por la posición que ocupa en el genoma de *R. equi*; este gen también se ha deletionado con el fin de estudiar su función durante la infección (Mourenza *et al.*, 2020a).

De forma global se analizó la sensibilidad de todas las cepas mutantes descritas anteriormente frente a compuestos oxidantes, tales como el peróxido de hidrógeno o el hipoclorito sódico. Posteriormente, se realizaron estudios de infección de macrófagos *in vitro*, que se desarrollaron en colaboración con investigadores de la Universidad de Roehampton (Londres). Estos ensayos permitieron demostrar que tanto la ausencia de las microrredoxinas o de la tiorredoxina Etrx3 provocaba una marcada atenuación de *R. equi*, generando cepas prácticamente avirulentas en ensayos *in vitro* (Mourenza *et al.*, 2019; Mourenza *et al.*, 2020a).

A continuación, el equipo estudió más en detalle el proceso de oxidación-reducción durante la infección intracelular causada por *R. equi*. Para ello emplearon el sensor de estrés oxidativo roGFP2 (Gutscher *et al.*, 2008), de forma que al fusionarlo a cada una de las microrredoxinas nos permitía evaluar el estado Redox del micotiol en cada momento de la infección. Así se pudieron identificar los puntos concretos de la infección en los que se producía un mayor estrés oxidativo. Por otro lado, también se puso en evidencia que el papel de una microrredoxina podía ser reemplazado por cualquiera de las otras dos presentes en el genoma, ya que la complementación con solo una de estas tres proteínas servía para restaurar el fenotipo silvestre en el triple mutante de *R. equi*. Además, se pudo observar un cierto papel secuencial en

la función de cada una de estas proteínas durante el proceso de infección.

Finalmente, dentro del estudio del estado Redox intracelular de *R. equi*, el equipo del Prof. Mateos ha comenzado a estudiar el papel de algunos antibióticos como moléculas que alteran el equilibrio Redox y los efectos de posibles sinergias de antibióticos generadores de estrés oxidativo con su mecanismo de acción antimicrobiano. Con este objetivo, se han encontrado sinergias entre antibióticos que podrían servir como nuevos tratamientos frente a *R. equi* (Mourenza *et al.* 2020b), en un momento en el que cada vez se aíslan más cepas de este patógeno que son resistentes a antibióticos. En base a lo indicado, consideramos que estos estudios podrán servir como punto de partida para la búsqueda de nuevos tratamientos frente a otros patógenos intracelulares multirresistentes a antimicrobianos cuya incidencia y mortalidad está incrementándose dramáticamente, tales como *Mycobacterium tuberculosis*.

BIBLIOGRAFÍA

- Gutscher M, Pauleau AL, Marty L, Brach T, Wabnitz GH, Samstag Y, Meyer AJ, Dick TP.** (2008). Real-time imaging of the intracellular glutathione redox potential. *Nature Methods*, 5: 553–559.
- Mourenza Á, Bravo-santano N, Pradal I, Gil JA, Mateos LM, Letek M.** (2019) Mycoredoxins are required for redox homeostasis and intracellular survival in the actinobacterial pathogen *Rhodococcus equi*. *Antioxidants* 8: 558.
- Mourenza Á, Collado C, Bravo-Santano N, Gil JA, Mateos LM, Letek M.** (2020a) The extracellular thioredoxin Etrx3 is required for host cell infection in *Rhodococcus equi*. *Vet Res* 51: 1–7.
- Mourenza Á, Gil JA, Mateos LM, Letek, M.** (2020b) A novel screening strategy reveals ROS—Generating antimicrobials that act synergistically against the intracellular veterinary pathogen *Rhodococcus equi*. *Antioxidants* 9: 114.
- Pedre B, Young D, Charlier D, Mourenza Á, Rosado L.A, Marcos-Pascual L, Wahni K, Gonzalo de la Rubia A, Belousov V, Mateos LM, Messens J.** (2018) Structural snapshots of OxyR reveal the peroxidatic mechanism of H₂O₂ sensing. *Proc Nat Acad Sci USA* 115: E11623–E11632.

Mecanismos de adaptación de levaduras patógenas al huésped y desarrollo de nuevas terapias antifúngicas

Óscar Zaragoza Hernández, Irene García Barbazán, Nuria Trevijano Contador y Ainhize Curiel Iglesias.



Laboratorio de Referencia e Investigación en Micología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III.



(De izquierda a derecha: Nuria Trevijano Contador, Ainhize Curiel Iglesias, Irene García Barbazán y Óscar Zaragoza Hernández)

Las levaduras son hongos microscópicos unicelulares que se dividen por gemación, fisión o septación. Existen muchas especies de levaduras, algunas de ellas de gran interés como modelo de investigación o en biotecnología. El ejemplo más claro es *Saccharomyces cerevisiae*, ya que debido a su función en la producción del pan, vino, se ha convertido desde hace décadas en uno de los organismos más utilizados en investigación para entender múltiples procesos biológicos, como metabolismo, ciclo celular y respuesta a estrés. Otro ejemplo es la levadura de fisión *Schizosaccharomyces pombe*, que por su peculiar manera de dividirse, ha sido uno de los modelos utilizados para descubrir las bases moleculares que regulan el ciclo celular en eucariotas. Otras levaduras, como

Pichia pastoris o *Yarrowia lipolytica* son consideradas pequeñas fábricas para producir proteínas heterólogas y son ampliamente usadas en biotecnología.

Pero la importancia de las levaduras va más allá de la biotecnología y producción de alimentos, ya que algunas especies pueden causar enfermedad en humanos. En particular, hay dos géneros de interés clínico, que son *Candida* y *Cryptococcus*. Estas dos levaduras se diferencian ampliamente en la evolución, siendo *Candida* levaduras ascomicetas y *Cryptococcus* basidiomicetas. Además, desde un punto de vista clínico, difieren también muy significativamente en los mecanismos de virulencia, la ruta de entrada en los humanos, y el cuadro clínico que causan. Sin embargo,

ambas tienen en común que son capaces de causar enfermedades graves y diseminadas en pacientes inmunodeprimidos, por lo que son consideradas levaduras patógenas oportunistas.

La gran mayoría de las levaduras del género *Candida* son comensales humanos, encontrándose en la microbiota del intestino, mucosas y piel. La especie más relevante es *C. albicans*, la cual puede causar enfermedades en las mucosas o diseminadas. *C. albicans* es uno de los agentes causantes más frecuentes de la vaginitis, la cual afecta a millones de mujeres en el mundo. También causa infecciones orofaríngeas en pacientes VIH+. El cuadro clínico más grave son aquellas enfermedades en las que las levaduras se diseminan por todo el

cuerpo e invaden diferentes órganos, siendo los riñones uno de los sitios donde se *C. albicans* se aloja preferencialmente. Las enfermedades diseminadas están muy asociadas a pacientes inmunodeprimidos, sobre todo aquellos que sufren cirugía intestinal y precisan de tratamientos inmunosupresores. En estos casos, el origen más frecuente de la infección son las levaduras que forman parte de la microbiota del intestino, y que son capaces de atravesar los tejidos y diseminarse por la sangre. Estas enfermedades tienen una alta tasa de mortalidad, y son una causa de infección nosocomial muy frecuente. Otras especies del género *Candida* que son agentes causantes de enfermedad son *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, y *C. tropicalis*. Además, en los últimos años, hay otra especie, *C. auris*, que ha emergido como un patógeno preocupante, ya que causa brotes hospitalarios de difícil control y eliminación.

Las enfermedades causadas por *Cryptococcus* son diferentes a las causadas por *Candida*, y tienen un cuadro clínico muy característico. Las levaduras del género *Cryptococcus* tienen una característica fenotípica muy típica, que es una cápsula de polisacárido que rodea a la célula y que no se encuentra en otras levaduras. Esta cápsula es fácilmente visible tras la suspensión de las levaduras en tinta china, apareciendo como un halo blanco alrededor de la célula. La cápsula es necesaria para la virulencia, ya que se ha descrito que tiene múltiples efectos deletéreos sobre la respuesta inmune.

La principal especie patógena de este género es *Cryptococcus neoformans*. Esta especie se encuentra en múltiples nichos en el ambiente, y se cree que se adquieren por inhalación, siendo el pulmón el primer órgano que colonizan. Aunque normalmente las levaduras son controladas y eliminadas por el sistema inmune del pulmón, existen evidencias de que *C. neoformans* también puede permanecer en este órgano durante mucho tiempo, causando infecciones crónicas asintomáticas. El cuadro clínico más grave se produce cuando las levaduras son capaces de diseminarse desde el pulmón a otros órganos, siendo el cerebro el órgano donde se alojan preferentemente, y lo cual se produce en enfermos con bajo recuento de linfocitos CD4+, sobre todo VIH+. Por ello, el cuadro clínico más característica es meningoencefalitis que tiene una mortalidad asociada muy alta (alrededor del 20%). Las

enfermedades causadas por *C. neoformans* tienen una alta incidencia, sobre todo en regiones en vías de desarrollo, como el África Subsahariana, donde causa más de cien mil muertes anualmente.

El tratamiento de las enfermedades fúngicas invasoras sigue siendo un reto. Hay tres familias de antifúngicos usados en clínica para tratar estas enfermedades: polienos (anfotericina B), azoles (fluconazol, itraconazol, posaconazol, voriconazol e isavuconazol) y candinas (caspofungina, micafungina, anidulafungina y rezafungina). Estos antifúngicos presentan varias limitaciones. Muchos tienen efectos secundarios, como la anfotericina y azoles. En otros casos, el espectro de acción es limitado. El antifúngico más activo frente a la mayoría de hongos es la anfotericina, siendo el resto activos frente a un número limitado de levaduras. Por ejemplo, los azoles tienen actividad reducida frente a *C. glabrata* y *C. auris*. En el caso de las candinas, tienen actividad limitada frente a *C. parapsilosis* y no son activas frente a *C. parapsilosis*. Otro problema asociado a la administración de los antifúngicos es la selección de resistencias. Estos fármacos se administran de manera frecuente como tratamiento profiláctico o empírico, es decir, sin tener la certeza de que existe una infección probada. Así pues, el uso masivo de antifúngicos en las últimas décadas ha producido una selección de especies que presentan sensibilidad reducida o resistencia intrínseca a determinados antifúngicos, como es el caso de *C. glabrata*, *C. parapsilosis* o *C. auris*. Por último, el precio de la mayoría de los antifúngicos es alto, lo que limita su administración. Por ello, es necesario el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas para disminuir el impacto de estas enfermedades en nuestra sociedad.

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN DESARROLLADAS

El grupo está interesado en elucidar los mecanismos involucrados en el desarrollo de enfermedades por levaduras patógenas, principalmente *C. neoformans*. Además, en los últimos años ha iniciado otras líneas cuyo objetivo es identificar nuevas terapias basadas en el reposicionamiento de fármacos no sometidos a patentes (off-patent drug repurposing).

1) Mecanismos de adaptación de *Cryptococcus neoformans* al huésped. Papel de las células gigantes

Entre todos los hongos patógenos, *C. neoformans* ofrece un modelo único de investigación. Además de que es una levadura que causa un gran número de muertes al año, *C. neoformans* posee múltiples mecanismos de adaptación al huésped que hacen que pueda evadir la respuesta inmune de manera muy efectiva. La cápsula de polisacárido protege a las levaduras frente a los factores de estrés que induce el sistema inmune, como radicales libres o péptidos antimicrobianos. Pero el polisacárido de la cápsula también puede actuar como factor de virulencia e interferir con la respuesta inmune. Otra característica de esta levadura es su capacidad de sobrevivir dentro de células fagocíticas, por lo que se comporta como un patógeno intracelular facultativo.

Nuestro grupo está interesado en otro de los mecanismos que permiten a *C. neoformans* sobrevivir en el huésped, que es la formación de las denominadas células gigantes. Dichas células se forman por un crecimiento masivo tanto de la cápsula como del cuerpo celular (delimitado por la pared). El tamaño normal de las levaduras en condiciones de laboratorio es de 5-7 micras. Sin embargo, en modelos animales, hemos encontrado que hay una población de células que puede alcanzar más de 40 micras de diámetro (ver figura 1).

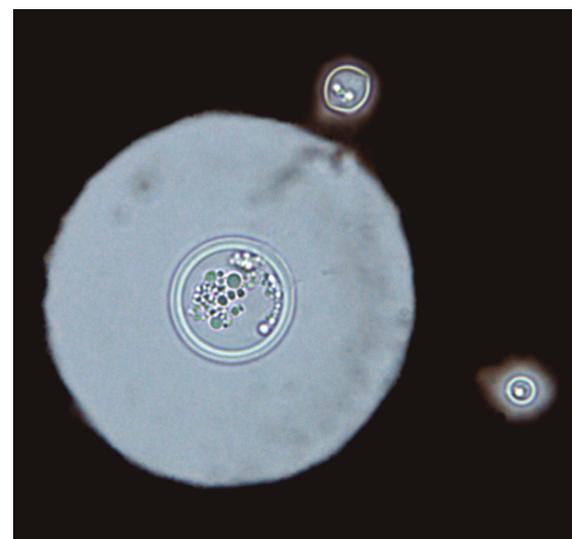


Figura 1. Célula gigante de *C. neoformans*, junto a dos células de tamaño regular.

Para entender el papel de estas células en la virulencia de *C. neoformans*, estamos llevando a cabo diferentes aproximaciones (ver figura 2).

- Estudios *in vivo*. Para averiguar los factores del huésped que regulan la formación de células titanes, estamos utilizando diferentes modelos animales que tienen una diferente polarización en la respuesta inmune (ratones KO, administración de citoquinas, anticuerpos bloqueantes, etc). Nuestros resultados indican que en condiciones en la que la principal respuesta inmune es de tipo Th2 hay una mayor proporción de células titanes en los pulmones. Estos estudios pueden ayudar a comprender los factores de susceptibilidad de determinados pacientes a desarrollar enfermedades causadas por *C. neoformans*, pero también ayudar a predecir la efectividad de tratamientos antifúngicos.
- Mecanismos moleculares que regulan la formación de células titanes. Recien-

temente, nuestro grupo ha sido capaz de describir medios de laboratorio (limitación de nutrientes con suero y CO₂) en los que *C. neoformans* aumenta de tamaño significativamente (diámetro alrededor de 30 micras). Aunque estas células no tienen el tamaño que se observa *in vivo*, las hemos denominado "titan-like" y consideramos que ofrecen un modelo óptimo para investigar los procesos que desencadenan este proceso morfológico. Hemos llevado a cabo varios abordajes, como RNAseq, que nos han permitido identificar nuevos elementos que regulan este proceso. Recientemente, usando la estrategia del reposicionamiento de fármacos (ver más adelante), también hemos identificado fármacos que inhiben el crecimiento celular en *C. neoformans*, lo que nos permitirá por un lado identificar nuevos elementos reguladores tras identificar la diana de estas drogas, y también evaluar su potencial terapéutico.

2) Mecanismo de acción de antifúngicos

El grupo también está interesado en la mejora de los tratamientos antifúngicos. De las familias descritas anteriormente, el antifúngico que presenta la mayor actividad fungicida es la Anfotericina B (AmB), aunque también es de los que tiene mayor toxicidad asociada. Clásicamente, el mecanismo de acción de este antifúngico se ha basado en su unión al ergosterol, principal esterol de la membrana de los hongos, favoreciendo la formación de poros y muerte celular. Estudios recientes han mostrado que existen además otros mecanismos por los que la AmB ejerce su función, como son el secuestro de ergosterol e inducción de estrés oxidativo. En cuanto al primero, la AmB se une al ergosterol, apartándolo de la membrana y causando daño celular. En cuanto al estrés oxidativo, la AmB favorece el aumento de especies reactivas de oxígeno, llevando a alteraciones en la estructura de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos, y causando daño en las células. Por lo tanto, la AmB provo-

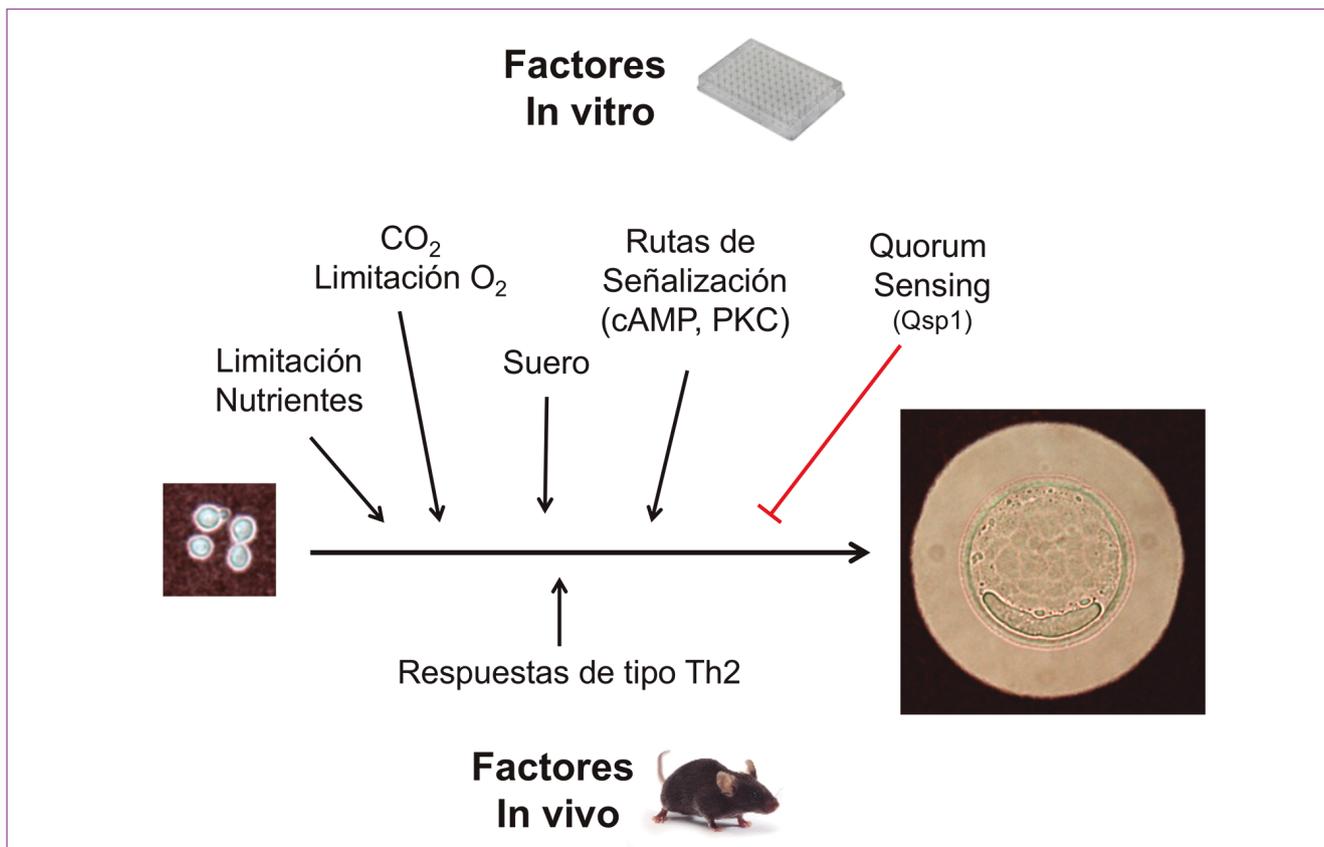


Figura 2. Resumen de los principales factores que regulan la formación de células titanes.

ca daño tanto a nivel de membrana como a nivel intracelular, por lo que es necesario seguir investigando la función de los radicales libres en la acción de esta molécula para poder diseñar terapias más eficaces y con menor toxicidad.

3) Reposicionamiento de fármacos

Para intentar solucionar los problemas que presentan los fármacos citados anteriormente, en los últimos años se está trabajando en estrategias basadas en el reposicionamiento de fármacos no sometidos a patente (“off-patent drug repurposing”). Con ello se pretende buscar nuevas actividades de fármacos ya comercializados que puedan mejorar las terapias actuales y reducir el coste y la toxicidad del tratamiento. Se han encontrado fármacos, como el antibiótico eritromicina, que aumentan la efectividad de la AmB, lo cual abre la puerta a plantear nuevas estrategias terapéuticas basadas en nuevas combinaciones de fármacos.

En paralelo, hemos utilizado esta estrategia para encontrar fármacos que presenten actividad frente a hongos patógenos emergentes, como es el caso de *Candida auris*, la cual se ha convertido en una levadura de especial preocupación por ser causa de múltiples brotes hospitalarios a nivel mundial en los últimos años.

COLABORACIONES

Jesús Pla. Facultad de Farmacia. UCM, Madrid.

Toni Gabaldón. IRB, Barcelona.

Francisco Lozano. IDIBAPS, Barcelona.

Joaquín Ariño. UAB, Barcelona.

Jesús Pérez Gil. Facultad de Biología, UCM, Madrid.

Juan Carlos Argüelles. Universidad de Murcia.

Arturo Casadevall. John Hopkins University, USA.

María Jose Mendes Giannini. USP, Brasil.

Guilhem Janbon. Instituto Pasteur, Paris, Francia.

Liise-anne Pirotski, Albert Einstein College of Medicine, Nueva York, USA.

María Luisa Gaspar y Belén de Andrés. CNM, ISCIII.

Emilia Mellado Terrado. Laboratorio de Referencia e Investigación en Micología. CNM, ISCIII.

PUBLICACIONES

Rossi SA, de Oliveira HC, Agreda-Mellon D, Lucio J, Mendes-Giannini MJS, García-Camero JP, Zaragoza O. Identification of Off-Patent Drugs That Show Synergism with Amphotericin B or That Present Antifungal Action against *Cryptococcus neoformans* and *Candida* spp. *Antimicrob Agents Chemother.* 2020; 64(4):e01921-19.

de Oliveira HC, Monteiro MC, Rossi SA, Pemán J, Ruiz-Gaitán A, Mendes-Giannini MJS, Mellado E, Zaragoza O. Identification of Off-Patent Compounds That Present Antifungal Activity Against the Emerging Fungal Pathogen *Candida auris*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2019 2;9:83.

Trevijano-Contador N, de Oliveira HC, García-Rodas R, Rossi SA, Llorente I, Zaballos Á, Janbon G, Ariño J, Zaragoza O. *Cryptococcus neoformans* can form titan-like cells in vitro in response to multiple signals. *PLoS Pathog.* 2018; 14(5):e1007007.

Rueda C, Puig-Asensio M, Guinea J, Almirante B, Cuenca-Estrella M, Zaragoza O; CANDIPOP Project from GEIH-GEMICOMED (SEIMC) and REIPI. Evaluation of the possible influence of trailing and paradoxical effects on the clinical outcome of patients with candidemia. *Clin Microbiol Infect.* 2017; 23(1):49.e1-49.e8.

Mesa-Arango AC, Rueda C, Román E, Quintin J, Terrón MC, Luque D, Netea MG, Pla J, Zaragoza O. Cell Wall Changes in Amphotericin B-Resistant Strains from *Candida tropicalis* and Relationship with the Immune Responses Elicited by the Host. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016; 60(4):2326-35.

García-Barbazán I, Trevijano-Contador N, Rueda C, de Andrés B, Pérez-Tavárez R, Herrero-Fernández I, Gaspar ML, Zaragoza O. The formation of titan cells in *Cryptococcus neoformans* depends on the mouse strain and correlates with induction of Th2-type responses. *Cell Microbiol.* 2016; 18(1):111-24.

Trevijano-Contador N, Herrero-Fernández I, García-Barbazán I, Scorzoni L, Rueda C, Rossi SA, García-Rodas R, Zaragoza O. *Cryptococcus neoformans* induces antimicrobial responses and behaves as a facultative intracellular pathogen in the non mammalian model *Galleria mellonella*. *Virulence.* 2015;6(1):66-74.

Mesa-Arango AC, Trevijano-Contador N, Román E, Sánchez-Fresneda R, Casas C, Herrero E, Argüelles JC, Pla J, Cuenca-Estrella M, Zaragoza O. The production of reactive oxygen species is a universal action mechanism of Amphotericin B against pathogenic yeasts and contributes to the fungicidal effect of this drug. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014; 58(11):6627-38.

García-Rodas R, Cordero RJ, Trevijano-Contador N, Janbon G, Moyrand F, Casadevall A, Zaragoza O. Capsule growth in *Cryptococcus neoformans* is coordinated with cell cycle progression. *mBio.* 2014; 5(3):e00945-14.

Rueda C, Cuenca-Estrella M, Zaragoza O. Paradoxical growth of *Candida albicans* in the presence of caspofungin is associated with multiple cell wall rearrangements and decreased virulence. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(2):1071-83.

Zaragoza O, García-Rodas R, Nosanchuk JD, Cuenca-Estrella M, Rodríguez-Tudela JL, Casadevall A. Fungal cell gigantism during mammalian infection. *PLoS Pathog.* 2010. 6(6):e1000945.

Señalización en *Candida albicans* y mecanismos de adaptación al estado comensal

Daniel Prieto, Susana Hidalgo, Elvira Román, Rebeca Alonso y Jesús Pla



Departamento de Microbiología y Parasitología, IRYCIS, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Avda. Ramón y Cajal s/n 28040 Madrid, España



Nuestro grupo trabaja desde hace muchos años en (y con) una levadura patógena oportunista del ser humano, *Candida albicans*. Se trata de un hongo que forma parte de nuestra microbiota intestinal (y vaginal) sin producirnos aparentemente daño en individuos sanos. Cuando se producen alteraciones inmunológicas en el huésped, se utilizan antibióticos de amplio espectro, se sufre diabetes o existen determinadas alteraciones genéticas se favorece la aparición de las denominadas candidiasis, que suelen ser superficiales, mucocutáneas o en los casos más graves, sistémicas. En mujeres, producen vulvovaginitis, que puede ser recurrente y son un serio problema. Aunque las infecciones causadas por este hongo no son tan frecuentes como otras infecciones víricas o bacterianas, son muy graves y requieren casi siempre terapia antifúngica. Esta tera-

pia es escasa en número, los antifúngicos pueden tener limitaciones farmacocinéticas, de espectro o económicas y ello puede verse agravado en los próximos años con la aparición de resistencias frente a algunos usados en clínica. *C. albicans* es el hongo que se aísla con mayor frecuencia en infecciones sistémicas nosocomiales.

Aunque las razones de nuestro interés en este hongo son, en buena medida, fortuitas, en nuestro grupo siempre hemos intentado usar este microorganismo fascinante para hacernos (e intentar responder) preguntas cada vez más complejas. En ese sentido, podemos estar contentos con el organismo con el que llevamos décadas trabajando, pues esta levadura no para de surtirnos de ellas. Lo de plantear respuestas también nos entusiasma, por supuesto, aunque ello conlle-

ve lidiar con multitud de parámetros variables (y no solo de naturaleza biológica).

Experimentar con este hongo supone convivir con sus aparentes contradicciones. Se trata de un microbio que crece bien en el laboratorio, pero alterna distintas morfologías en el curso de la infección y cada una contribuye de forma diferente al proceso infeccioso, aunque no se conoce con total detalle. Se trata de un organismo diploide sin ciclo sexual completo, lo que dificulta la producción de mutantes en el laboratorio y ha habido que dedicar mucho esfuerzo por parte de nuestro grupo y otros para implementar mejoras en las estrategias de su manipulación genética. Aunque este hongo en algún momento de la evolución perdió la capacidad de llevar a cabo la meiosis, presenta mecanismos alternativos muy interesantes y complejos de generar variabilidad genética.

El eje del trabajo de nuestro grupo durante años ha sido el estudio de las rutas de señalización mediadas por quinasas de tipo MAP (MAPKs) en este hongo. Este tipo de rutas median respuestas frente a ciertos estímulos como diversos tipos de estrés, alteraciones en la pared celular fúngica, moléculas de *quorum sensing*, etc. Tras la activación por fosforilación secuencial de distintos elementos de las rutas (a veces interconectadas), la MAPK puede translocarse al núcleo desencadenando una activación/represión transcripcional en genes concretos que permite a la célula compensar o adaptarse de forma específica a los cambios que dieron lugar al estímulo inicial. Sin embargo, una sobreactivación suele implicar toxicidad, por lo que la señalización está sometida a una regulación estricta. Su relativa cercanía evolutiva con *Saccharomyces cerevisiae* nos ha permitido identificar y estudiar la mayor parte de los componentes de estas rutas. Hemos puesto de manifiesto el papel de algunas de estas quinasas en la respuesta al daño oxidativo, en la construcción de la pared celular, en los cambios morfológicos que se producen durante la infección y en la interacción con el sistema inmunológico. No es de extrañar, por ello, que estas rutas sean importantes factores de patogenicidad (si tiene algún sentido este concepto en un patógeno oportunista) y sean dianas terapéuticas en que basar el diseño de nuevos antifúngicos.

Parte de nuestro esfuerzo inicial consistió en el desarrollo de sistemas de manipulación genética (aislamiento de replicones, esquemas de delección, sistemas de expresión) que permitieran poder trabajar con este hongo. Más recientemente, hemos usado la metodología CRISPR como sistema de regulación de expresión genética en esta levadura. Aunque la manipulación genética de *C. albicans* ha sido una ocupación constante y necesaria en nuestro grupo, nos hemos ido orientado siempre hacia el estudio de la interacción con

el hospedador. Ello ha supuesto usar modelos celulares, principalmente de la inmunidad innata (barreras, macrófagos, neutrófilos) y con modelos animales (ratón) cuya puesta a punto y análisis han ocupado gran parte de nuestra capacidad científica de los últimos años. Hemos profundizado no solo en el proceso infeccioso (modelos celulares y virulencia sistémica en ratón), sino también hemos implementados modelos de comensalismo, como es la colonización gastrointestinal. Esta última aproximación nos parece especialmente relevante por varios motivos: durante muchos años ha sido poco estudiada, es una etapa de interacción con mayor prevalencia y más prolongada en el tiempo, permite analizar el papel de la microbiota y usa modelos animales poco invasivos y sin generar sufrimiento. Gracias a ello estamos empezando a conocer qué genes son responsables de la colonización intestinal, que papel juegan ciertos factores (oxígeno, sales biliares, adhesión) en la colonización. Como dos no discuten si uno no quiere, también hemos abordado el estudio de factores del hospedador que intervienen en la patogenicidad de este hongo, del hospedador y hemos contribuido a conocer el papel de algunas poblaciones inmunitarias (CX3CR1+ intestinales) y receptores (TLR2/MyD88, Gal3, Dectin 1) en el control de la infección fúngica.

Las preguntas que nos hacemos en la actualidad en el grupo son muy diversas y complejas a pesar de su aparente sencillez. ¿Influye la adhesión en la capacidad de colonizar el tracto gastrointestinal de esta levadura? ¿Y la capacidad de filamentar? ¿En qué procesos están implicadas las MAPK durante el curso de la infección? ¿Es el apareamiento *in vivo* (es decir, en el curso de una infección o durante la colonización) posible? ¿Si es así, en qué condiciones y qué ventajas tendría para la levadura? ¿Podemos desarrollar cepas con mayor o menor capacidad de colonización? ¿Podríamos usar esas cepas de *C. albicans*

como vehículo de antígenos para la prevención de enfermedades humanas? Y por último ¿por qué estamos colonizados por esta levadura? Si en el curso de la coevolución entre el ser humano y *C. albicans* durante miles de años seguimos colonizados ¿qué ventajas nos aporta?

Nuestra línea consta de 5 profesores permanentes (D.P, E.R., R.A. y J.P), 2 investigadores predoctorales (S.H. e Isabel Cortés) y 1 técnico (Ioana Comán), además de 3-4 estudiantes de máster o de últimos cursos de grado que acogemos puntualmente cada curso.

Entre los grupos de investigación con que mantenemos frecuentes colaboraciones científicas con los siguientes: Dr. Oscar Zaragoza. Centro Nacional de Microbiología. Instituto Carlos III, Dr. B. Hube, Dept. of Microbial Pathogenicity Mechanisms, Hans-Knoell-Institute, Jena, Alemania, Dr. Christophe d'Enfert (Institute Pasteur, París), Dr. Ilian Iliev (Cornell University, New York), Dr. S. Panwar, Jawaharlal Nehru University, Nueva Delhi.

REFERENCIAS DESTACADAS RECIENTES

- Román E, Coman I, Prieto D, Alonso-Monge R, Pla J.** Implementation of a CRISPR-Based System for Gene Regulation in *Candida albicans*. *mSphere*. 2019;4(1).
- Leonardi I, Li X, Semon A, Li D, Doron I, Putzel G, et al.** CX3CR1(+) mononuclear phagocytes control immunity to intestinal fungi. *Science*. 2018;359(6372):232-6.
- Prieto D, Román E, Alonso-Monge R, Pla J.** Overexpression of the Transcriptional Regulator WOR1 Increases Susceptibility to Bile Salts and Adhesion to the Mouse Gut Mucosa in *Candida albicans*. *Front Cell Infect Microbiol*. 2017;7:389.
- Román E, Correia I, Salazin A, Fradin C, Jouault T, Poulain D, et al.** The Cek1-mediated MAP Kinase pathway regulates exposure of α -(1,2) and β -(1,2)-mannosides in the cell wall of *Candida albicans* modulating immune recognition. *Virulence*. 2016;7(5):558-77.
- Correia I, Alonso-Monge R, Pla J.** The Hog1 MAP Kinase Promotes the Recovery from Cell Cycle Arrest Induced by Hydrogen Peroxide in *Candida albicans*. *Front Microbiol*. 2016;7:2133.

Vigilancia epidemiológica de la enfermedad neumocócica invasiva y factores asociados a patogenicidad

José Yuste, Fernando González-Camacho y Mirian Domenech

[jyuste@isciii.es](mailto: jyuste@isciii.es)
[fgonzalez@isciii.es](mailto: fgonzalez@isciii.es)
[mdomenech@isciii.es](mailto: mdomenech@isciii.es)

Unidad de Neumococos. Laboratorio de Referencia e Investigación en Enfermedades Bacterianas Prevenibles por Vacunas.
 Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III. Ctra Majadahonda-Pozuelo Km 2. 28220. Majadahonda, Madrid.



Miembros del laboratorio (de izquierda a derecha): José Yuste, Beatriz López, Mirella Llamosí, Idoia del Río, Fernando González, Julio Sempere, Mirian Domenech.

El Laboratorio de Referencia de Neumococos (LRN) comenzó su actividad asistencial dando apoyo al Sistema Nacional de Salud en el año 1979 dedicándose desde entonces a la vigilancia microbiológica de *Streptococcus pneumoniae*, analizando los serotipos, genotipos y la resistencia antibiótica de los aislados clínicos de neumococo, procedentes de hospitales de las distintas comunidades autónomas. Desde entonces, se han identificado y caracterizado cerca de 100.000 aislados clínicos invasivos que están disponibles en nuestra colección de cepas. Todos los años notificamos los casos de enfermedad neumocócica invasiva a Europa a través del ECDC siendo el tercer país europeo que más casos notifica. El LRN está coordinado

por el Dr. José Yuste y se subdivide en dos unidades; por un lado, la parte diagnóstica y epidemiológica formada por dos ayudantes de investigación (Idoia del Río y Beatriz López) y la parte de investigación, formada por el Dr. Fernando González Camacho, la Dra. Mirian Domenech, Julio Sempere y Mirella Llamosí, que están realizando sus Tesis Doctorales. A continuación, se exponen las principales líneas de investigación del laboratorio.

INVESTIGACIÓN EN EPIDEMIOLOGÍA Y SALUD PÚBLICA

Neumococo es la principal bacteria responsable de las neumonías adquiridas en la

comunidad y uno de los principales agentes etiológicos de sepsis y meningitis bacteriana afectando principalmente a la población pediátrica y a los adultos mayores de 65 años. Nuestro laboratorio participa en la caracterización de las cepas circulantes aportando información muy valiosa al Sistema Nacional de Salud sobre la epidemiología de neumococo que es esencial para la detección precoz de clones y serotipos emergentes que puede ser de gran utilidad para evaluar el impacto de las actuales y futuras vacunas disponibles. Entre las técnicas utilizadas destaca la caracterización de neumococos mediante *dot blot* con antiseros, MLST, PCR-secuenciación de genes capsulares y PCR a tiempo real para muestras de cultivo negativo.

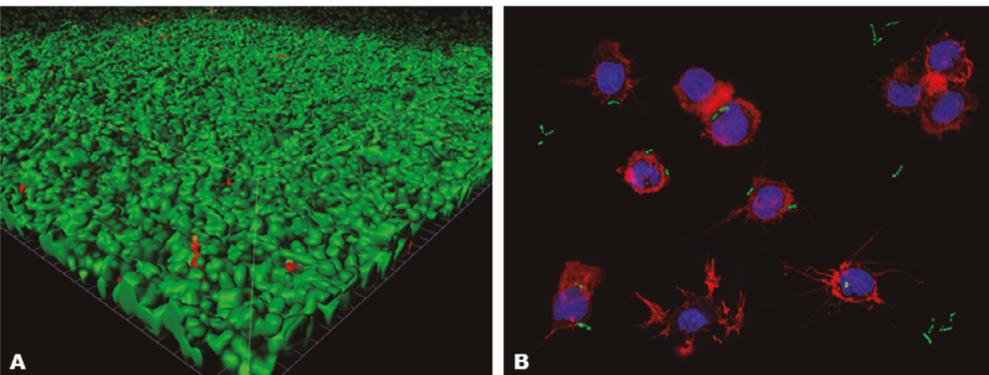


Fig. 1. A. Visualización de un biofilm neumocócico por microscopía confocal. Tinción con Syto9 de bacterias vivas (verde) y con ioduro de propidio de bacterias muertas (rojo). **B.** Fagocitosis de *S. pneumoniae* mediada por neutrófilos polimorfonucleares. Marcaje de los núcleos de los neutrófilos con Hoechst (azul), citoesqueleto de actina de los neutrófilos con rodamina (rojo) y neumococo (verde).

MECANISMOS DE VIRULENCIA

Desde hace varios años, nuestro laboratorio está enfocado en el estudio de los mecanismos moleculares relacionados con las diferentes etapas del proceso infeccioso entre las que destacan la colonización del tracto respiratorio superior, el establecimiento de la neumonía y su diseminación, produciendo enfermedad invasiva. Para lograr estos objetivos, nuestro laboratorio utiliza mutantes en diversos factores de virulencia, líneas celulares epiteliales, células fagocitarias (macrófagos y neutrófilos) así como ratones deficientes en receptores importantes del sistema inmune del huésped. Para poder abordar estos estudios se utiliza la citometría de flujo y la microscopía confocal como principales técnicas metodológicas.

BÚSQUEDA DE ANTÍGENOS VACUNALES BASADOS EN PROTEÍNAS CONSERVADAS

Las actuales vacunas disponibles están basadas en polisacáridos capsulares que pueden estar conjugados o no a una proteína transportadora. Debido a la elevada variabilidad de neumococo (100 serotipos), la limitación en el número de serotipos que pueden ser incluidos en una vacuna polisacáridica y el fenómeno de reemplazo de serotipos, se estudian vacunas alternativas a las actuales. En

nuestro grupo estamos caracterizando el papel protector de algunas proteínas de superficie que están muy conservadas.

IMPORTANCIA DE LOS BIOFILMS DE NEUMOCOCO EN LA PATOGENESIS Y LETALIDAD

Una de las líneas en la que nuestro laboratorio está interesado se basa en el estudio de los biofilms neumocócicos desde la perspectiva de salud pública analizando su impacto en la virulencia de los serotipos emergentes. Con la incorporación de la Dra. Domenech, experta en biofilms bacterianos, estamos analizando la relación entre la letalidad por serotipos y su capacidad de formación de biofilms ya que la formación de biofilm permite a la bacteria evadir el sistema inmune, así como desarrollar elevados niveles de resistencia antibiótica.

BIBLIOGRAFÍA RELEVANTE DE LAS DIFERENTES LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN EN LOS ÚLTIMOS 5 AÑOS

de Miguel S, Domenech M, González-Camacho F, Sempere J, Vicioso D, Sanz JC, García Comas L, Ardanuy C, Fenoll A, Yuste J. Nationwide trends of invasive pneumococcal disease in Spain (2009-2019) in children and adults during the pneumococcal conjugate vaccine era. *Clin Infect Dis.* 2020;ciaa1483.

Sempere J, de Miguel S, González-Camacho F, Yuste J, Domenech M. Clinical Relevance and Molecular Pathogenesis of the Emerging Serotypes 22F and 33F of *Streptococcus pneumoniae* in Spain. *Front Microbiol.* 2020; 11: 309.

Tarancón R, Domínguez-Andrés J, Uranga S, Ferreira AV, Groh LA, Domenech M, González-Camacho F, Riksen NP, Aguilo N, Yuste J, Martín C, Netea MG. New live attenuated tuberculosis vaccine MTBVAC induces trained immunity and confers protection against experimental lethal pneumonia. *PLoS Pathog.* 2020; 16(4):e1008404.

Domenech M, Sempere J, de Miguel S, Yuste J. Combination of antibodies and antibiotics as a promising strategy against multidrug-resistant pathogens of the respiratory tract. *Front Immunol.* 2018; 9:2700.

Corsini B, Díez-Martínez R, Aguinagalde L, González-Camacho F, García-Fernández E, Letrado P, García P, Yuste J. Chemotherapy with Phage Lysins Reduces Pneumococcal Colonization of the Respiratory Tract. *Antimicrob Agents Chemother.* 2018 25;62 (6).

Corsini B, Aguinagalde L, Ruiz S, Domenech M, Antequera ML, Fenoll A, García P, García E, Yuste J. Immunization with LytB protein of *Streptococcus pneumoniae* activates complement-mediated phagocytosis and induces protection against pneumonia and sepsis. *Vaccine.* 2016; 34 (50):6148-6157.

Ramos-Sevillano E, Urzainqui A, de Andrés B, González-Tajuelo R, Domenech M, González-Camacho F, Sánchez-Madrid F, Brown JS, García E, Yuste J. PSGL-1 on leukocytes is a critical component of the host immune response against invasive pneumococcal disease. *PLoS Pathog.* 2016;12 (3): e1005500.

Aguinagalde L, Corsini B, Domenech A, Domenech M, Cámara J, Ardanuy C, García E, Liñares J, Fenoll A, Yuste J. Emergence of amoxicillin-resistant variants of Spain^{9V}-ST156 pneumococci expressing serotype 11A correlates with their ability to evade the host immune response. *PLoS One.* 2015;10 (9): e0137565.

Aguinagalde L, Díez-Martínez R, Yuste J, Royo I, Gil C, Lasa I, Martín-Fontecha M, Marín-Ramos NI, Ardanuy C, Liñares J, García P, García E, Sánchez-Puelles JM. Auranofin efficacy against MDR *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* infections. *J Antimicrob Chemother.* 2015; 70(9): 2608-17

Ramos-Sevillano E, Urzainqui A, Campuzano S, Moscoso M, González-Camacho F, Domenech M, Rodríguez de Córdoba S, Sánchez-Madrid F, Brown JS, García E, Yuste J. Pleiotropic effects of cell wall amidase LytA on *Streptococcus pneumoniae* sensitivity to the host immune response. *Infect Immun.* 2015; 83 (2): 591-603.

Domenech M, Damian D, Ardanuy C, Liñares J, Fenoll A, García E. Emerging non-PCV13 serotypes 11A and 35B of *Streptococcus pneumoniae* show high potential for biofilm formation *in vitro*. *PLoS One.* 2015; 10(4): e0125636.

Luis Enjuanes y Adolfo García Sastre. Consejos para jóvenes microbiólogos

Entrevista: Samuel G. Huete e Ignacio Belda. Grabación, sonido y postproducción: Álvaro Sanz Llopis.



Imagen 1. Imagen de la entrevista online a los Drs. Enjuanes y García-Sastre realizada el pasado 9 de octubre de 2020.

You **Tube**

La entrevista a los Drs. Enjuanes y García Sastre puede verse en este enlace:



<https://youtu.be/yVxj-KpQZyU>

Reseña resumen de la entrevista realizada a Luis Enjuanes (Centro Nacional de Biotecnología, CNB-CSIC) y Adolfo García-Sastre (Icahn School of Medicine at Mount Sinai). Dentro de esta serie temática que JISEM desarrolla, microbiólogos de referencia nos dan su opinión y consejos sobre la situación y perspectivas de la ciencia para los jóvenes. Tienen la palabra los Drs. Enjuanes y García-Sastre. La entrevista completa en vídeo está disponible escaneando el código QR o copiando el enlace al pie de esta reseña.

¿CÓMO COMENZÓ USTED EN LA CIENCIA?

Luis: Yo tenía interés por hacer estudios en Bioquímica, y aunque eso no era posible directamente, afortunadamente, estudiar químicas para luego pasarse a ciencias de la vida es una idea estupenda. De hecho, ya cuando estaba haciendo la Tesina, me metí en el laboratorio de Química orgánica, porque era mas parecido a Ciencias de la vida, y tuve la suerte de que rápidamente me ofrecieran un trabajo en la Facultad de Medicina. De todas formas, yo ya tenía una tendencia hacia las ciencias experimentales, porque, aunque era un novato, desde muy pequeño ya hacía experimentos en casa; en mi propio dormitorio tenía una mesa donde hacía experimentos sencillos —como te puedes imaginar— y por supuesto siendo tan joven no había quien me quitara lo de fabricar pólvoras, que me causaron mas de un disgusto.

Y A USTED, ¿QUÉ LE LLEVÓ A DEDICARSE A LA BIOLÓGÍA?

Adolfo: Yo creo que me apasioné realmente por la Biología durante el Bachillerato, y fue gracias a un profesor que tuve de Biología. Me fascinó cómo se explicaban los determi-

nantes de la vida: la fotosíntesis, los procesos bioquímicos del DNA, RNA y proteínas... algo fascinante ¿no?

AL LLEGAR A MADRID USTED SE ENTREVISTÓ CON ELADIO VIÑUELA Y MARGARITA SALAS, ¿CÓMO LOGRÓ TRABAJAR CON ELLOS?

Luis: Me acuerdo que (durante la entrevista) la gota que colmó el vaso, fue que Eladio, en un momento en que Margarita salió del despacho, me preguntó: oye Luis, y tú ¿qué lees por las noches? Y, entonces, yo le dije que leía un libro de principios de Virología, de un señor que luego fue premio Nobel. Yo sabía que ese libro me encantaba —de hecho, guardo dos ejemplares antiguos del mismo— y cuando Margarita Salas volvió al despacho, le dijo: *oye, que me ha dicho Luis que, como libro de cabecera de cama, lee el libro de Luria.* Tras esto, dijo: *estás contratado.*

¿QUÉ RECUERDOS CONSERVA DE SU ÉPOCA EN LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA?

Adolfo: Eso lo recuerdo con mucho cariño. Yo tuve la suerte de que tenía muy buena

memoria y no me costaba mucho estudiar para sacar buenas notas; podía aprovechar entonces para divertirme durante el fin de semana y la noche salmantina. Hice muchos amigos, y fueron unos años muy divertidos, conocí a mi mujer en aquella época y nos hicimos novios, y además de que fueron años muy divertidos, en la parte profesional afiancé mi vocación investigadora. Es bonito cuando puedes tener un balance entre la vida personal, pasártelo bien, y la vida profesional, y eso es lo que me ocurrió a mi cuando estaba en la universidad.

¿CÓMO FUE SU INICIO EN ESTADOS UNIDOS?

Adolfo: Pedí una beca, en aquel momento podían pedirse becas de formación de personal investigador en el extranjero. Yo había terminado mi tesis en noviembre, nos casamos en enero, y quería ya ir a Estados Unidos en enero. Entonces pedí una beca en su modalidad temprana, que no me permitía pedir posteriormente una beca en la modalidad tardía ordinaria, y luego me enteré que becas tempranas casi no había ninguna... así que, no me dieron la beca. Entonces, el que sería mi jefe en Estados Unidos, me dijo: *no te preocupes, yo te pago*. ¡Y yo estaba espantado! Pensaba: ahora tengo que producir mucho, porque no vengo con mi dinero... si viniera con mi dinero, no pasa nada, no te están manteniendo. Al final conseguí una beca, pero esos momentos fueron duros, simplemente por la cosa psicológica, pensando, me están pagando, estoy haciendo un gasto a mi jefe y necesito producir. Además, yo apenas sabía inglés cuando llegué aquí. Podía leer inglés, pero apenas hablar y entender el inglés hablado. Así que fueron meses duros, de muchos dolores de cabeza para intentar entender el inglés, pero también los recuerdo con mucho cariño.

AL CONTRARIO QUE EL DR. GARCÍA SASTRE, USTED, DR. ENJUANES, SE VOLVIÓ A ESPAÑA, ¿POR QUÉ?

Luis: En mi caso, es muy fácil de explicar. Al principio lo pasé mal en Estados Unidos, por haber plantado cara al jefe y cosas por el estilo, pero luego me fue muy bien. Eladio Viñuela me llamaba para que me presentara a

oposiciones. Yo al principio me negué a venir, porque todavía no tenía muy buenos resultados, pero luego las oposiciones se cerraron, porque no había dinero, y eso me dio un par de añitos para que mi trabajo despegase de una forma fantástica. Experimento que hacía, experimento que me salía; y eso es muy poco frecuente. Recogí una buena historia científica y, entonces, cuando me dijo que volviese a España ya sí volví. De hecho, por ser sincero, no me dijo que viniera a las oposiciones, sino que me mandó un ultimátum. Me dijo que, o venía o que me olvidara.

USTED EN ESTADOS UNIDOS TRABAJÓ EN UN CENTRO EN EL QUE SE INVESTIGABA CON ARMAS BIOLÓGICAS, ¿QUÉ CONOCIÓ DE ELLO?

Luis: Bueno, yo trabajé en Fort Detrick, donde había laboratorios de armas biológicas. De hecho, mi laboratorio había sido uno de esos. Siempre teníamos miedo de romper algo de la pared por si quedaba algún patógeno por allí. Por contar una anécdota, un día vino un helicóptero muy grande —de hecho, era sólo el esqueleto de un helicóptero, para no pesar y poder levantar grandes pesos—, y es que el laboratorio de al lado había sido donde prepararon el ántrax y lo querían desmantelar. La parte de arriba del edificio era toda metálica y, tras desmontar todos los tornillos, el helicóptero trató de levantar el techo para llevarlo a una piscina que habían preparado para sumergirlo allí con agentes inactivantes, pero tras varios intentos no pudo porque se habían olvidado de eliminar un tornillo. Esto es sólo una anécdota, pero sí es cierto que llevábamos cuidado por si quedaba algún residuo por allí.

SIENDO VIRÓLOGO, ¿QUÉ OPINA USTED SOBRE LA GUERRA BIOLÓGICA?

Luis: Yo preferiría que estos estudios no se hicieran, y este tipo de armamentos no se desarrollaran, pero también hay gente que opina que esto es el “arma de los pobres”. Porque en realidad hoy ya hay muchos países con pocos recursos económicos que sí pueden desarrollar estas armas, para bien y para mal, y sin embargo no tienen la capacidad de desarrollar armas nucleares. Por ello, hay que tener la perspectiva de que países que no se pueden defender de otra manera a lo mejor

recurran a este tipo de tecnologías, que yo, para que no quede ninguna duda, no aconsejo desarrollar.

SI PUDIERA VOLVER AL PASADO, DR. GARCÍA SASTRE, ¿CAMBIARÍA ALGO DE SU VIDA?

Adolfo: La verdad, haber podido realizar mi sueño de cuando estaba en Bachiller, poder investigar, es muy bonito; pensar que has realizado tu sueño y que trabajas en algo que te gusta. Pero es verdad que es muy sufrido, es súper sufrido, y tiene que gustarte realmente lo que estás haciendo para poder echar todo lo que hay que echar. Por mencionar algo de lo que pueda arrepentirme, lo que ha sido más difícil para mí ha sido el balance entre la vida familiar y la vida profesional. Es verdad que, si lo pienso bien, he dedicado menos tiempo a mis hijos, que ya son mayores, y mi mujer ha tenido que quedarse muchas horas con mis hijos mientras yo echaba tiempo en el laboratorio. Es difícil alcanzar un equilibrio adecuado cuando estás viendo algo en lo que estás muy inmerso.

¿ES IMPORTANTE TENER BUENOS MENTORES EN CIENCIA?

Luis: Yo creo que es importante. Pero claro, pasado un tiempo... que nos lo cuenten a Adolfo o a mí, tú ya eres independiente y tienes que generar nuevas ideas, nuevo conocimiento y aportar una creatividad que depende fundamentalmente de ti en el laboratorio. Te rodeas también de muy buenos estudiantes, que también pueden contribuir a esta creatividad. Por ello, en una primera fase el mentor es muy importante, pero después el mentor eres tú.

Adolfo: Es verdad, como decía Luis, la carrera del experimentador es una carrera que requiere mucho trabajo y sacrificio, y necesitas tener la imagen de alguien que ya haya pasado por esa carrera y te diga: *esta carrera es fantástica*. Porque, a no ser que tengas alguien que te diga que esta carrera es fantástica, que no te preocupes por lo que estás sufriendo ahora, que eres una persona que vale... todo eso es algo que ayuda mucho. Sobre todo, cuando estás empezando, es muy difícil manejar todo el sufrimiento sin tener alguien que te permita pensar que,

si sigues trabajando, vas a conseguir llegar y tener lo que tiene tu mentor.

¿CUÁL HA SIDO SU MAYOR GRATIFICACIÓN COMO CIENTÍFICO?

Luis: Bueno, mi experiencia es que, cuando un experimento no te sale y te cuesta sacarlo, cuanto más te ha costado, normalmente la novedad del resultado es más importante. Para mí, construir vida nueva, poder modificar un virus, hacer un virus nuevo que antes era virulento y ahora es atenuado; que ha pasado de ser un enemigo a ser ahora una vacuna... eso para mí tiene mucha satisfacción.

Adolfo: Es curioso que Luis haya mencionado virus recombinantes, porque eso fue uno de los mejores momentos que he tenido durante mi carrera científica. Estuvimos trabajando en el laboratorio de Peter Palese, durante 5 o 6 años, intentando rescatar virus de la gripe a partir de plásmidos de DNA, intentándolo a diario, cambiando una cosa u otra y nunca consiguiéndolo. Yo trabajaba con Ervin Fodor, un chico que luego se volvió a Inglaterra y que continuó el trabajo que estábamos haciendo juntos. Me llamó un día a la 1:00 de la maña-

na, estaba en la cama dormido, y me dijo: ¡¡He rescatado!! Fue muy bonito, saber que habíamos sido capaces de rescatar virus de la gripe a partir de plásmidos de DNA.

UN CONSEJO PARA UN JOVEN MICROBIÓLOGO

Luis: Que se asegure que tiene una gran vocación por esa disciplina. Hay muchas disciplinas, y en el caso de la investigación científica es muy importante que le guste, porque tiene que vivir una vida muy intensa dedicada a esa disciplina.

Adolfo: Bueno, lo mas importante es tener vocación y realmente saber que te gusta. Y luego, buscar un laboratorio que te permita conseguir un *curriculum* que te vaya a ayudar. Necesitas el apoyo tanto financiero como del equipo para poder hacerte un *curriculum* que te permita seguir trabajando.

UNAS PREGUNTAS RÁPIDAS:

Su microorganismo favorito:

Luis: Los virus en general, y los coronavirus en particular.

Adolfo: El virus de la gripe.

Un país para investigar:

Luis: A mi me gusta el estilo europeo.

Adolfo: Estados Unidos.

Un sitio para visitar:

Luis: Europa me gusta mucho, pero ir a Estados Unidos es un privilegio. Allí todo va más aprisa, hay muchos medios, son muy prácticos y muy inteligentes. Recomiendo a cualquier científico ir a Estados Unidos.

Adolfo: Me gustaría visitar las pirámides del Nilo.

Un libro para leer:

Luis: El azar y la necesidad, de un premio Nobel Francés (Jacques L. Monod).

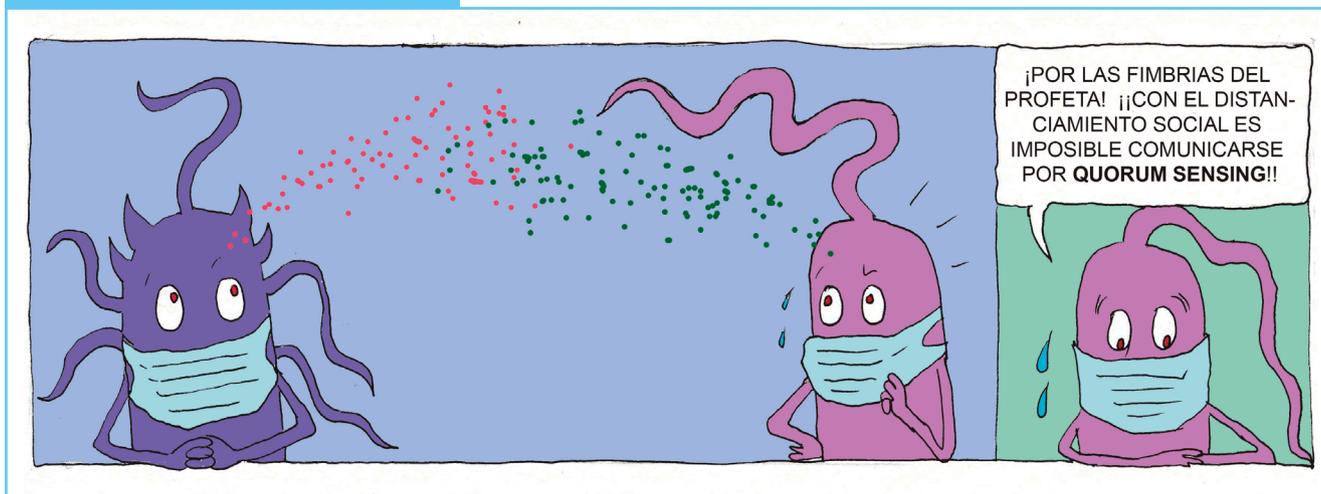
Adolfo: cualquier libro de Murakami o Saragamo.

Un científico referente:

Luis: Santiago Ramón y Cajal

Adolfo: Santiago Ramón y Cajal, hay que hacer patria. Podría decir también Pasteur, pero no me cae tan bien como Ramón y Cajal, la verdad.

COLILOQUIO



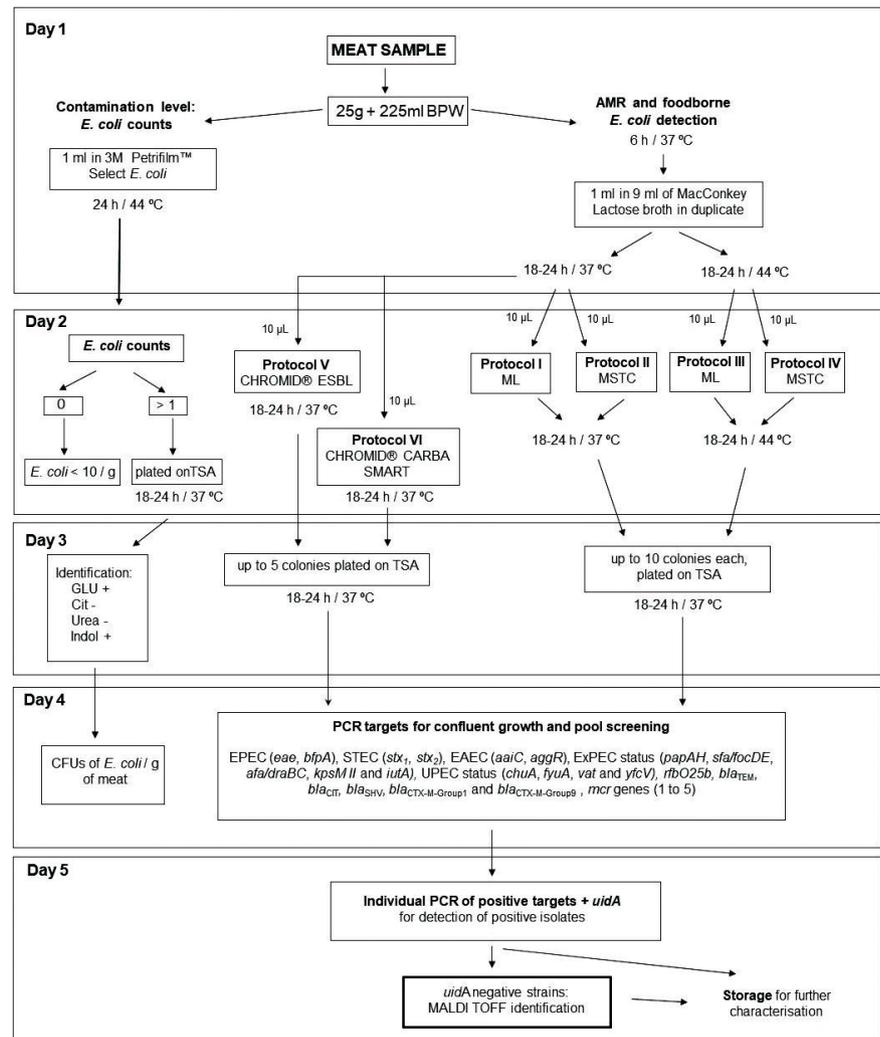
EVALUACIÓN DEL RIESGO MICROBIOLÓGICO DE LA CARNE DE PAVO Y POLLO PARA EL CONSUMIDOR

Dafne Díaz-Jiménez, Isidro García-Meniño, Alexandra Herrera, Luz Lestón, Azucena Mora*



Los alimentos, particularmente los productos avícolas, han sido reconocidos recientemente como reservorios potenciales de *E. coli* patógena extraintestinal (ExPEC) para los seres humanos. Por otro lado, los animales de producción serían la principal causa del aumento de resistencias frente a los antibióticos, incluida la resistencia a colistina.

Para valorar el riesgo microbiológico de un alimento, hemos diseñado un protocolo de trabajo de laboratorio (Figura) basado en el análisis de seis marcadores de virulencia / resistencia, e incluyendo el uso de una PCR dúplex para la detección de ExPEC. Este protocolo se validó con 100 productos cárnicos de ave destinados al consumidor. La caracterización de 323 aislamientos reveló que la carne de ave es una fuente filogenéticamente diversa de *E. coli* (filogrupos A a G) y *Escherichia* clado I. El 71% de las muestras de carne portaban cepas de *E. coli* no sensibles a monobactamas, cefalosporinas de tercera y/o fluoroquinolonas. Además, el 47% portaban ≥ 2 cepas diferentes de *E. coli* positivas para genes BLEE, pAmpC o *mcr*. Los aislamientos del 78% de las muestras exhibían el estatus ExPEC y el 53% eran portadores de aislamientos positivos para el estatus de uropatogenicidad (UPEC). Las secuencias tipo (ST) identificadas en el 86% de las muestras pertenecían a linajes ExPEC de alto riesgo, siendo el 73% portadoras de grupos clonales de *E. coli* identificados en infecciones humanas de la misma Área de Salud que las muestras de carne analizadas. Es de destacar que recuperamos más de un clon asociado con patología humana en misma muestra de carne: p.e. ST131-B2 (CH40-22), ST648-F (CH4-58), ST93-A (CH11-neg); ST95-B2 (CH38-27), ST354-F (CH88-58), ST155-B1 (CH4-neg), respectivamente. Aplicando el análisis de riesgo propuesto, el 84% de las muestras de carne presentaban ≥ 3 riesgos, incluidos genes de resistencia, clones exitosos de *E. coli* y factores de virulencia. La carne de pavo mostró tasas significativamente más altas de cepas multirresistentes, o portadoras del gen *mcr* de resistencia a colistina; mientras que el estatus ExPEC, o la presencia de patotipos híbridos como el aEPEC/ExPEC O153:H10-A-ST10 (CH11-54), se asociaron significativamente con la carne de pollo ($P < 0,05$). En la estrategia “de la granja a la mesa”, los ExPEC deben quedar claramente incluidos en la vigilancia alimentaria.



Flujo de trabajo diseñado para investigar el nivel de contaminación, y la prevalencia de resistencia a antimicrobianos (AMR) y de *E. coli* patógena transmitida por los alimentos.

Este estudio forma parte de la tesis doctoral de Dafne Díaz, dirigida por la Dra. Azucena Mora, Profa. Titular (USC), y desarrollada en el marco de los proyectos nacionales AGL2016-79343-R y PID2019-104439RB-C21/AEI/10.13039/501100011033.

Díaz-Jiménez D, García-Meniño I, Herrera A, Lestón L, Mora A. 2020. Microbiological risk assessment of turkey and chicken meat for consumer: Significant differences regarding multidrug resistance, *mcr* or presence of hybrid aEPEC/ExPEC pathotypes of *E. coli*. Food control. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107713>

COMPRENDIENDO LA APARICIÓN DE FENÓMENOS DE COLA EN LAS GRÁFICAS DE SUPERVIVENCIA DE *SALMONELLA* TYPHIMURIUM TRATADA POR PULSOS ELÉCTRICOS DE ALTO VOLTAJE

Delso, C., Martínez, J. M., Cebrián, G., Álvarez, I., Raso, J.

Tecnología de los Alimentos, Facultad de Veterinaria, Instituto Agroalimentario de Aragón-IA2, (Universidad de Zaragoza-CITA), Zaragoza, Spain

La tecnología de los Pulsos Eléctricos de Alto Voltaje (PEF) se ha demostrado eficaz en la inactivación de formas vegetativas de microorganismos debido al incremento de la permeabilidad de la membrana citoplasmática de la célula como consecuencia de la formación de poros de tamaño nanométrico (electroporación). Sin embargo, la cinética de muerte no es exponencial, observándose fenómenos de cola en las gráficas de supervivencia lo que indica que a partir de un determinado momento la velocidad de inactivación disminuye con el tiempo de tratamiento. Este hecho limita la aplicación industrial de esta tecnología como sistema de pasteurización de alimentos, siendo necesarios tratamientos muy intensos para poder alcanzar los niveles de inactivación microbiana adecuados para garantizar la seguridad sanitaria del alimento.

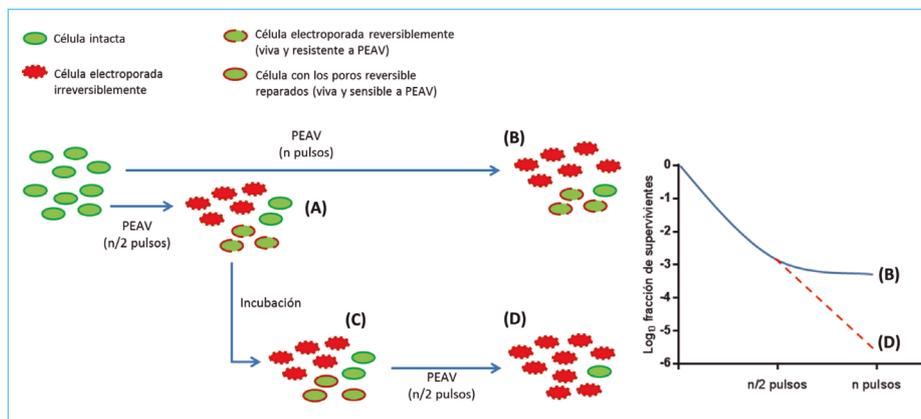


Diagrama adaptado de Delso et al. (2020)*

Hasta la fecha, la presencia de colas se ha atribuido a diversas causas como una distribución de resistencias a los PEF en la población microbiana, la falta de homogeneidad del campo eléctrico en las cámaras de tratamiento, fenómenos de adaptación celular durante los tratamientos, etc. En este estudio, se investigó por primera vez, otra causa que explicaría la cinética no lineal observada en las gráficas de supervivencia de *Salmonella* Typhimurium (CECT 878). Para ello, y como se muestra en el diagrama adjunto, se comparó la inactivación obtenida mediante la aplicación de un número de pulsos en una sola etapa ("n pulsos") con la obtenida aplicando el mismo número de pulsos divididos en dos etapas ("n/2 pulsos") separadas por un periodo de tiempo variable. Los resultados mostraron mayores niveles de inactivación cuando los tratamientos PEF se aplicaron en dos etapas espaciadas por un determinado tiempo de incubación (A, C y D) que cuando se aplicaban en una sola etapa (B), desapareciendo el fenómeno de cola en las gráficas de supervivencia (D). La monitorización de la electroporación celular mediante el uso de fluorocromos, que solo son capaces de entrar en el interior del citoplasma cuando la membrana citoplasmática no está íntegra, permitió determinar el porcentaje de células permeabilizadas tras los tratamientos PEF. Los resultados obtenidos evidenciaron que, cuando los pulsos se aplicaban en dos etapas, un porcentaje de células electroporadas y que seguían viables tras el tratamiento (A) podían cerrar los poros si antes de la aplicación de la segunda etapa de pulsos se dejaban incubar un tiempo suficiente (C). Se planteó la hipótesis de que estas células que se mantenían viables una vez electroporadas se volverían insensibles al efecto del campo eléctrico lo que provocaría la aparición de las colas en las gráficas de supervivencia. Esta pérdida de sensibilidad se atribuyó a que en una célula electroporada el campo eléctrico aplicado no provocaría el incremento del potencial transmembrana por encima del valor crítico que se requiere para que se manifieste la electroporación. Durante el intervalo de tiempo entre la aplicación de una etapa de pulsos y la siguiente, las células viables electroporadas reversiblemente cerrarían los poros formados, la membrana citoplasmática recuperaría su integridad (C) y como consecuencia las células volverían a ser sensibles a los tratamientos (D) desapareciendo las colas en las gráficas de supervivencia. El periodo de tiempo necesario para que las células cerraran los poros (de minutos a horas) dependió del pH del medio de incubación entre etapas de pulsos. En consecuencia, la aplicación de tratamientos de PEF en dos etapas permitiría que las células "resistentes" en la primera dosis de pulsos recuperaran su sensibilidad al campo eléctrico al cerrar sus poros tras un periodo de tiempo, consiguiendo así su inactivación en la segunda dosis de pulsos, desapareciendo las colas en las gráficas de supervivencia. Este fenómeno ha sido validado tanto en leche entera como en zumo de naranja. Estos resultados facilitan la posibilidad de desarrollar nuevas estrategias de aplicación de los tratamientos PEF a escala industrial para conseguir los niveles de inactivación microbiana necesarios para garantizar la seguridad sanitaria de los alimentos tratados.

* Delso, C., Martínez, J. M., Cebrián, G., Álvarez, I., & Raso, J. (2020). Understanding the occurrence of tailing in survival curves of *Salmonella* Typhimurium treated by pulsed electric fields. *Bioelectrochemistry*, 135, 107580. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2020.107580>

DETERMINANTES DE RANGO DE HUÉSPED DE LOS PATOVARES DE *PSEUDOMONAS SAVASTANOI* DE LEÑOSAS REVELADOS MEDIANTE GENÓMICA COMPARATIVA Y PRUEBAS DE PATOGENICIDAD CRUZADA

Alba Moreno-Pérez, Adrián Pintado, Eloy Caballo-Ponce, Jesús Murillo y Cayo Ramos

El estudio de los determinantes del rango de huésped dentro del complejo de *Pseudomonas syringae* está ganando una visión renovada, debido a la amplia distribución del patógeno en ambientes no agrícolas, así como a las evidencias de la gran variabilidad en el rango de huésped que existe entre cepas pertenecientes al mismo patovar. Se requiere, por tanto, establecer patosistemas modelos apropiados que faciliten la integración de datos fenotípicos, genómicos y evolutivos. La generación de la secuencia de nucleótidos completa del cromosoma y de los tres plásmidos nativos de la cepa de *Pseudomonas savastanoi* pv. savastanoi NCPPB 3335, patógena del olivo, y del borrador de los genomas de tres cepas de *P. savastanoi* aisladas de adelfa (pv. nerii), fresno (pv. fraxini) y retama (pv. retacarpa), nos ha facilitado realizar un

análisis genómico comparativo con otros 16 genomas de *P. savastanoi* disponibles pertenecientes a los cuatro patovares. A pesar de la superposición de los rangos de huésped de las diversas cepas, las pruebas de patogenicidad cruzada que hemos llevado a cabo nos permitieron separar claramente los patovares y reclasificar algunas cepas en un patovar diferente al que originalmente se habían asignado. Estos ensayos funcionales resultaron fundamentales para reconciliar la filogenia con el rango de huésped, así como para definir bioinformáticamente los repertorios de genes específicos de cada patovar. Hemos calculado que el pangenoma de estas 20 cepas se compone de 7953 familias de genes ortólogos, entre los que se encuentran 45 genes de efectores del sistema de secreción de tipo III, 24 de los cuales son comunes a todas las cepas y cuatro son exclusivos del pv. retacarpa. Los cuatro patovares se corresponden con linajes genéticos bien definidos, que correlacionan con la agrupación jerárquica de las cepas que se obtiene en base a sus genes efectores, lo que apoya el papel de éstos en el rango de huésped diferencial de cada patovar. A diferencia del pv. fraxini, cuyas cepas inducen chancro en fresno, los otros tres patovares, causantes de tumores en plantas, codifican genes implicados en la biosíntesis de las fitohormonas ácido indolacético y citoquininas, así como genes responsables de la síntesis de rizobitoxina y de un bacteriofitocromo. Otros genes exclusivos de patovar codifican proteínas de los sistemas de secreción de tipo I, tipo II, tipo IV y tipo VI, la fitotoxina fevamina A, un sideróforo, proteínas relacionadas con di-GMPc, MCP (*Methyl-accepting chemotaxis proteins*) y una amplia colección de reguladores transcripcionales y transportadores de ocho superfamilias diferentes. Nuestra combinación de análisis de patogenicidad con el uso de herramientas genómicas nos ha permitido asignar correctamente cepas a patovares y proponer un repertorio de genes novedosos relacionados con el rango de huésped en el complejo bacteriano *P. syringae*.

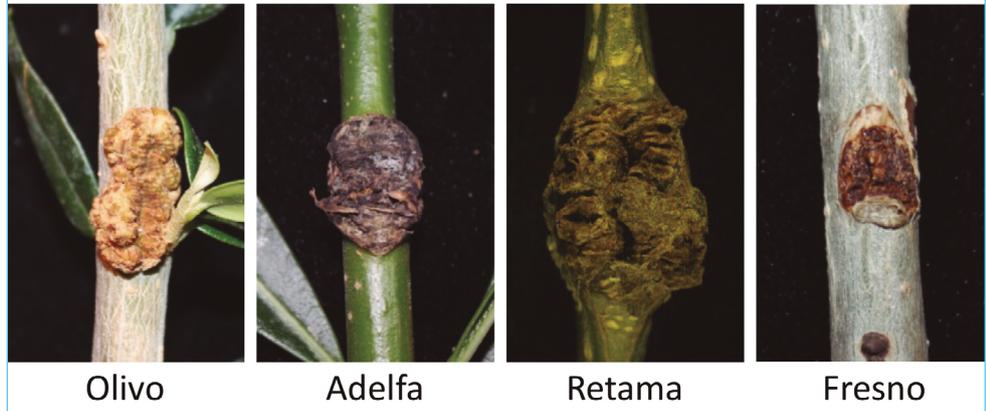
El artículo, se ha publicado en la revista *Frontiers in Plant Science* por investigadores de la Universidad de Málaga y el IHSM-UMA-CSIC (Alba Moreno, Adrián Pintado, Eloy Caballo, Cayo Ramos) en colaboración con Jesús Murillo (Universidad Pública de Navarra) y otras investigadoras de las Universidades Italianas de Perugia y Florencia.

Host Range Determinants of *Pseudomonas savastanoi* Pathovars of Woody Hosts Revealed by Comparative Genomics and Cross-Pathogenicity Tests. *Front. Plant Sci.* (2020) 11:973.

<https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00973>

<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2020.00973/full>

Síntomas generados por *P. savastanoi*



En la imagen se muestran los síntomas generados por cepas de la bacteria *Pseudomonas savastanoi* pertenecientes a sus cuatro patovares de plantas leñosas: de izquierda a derecha, pv. savastanoi (tuberculosis del olivo), pv. nerii (tuberculosis de la adelfa), pv. retacarpa (tuberculosis de la retama) y pv. fraxini (chancro del fresno).

BUSCANDO NUEVOS ANTIBACTERIANOS. LOS MÓDULOS DE UNIÓN A COLINA COMO AUMENTADORES DE LA FAGOCITOSIS

Emma Roig-Molina¹, Manuel Sánchez², Jesús M. Sanz^{1,3,4} y Beatriz Maestro^{1,3}

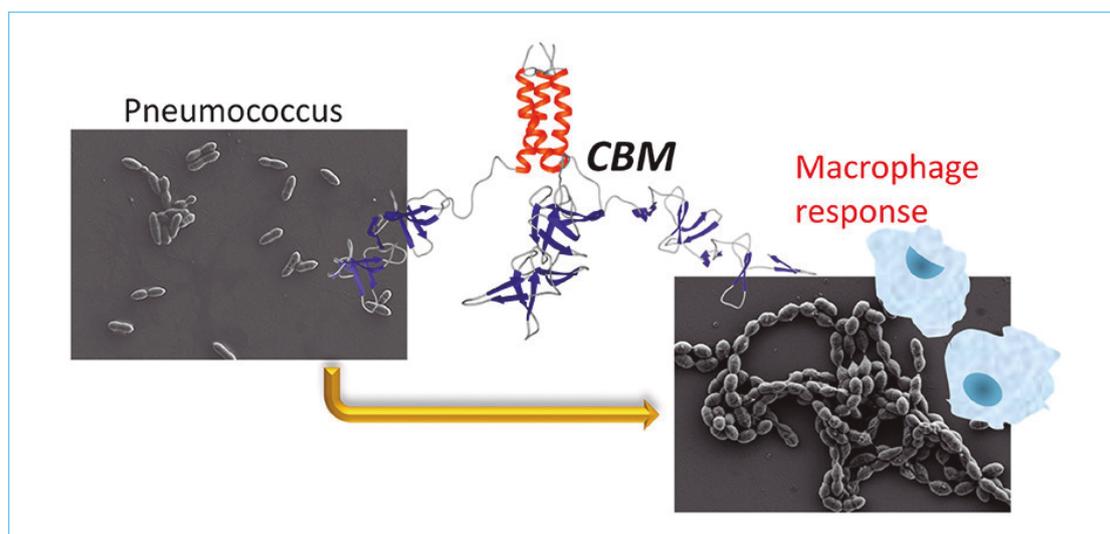
¹Instituto de Investigación, Desarrollo e Innovación en Biotecnología Sanitaria de Elche. Universidad Miguel Hernández

²Departamento de Producción Vegetal y Microbiología. Universidad Miguel Hernández

³Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CSIC)

⁴Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Respiratorias (CIBERES)

Las proteínas de unión a colina (Choline-Binding Proteins, CBPs) son una familia de polipéptidos modulares que están involucrados en diversas funciones esenciales del patógeno *Streptococcus pneumoniae* (neumococo). Las CBPs reconocen los residuos de colina presentes en los ácidos teicoicos de la pared celular usando para ello los llamados módulos de unión a colina (CBMs). Las CBPs pueden ser el objetivo en la búsqueda de nuevos fármacos para combatir a neumococo, sobre todo en el caso de cepas resistentes a los antibióticos.



En este trabajo se estudió el potencial de usar CBMs aislados que puedan actuar como inhibidores de las CBPs mediante la competición por los sitios de unión en la superficie de la pared celular. El primer paso fue la caracterización físico-química de la unión a la pared celular de los tres CBMs provenientes de las proteínas C-LytA, C-Cpl1 y C-CbpD. Para dicha caracterización se utilizaron nanopartículas magnéticas recubiertas de DEAE que imitaban la pared celular del neumococo. La interacción fue estudiada combinando diferentes técnicas de modelado molecular, centrifugación analítica, resonancia de plasmón de superficie, espectroscopía de fluorescencia y dicroísmo circular. Al añadir de manera exógena estos CBMs a cultivos en fase exponencial de *S. pneumoniae*, lo que se observaba al poco tiempo era la formación de largas cadenas producidas por la inhibición de las CBPs implicadas en separación celular, y que se agregaban formando flóculos y sedimentando en el fondo. Se observó que dichos agregados eran fácilmente reconocidos y fagocitados por macrófagos. Estos resultados indican que los CBMs pueden ser unos buenos candidatos para diseñar nuevas sustancias antimicrobianas basadas en la inducción del sistema inmunitario del hospedador.

Emma Roig-Molina, Manuel Sánchez-Angulo, Jana Seele, Francisco García-Asencio, Roland Nau, Jesús M. Sanz and Beatriz Maestro. (2020). *Searching for Antipneumococcal Targets: Choline-Binding Modules as Phagocytosis Enhancers*. ACS Infect. Dis. 2020, 6, 954–974. DOI: 10.1021/acinfecdis.9b00344

LA PERCEPCIÓN DE LA LUZ AZUL POR *PSEUDOMONAS SYRINGAE* DURANTE LA FASE EPIFITA ACTIVA LA EXPRESIÓN DE QUIMIORRECEPTORES, PERMITIENDO UNA INFECCIÓN EFICIENTE

Saray Santamaría-Hernando, Jean Paul Cerna-Vargas, Pedro Manuel Martínez-García, Sofía de Francisco-de Polanco, Sandra Nebreda, Pablo Rodríguez-Palenzuela, José Juan Rodríguez-Herva, Emilia López-Solanilla.



Las bacterias fitopatógenas colonizan la superficie de las plantas y pueden multiplicarse como epifitas y saprofitas antes de entrar en el interior de la planta. Durante esta etapa en la filosfera deben adaptarse al ambiente en la superficie de la hoja. Cuando las condiciones son favorables, las bacterias entran a través de heridas o aberturas naturales y se multiplican en el apoplasto de la planta. Una vez dentro, activan mecanismos de virulencia e inducen los síntomas asociados a la enfermedad. El estudio de las adaptaciones bacterianas en las etapas iniciales de la interacción es fundamental para dilucidar el cambio a un estilo de vida patógeno y el desarrollo de la enfermedad.

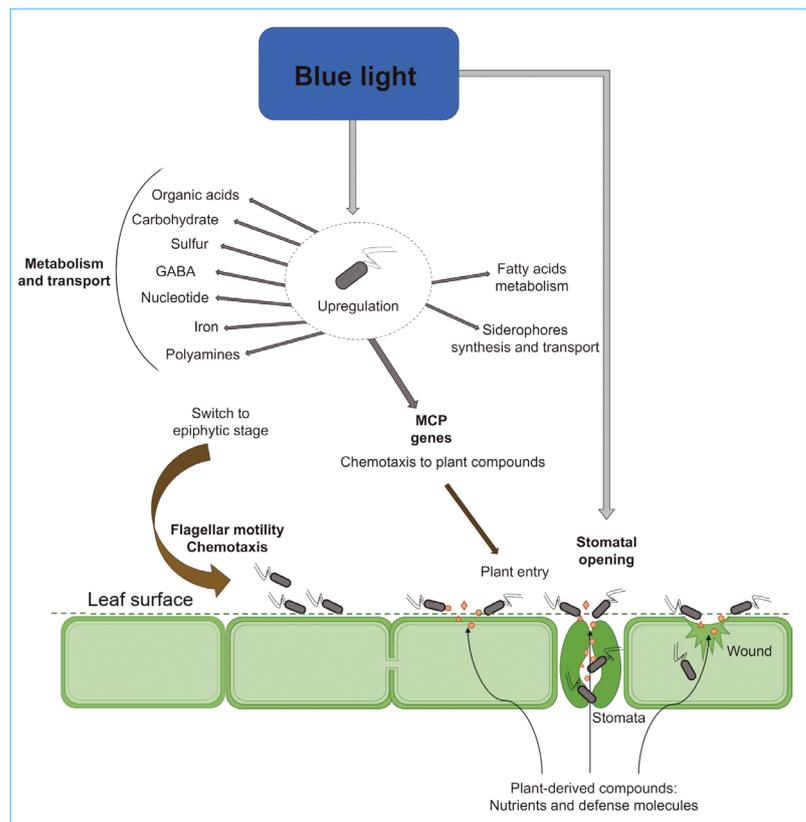
En este trabajo, hemos evaluado el efecto de la percepción de la luz sobre la expresión génica en poblaciones epifitas del patógeno modelo *Pseudomonas syringae* pv. tomatum DC3000 (PsPto) durante el contacto inicial con la superficie de hojas de tomate. Hemos observado que el contacto con la superficie de la hoja desencadena una profunda reprogramación génica en PsPto. La respuesta inicial se caracteriza por una significativa activación de los genes de quimiotaxis y motilidad bacteriana, independientemente de las condiciones de luz. Sin embargo, también hemos determinado que, una vez en la superficie de la hoja, la percepción de la luz azul por parte de PsPto es necesaria para lograr una colonización óptima. La percepción de la luz azul, a través de la función de los fotorreceptores de PsPto, desencadena la activación de la actividad metabólica y aumenta la expresión de cinco quimiorreceptores.

Los quimiorreceptores median la quimiotaxis hacia los compuestos liberados desde interior de la hoja y desde los estomas, facilitando la entrada al interior de la planta y el inicio del proceso de virulencia. Hemos demostrado que la inactivación de dos de los quimiorreceptores activados por la luz azul provoca una reducción de la virulencia. Además, en trabajos anteriores se ha demostrado que la luz azul es una señal para la apertura de los estomas, lo que facilita la entrada de bacterias al interior de la planta. Nuestros resultados ponen de manifiesto que durante la interacción de PsPto con plantas de tomate, la percepción de la luz, la quimiotaxis y la virulencia son procesos altamente conectados.

Estos resultados se han publicado en la revista *Molecular Plant Pathology* por investigadores del Centro de Biotecnología y Genómica de Plantas (CBGP) de la Universidad Politécnica de Madrid.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

"Blue-light perception by epiphytic *Pseudomonas syringae* drives chemoreceptor expression, enabling efficient plant infection". *Molecular Plant Pathology*. 2020 <https://doi.org/10.1111/mpp.13001>.



Modelo que ilustra el efecto de la percepción de la luz azul en *Pseudomonas syringae* durante la fase epifita: aumento en la expresión de genes relacionados con la quimiotaxis y con la actividad metabólica que permiten una respuesta óptima a las señales de la planta, y que sumado a la apertura de los estomas mediada por la luz azul, facilita la entrada de las bacterias al interior de la planta.

MECANISMOS DE INHIBICIÓN DE QUORUM SENSING: ESTUDIO EN LA MICROBIOTA DE INVERTEBRADOS MARINOS Y ANÁLISIS IN SILICO EN EL MEDIO AMBIENTE

Autor: José Carlos Reina Cabello
(josecreina@ugr.es)

Directora: Inmaculada Llamas Company

Centro de realización: Universidad de Granada.

Resumen: En esta tesis se han estudiado los mecanismos de interferencia de los sistemas de comunicación celular tipo *quorum sensing* (QS) en 827 cepas aisladas de la microbio-

ta de invertebrados marinos. Entre ellas se seleccionaron 23 bacterias pertenecientes al género *Vibrio* que interfieren con los sistemas QS siguiendo un mecanismo no enzimático, lo que se conoce como *quorum sensing inhibition* (QSI). Una de ellas destacó por la producción de tiramina y *N*-acetiltiramina, responsables de la actividad QSI. También, se seleccionaron 21 bacterias productoras de enzimas que degradan las moléculas autoinductoras *N*-acil homoserina lactonas (AHL), denominadas enzimas *quorum quenching* (QQ). Se caracterizaron los mecanismos de degradación enzimática, destacando la abundancia de enzimas tipo acilasa, así como su potencial uso en la reducción de la virulencia de patógenos de acuicultura y agricultura mediante ensayos *in vitro* e *in vivo*.

Por otro lado, mediante técnicas bioinformáticas y metagenómicas se determinó la abundancia de las enzimas QQ en numerosos ambientes de orígenes muy diversos, utilizando metagenomas de libre acceso. Se demostró la abundancia de las enzimas QQ en los mismos, confirmando además que las lactonasas eran más abundantes que las acilasas.

Por último, utilizando como modelo la enzima isocorismatasa HqiA con actividad lactonasa, encontrada en nuestro grupo de investigación en un trabajo anterior, se caracterizó el centro activo responsable de dicha actividad y se identificó otra enzima QQ del mismo grupo en una bacteria en la que no se había descrito anteriormente.

Publicación de reseñas de artículos para la sección “Nuestra Ciencia”

La sección «Nuestra Ciencia» publica reseñas de artículos científicos producidos por nuestros socios. La extensión máxima del texto es de 400 palabras y puede incluirse una imagen. Deben incluir la siguiente información: Título de la reseña, Autor, referencia bibliográfica completa del artículo que se reseña. Si el autor lo desea puede proporcionar su email de contacto.

Envía tus reseñas a la secretaria de la SEM (secretaria.sem@semicrobiologia.org) o al director editorial (Manuel Sánchez, correo: m.sanchez@umh.es)

Publicación de resúmenes de Tesis Doctorales

SEM@foro publica resúmenes de Tesis Doctorales realizadas por miembros de la SEM. Deben seguir el siguiente formato: Título, Autor, Director(es), Centro de realización, Centro de presentación (si es distinto) y Resumen (máximo, 250 palabras).

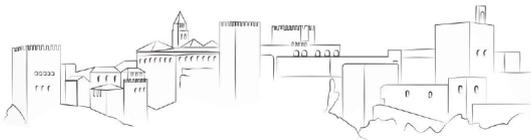
Envía tus reseñas a la secretaria de la SEM (secretaria.sem@semicrobiologia.org) o al director editorial (Manuel Sánchez, correo: m.sanchez@umh.es)

SEM@foro se reserva el derecho a no publicar la información si el resumen es excesivamente largo o el tema del trabajo no guarda suficiente relación con la Microbiología.

Los resúmenes de tesis dirigidas por miembros de la SEM no serán publicados en esta sección. Se recomienda enviar a la sección “Nuestra Ciencia” un resumen de alguno de los artículos producidos por la tesis.

XIII Reunión Científica del Grupo de Microbiología del Medio Acuático de la SEM

Granada, 22-23 septiembre 2022



XIII MMA

SEM

<https://www.granadacongresos.com/xiiimma>

BACTERIAS

PRESENTA
A COCO Y FRAN
EN "EL PLAN DE
TUBERCULOSIS"

¡VEN
DE UNA VEZ, COCO!
¡HACE MEDIA HORA
QUE EMPÉZO LA PELÍCULA!
¡DESPUÉS TENGO QUE
CONTARTE TODO
LO QUE PASÓ!

YA VOY,
YA VOY.

ES QUE SI
NO COMO MIENTRAS
MIRO LA PELI, NO PUEDO
SEGUIR LA TRAMA...
¿QUÉ ME PERDÍ?

"QUE ME PERDÍ"
¿NO TE DIGO...?

LA PELÍCULA EMPIEZA
CUANDO EL SISTEMA INMUNE
DETIENE A UNA BACTERIA LLAMADA
MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS
Y LA LLEVA A LA CÁRCEL
"EL MACRÓFAGO".

PERO ESA NOCHE,
TUBERCULOSIS ESCAPA
DE SU CELDA Y HACKEA
LAS CÁMARAS DE SEGURIDAD
CON LA PROTEÍNA
FOSFATASA PTPA.

EN LA COCINA
SE COME TODO LO
QUE ENCUENTRA Y ESO
HACE QUE COMIENCE
A MULTIPLICARSE
A SÍ MISMO.

¡OJALÁ TUVIERA ESE SÚPER PODER!
MIENTRAS UN COCO JUEGA VIDEOJUEGOS,
OTRO LEE HISTORIETAS Y AL COCO
QUE ME CAE PEOR LE MANDO
A LA BACTERIESCUELA...

¿EH?

Y CON SU
MINI EJÉRCITO
PRONTO, *TUBERCULOSIS*
PUSO EN MARCHA SU PLAN!
PRIMERO DESENCHUFÓ
LA FOSFATASA
DE LA CÁMARA.

PERO CUANDO LOS
MUROS DE LA PRISIÓN CAEN
Y *TUBERCULOSIS* ESCAPA,
EL SISTEMA INMUNE LLEGA
PARA DETENERLOS.

¡TRAS ÉL!
¡QUE NO
ESCAPE!

¡LO
TENGO!

¡ESE ES
TUBERCULOSIS
ORIGINAL! ¡Y TIENE
UNA FOSFATASA!

¡PORQUE
SU PLAN FUNCIONÓ!
SU OBJETIVO ERA
DISEMINARSE HACIA
OTROS TEJIDOS.
HIZO TODO ÉSTO PARA
QUE LO LLEVEN A
OTRA PRISIÓN.

¡ENTONCES
SIGAMOS VIENDO!
¡SEGURO QUE
ESTA PELÍCULA NO
TERMINA ACÁ!

¿QUÉ HACEMOS
CON ÉL, JEFE?

LO LLEVAREMOS
A LA CÁRCEL DE
MÁXIMA SEGURIDAD
"CÉLULA
DENDRÍTICA"

¡PERDISTE,
TUBERCULOSIS!

AUNQUE
NO ENTIENDO
DE QUE SE
RIE...

¿Y POR QUÉ
TE VAS?

PORQUE NO
TENGO EL SÚPER PODER
DE *TUBERCULOSIS* Y EL
ÚNICO COCO QUE TENGO
PARA HACER MÁS PALOMITAS
SOY YO MISMO...

FIN